



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA FACULTAD  
DE CIENCIAS DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN PROBIÓTICA  
DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS PROVENIENTES DE  
RESERVORIOS EMPLEADOS EN EL CULTIVO DE PRODUCCIÓN DE  
*Penaeus vannamei*”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR  
Previo a la obtención del Título de:  
BIÓLOGA**

**AUTOR:**

JUDITH DE LOS ÁNGELES ALVARADO CALVACHE

**DOCENTE TUTOR**

Blga. ANGELA REYES LAINEZ, MGT

LA LIBERTAD – ECUADOR

2026

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA**

**ELENA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN PROBIÓTICA  
DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS PROVENIENTES DE  
RESERVORIOS EMPLEADOS EN EL CULTIVO DE PRODUCCIÓN DE  
*Penaeus vannamei*”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR  
Previo a la obtención del Título de:  
BIÓLOGA**

**AUTOR**

**JUDITH DE LOS ÁNGELES ALVARADO CALVACHE**

**DOCENTE TUTOR**

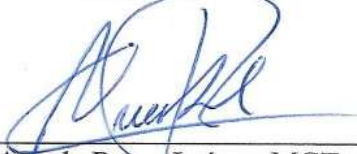
**Blga. ANGELA REYES LAINEZ, MGT**

**LA LIBERTAD – ECUADOR**

## DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, **“Caracterización Molecular Y Evaluación Probiótica De Bacterias Ácido-Lácticas Provenientes De Reservorios Empleados En El Cultivo De Producción De *Penaeus vannamei*”**, elaborado por **Judith de los Ángeles Alvarado Calvache**, estudiantes 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



---

Blg. Angela Reyes Láinez, MGT  
**DOCENTE TUTOR**  
C.I. 0913401014

## DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “Caracterización Molecular Y Evaluación Probiótica De Bacterias Ácido-Lácticas Provenientes De Reservorios Empleados En El Cultivo De producción De *Penaeus vannamei*”, elaborado por Judith de los Ángeles Alvarado Calvache, estudiantes 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 la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



---

-Bfg. Erika Salvarria Palmar, Ph.D  
**DOCENTE DE ÁREA**  
C.I. 09-12260387

# DEDICATORIA

A Dios por concederme la fortaleza, su guía y la inspiración para plasmar este deseo.

A mis padres, Mario Alvarado y Mariana Calvache por ser parte fundamental de mi red de apoyo y poder fortalecerme para culminar esta etapa de mi vida.

Sobre todo, a mi hijo Elliot Parra Alvarado, que con su amor y presencia ha sido mi principal motivación para concluir una etapa de mi trayectoria académica, este logro te pertenece tanto a ti como a mí.

A mis hermanos, mis cuñadas y mis amistades cercanas por la motivación constante.

# **AGRADECIMIENTO**

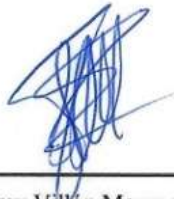
A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, por proporcionarme un entorno enriquecedor para un excelente aprendizaje y formar una mente ágil para la investigación.

Y un agradecimiento especial a mi tutora, la Blga. Angela Reyes Laínez, Mgt., por su acompañamiento constante, su experiencia y amplios conocimientos científicos han sido fundamental para la adecuada orientación y el desarrollo de mi investigación, permitiéndome superar los desafíos que se presentaron a lo largo del proceso.

# TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Judith de los Ángeles Alvarado Calvache** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: **11/12/2025**



---

Ing. Jimmy Villón Moreno, MSc  
**DIRECTOR/A DE CARRERA**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



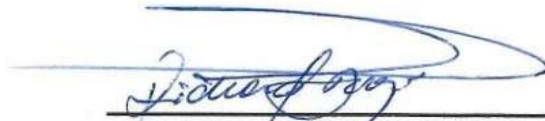
---

Blga. Erika Salvarria Palmar, PhD  
**PROFESOR DE ÁREA**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



---

Blg. Angela Reyes Láinez, MGT  
**DOCENTE TUTOR**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



---

Blg. Richard Duque Marín, Mgr  
**DOCENTE GUÍA DE LA UIC II**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



---

Lcdo. Pascual Roca-Silvestre, Mgr.  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## Declaración expresa

La responsabilidad por los datos, idea, investigaciones, resultados presente en el Trabajo de Integración Curricular denominado: **“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN PROBIÓTICA DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS PROVENIENTES DE RESERVORIOS EMPLEADOS EN EL CULTIVO DE PRODUCCIÓN DE *Penaeus vannamei*”**, me corresponde exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma compartido con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.



---

Judith Alvarado Calvache  
C.I. 09.30.60.11.33

## RESUMEN

La importancia económica del sector camaronero en Ecuador, al tiempo que se identifican los desafíos sanitarios asociados al uso excesivo de antibióticos, particularmente ante la amenaza de patógenos como *Vibrio spp.* En este estudio el objetivo principal fue tipificar molecularmente cepas autóctonas de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL), presentes en reservorios con agua de mar tratada utilizados en el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei*, mediante técnicas microbiológicas de secuenciación del gen 16S rARN, con el propósito de determinar su diversidad genética y evaluar in vitro su capacidad antimicrobiana frente a cepas patógenas del género *Vibrio*. De esta manera, se plantea la exploración de BAL como agentes probióticos naturales, capaces de modular el microbiota intestinal del camarón y reducir la incidencia de enfermedades, la realización de este trabajo se justifica en la necesidad urgente de reducir la resistencia bacteriana mediante alternativas sostenibles y seguras. La metodología utilizada incluyó el aislamiento de BAL desde reservorios marinos, su identificación mediante técnicas moleculares (como la secuenciación del gen 16S rARN, y la evaluación de su capacidad antimicrobiana frente a *Vibrio alginolyticus* utilizando una adaptación del método de Kirby-Bauer en cúmulos ya que mediante este método se logra diferenciar con claridad la respuesta de los probióticos mediante la formación de Halos de inhibición. Los resultados indicaron que las BAL utilizadas en este estudio tienen alto potencial probiótico formando halos de inhibición entre 3 y 11 mm denotando así su capacidad antibacteriana frente a bacterias del género *Vibrio*.

**Palabra clave:** Bacterias ácido-lácticas, *Vibrio spp.*, Método Kirby- Bauer, gen 16S rARN, Agar, *Penaeus vannamei*.

## Contenido

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	JUSTIFICACIÓN.....	4
III.	OBJETIVOS.....	7
	<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	7
	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	7
IV.	HIPOTESIS .....	8
V.	MARCO TEORICO.....	9
VI.	MARCO METODOLÓGICO .....	25
	<b>Área de Estudio</b> .....	25
	<b>Fase de campo</b> .....	26
	<b>Diseño Experimental</b> .....	26
	1. <b>Identificación y Aislamiento de BAL</b> .....	28
	2. <b>Caracterización Molecular de BAL</b> .....	30
	3. <b>Evaluación Probiótica In Vitro</b> .....	31
VII.	RESULTADOS .....	33
VIII.	DISCUSIÓN .....	44
IX.	CONCLUSIONES.....	47
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	49
	<b>PROBLEMÁTICA</b> .....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Ejemplar perteneciente a la especie P. vannamei.....	9
<b>Figura 2.</b>	Morfología del camarón blanco P. vannamei.....	10
<b>Figura 3.</b>	Ciclo de vida de P. vannamei .....	12

<b>Figura 4.</b> UFC de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en agar cetrimide .....	18
<b>Figura 5.</b> Colonias de vibrios presentes en Agar TCBS .....	19
<b>Figura 6.</b> UFC pertenecientes a lactobaacilus en agar MRS.....	20
<b>Figura 7.</b> Presentación de caldo MRS para identificación de <i>Lactobacillus</i> .....	21
<b>Figura 8.</b> Bacterias anaerobias y aerobias presentes en medio TSA.....	22
<b>Figura 9.</b> Prueba de Kirby-bauer.....	24
<b>Figura 10.</b> Ubicación geográfica correspondiente al área de estudio Laboratorio Genética Marina del Ecuador (Modulo 1 y 2; Modulo 9). Cantón Salinas, provincia Santa Elena.	25
<b>Figura 11.</b> Técnica de sembrado en los diferentes agares utilizados en este estudio .....	29
<b>Figura 12.</b> Proceso de preservación de BAL .....	31
<b>Figura 13.</b> Placa de Agar TSA inoculada con Bacterias del género <i>Vibrio</i> y sepas probióticas.....	33
<b>Figura 14.</b> Bacterias ácido-lácticas en agar MRS. A) <i>L. delbrueckii</i> , B) <i>L. fermentum</i> C) <i>L. johnsonii</i> .....	34
<b>Figura 15.</b> UFC de Bacterias ácido-lácticas presentes en agar MRS obtenidas de cada reservorio .....	36
<b>Figura 16.</b> Ausencia y presencia de UFC en agares de control. A) Agar TCBS, B) Agar Cetrimide, C) Agar TSA .....	37
<b>Figura 17.</b> UFC de bacterias presentes en Agar TSA .....	38
<b>Figura 18.</b> Resultados correspondientes a la secuenciación del gen 16S rRNA de muestras de cepas aisladas en agar MRS a) Total de Lectura, b) Clasificación taxonómico y c) Clasificación de Especies Principales.....	39
<b>Figura 19.</b> Bacterias <i>V. alginolyticus</i> obtenido del macerado de postlarva presentes en agar TCBS.....	41
<b>Figura 20.</b> Halos de inhibición de BAL frente a <i>V. alginolyticus</i> formados en agar TSA	

A, B y C corresponde a los meses de estudio y 1, 2 corresponde a los módulos estudiados. .....	42
<b>Figura 21.</b> Prueba de Kruskal Wallis correspondiente a halos de inhibición formados en las muestras de los dos módulos estudiados donde G-M= Genética Marina y M-9= Módulo 9 por meses.....	43

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Parámetros establecidos de calidad de agua en medios de cultivo .....	14
<b>Tabla.2.</b> Características observadas en UFC formadas en agar cetrimide. ....	18
<b>Tabla 3.</b> Características presentes en colonias sembradas en agar TCBS.....	19
<b>Tabla 4.</b> Características de UFC pertenecientes a BAL presentes en agar MRS .....	34

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1. A) Coloración violeta para bacterias Gram positivas B) Prueba de catalasa negativa para BAL.....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo 2. Prueba post hoc de Dunn con corrección Bonferroni para determinación de diferencias entre grupos en cuanto a concentración de UFC de bacterias ácido lácticas por reservorio. ....</b>	<b>59</b>
<b>Anexo 3. Prueba post hoc de Dunn con corrección Bonferroni para determinación de diferencias entre grupos en cuanto a diámetro de halos de inhibición formados por bacterias ácido lácticas frente a vibrios por mes.....</b>	<b>60</b>
<b>Anexo 4. Proceso de toma de muestras de agua.....</b>	<b>61</b>
<b>Anexo 5. Procesos microbiológicos aislamiento de BAL.....</b>	<b>61</b>
<b>Anexo 6. Caldo MRS con presencia bacteriana.....</b>	<b>61</b>
<b>Anexo 7. Resultados de la Empresa BioSequence, a nivel taxonómico.....</b>	<b>62</b>
<b>Anexo 8. Permiso de la Empresa Diosmar, para la toma de muestras.....</b>	<b>68</b>
<b>Anexo 9. Compilation, entregado por la Tutora responsable.....</b>	<b>69</b>

## **GLOSARIO DE TERMINOS**

**BAL.** Bacterias ácido - lácticas

**UFC.** Unidades formadoras de colonia

**Mg/L.** miligramos/ litro

**μL.** microlitro

## I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura a nivel mundial es una de las principales actividades económicas del sector agroindustrial, destacándose especialmente por la producción y exportación del camarón *Penaeus vannamei*, que representa una de las mayores fuentes de ingreso para el país (Guevara Toscana et al., 2021). El Ecuador en los últimos años se ha ubicado como líder mundial en la exportación de camarón, afirma la Cámara Nacional de Acuicultura (CNA), este gran avance se ha logrado debido a la aplicación de tecnologías innovadoras, además del desarrollo de sistemas de cultivo sostenibles y garantizar la calidad del producto dando cumplimiento a estándares internacionales de calidad y trazabilidad (CNA, 2020). Además, cabe mencionar que la acuicultura ecuatoriana también incluye la producción de tilapia, trucha y otras especies marinas en menor escala.

El aumento de la producción de camarón en sistemas acuícolas intensivos ha venido acompañado de desafíos ambientales, especialmente en ramas relacionadas con enfermedades de carácter bacteriano y viral causadas por patógenos. Estos microorganismos patógenos en los sistemas acuícolas representan una amenaza significativa, ya que pueden desencadenar altas tasas de mortalidad y pérdidas económicas severas. Uno de los patógenos bacterianos con mayor índice de contagios y mortalidades en cultivos de camarón (*Penaeus vannamei*), es conocido como *Vibrio spp.* (Velásquez G. M., 2016), bacteria gram-negativa culpable de la enfermedad conocida como vibriosis.

Todos estos factores han impulsado a la investigación e implementación de

estrategias biotecnológicas, con el objetivo de contrarrestar las enfermedades y reforzar el sistema inmunológico de los organismos, además de evitar la dependencia a antibióticos que resultan riesgosos en la salud de los consumidores (Mostacero Arango, 2024). Una de estas herramientas es el uso de probióticos y la mejora en la bioseguridad de los cultivos (FAO, 2020). Los probióticos utilizados en el ámbito acuícola han sido intensamente estudiados en las últimas décadas (Kumar et al., 2016), es así como según Aguirre-Guzmán et al., (2012) indican que los probióticos son eficaces siempre y cuando se los aplique adecuadamente ya sea incluidos en el alimento o directamente distribuidos en el medio.

Dentro de este concepto, las bacterias ácido lácticas (BAL) han sido consideradas una opción viable debido a su potencial probiótico en la acuicultura, presentado gran capacidad para modular las colonias bacterianas presentes en el entorno y el huésped, generando un efecto protector contra agentes patógenos (Chizhayeva et al., 2022). Este efecto se debe a la producción de metabolitos antimicrobianos como bacteriocinas, peróxido de hidrogeno y ácidos orgánicos, que generan un microambiente desfavorable para el crecimiento de microorganismos oportunistas y patogénicos. Además, las BAL pueden competir por sitios de adhesión en la mucosa intestinal del camarón, promoviendo un equilibrio en la comunidad microbiana y fortaleciendo la respuesta inmune innata del hospedador (Gil et al., 2020).

La identificación molecular de estas bacterias resulta una parte esencial

dentro de los análisis en cultivos de camarón, ya que permite una caracterización precisa de las especies con alto potencial probiótico, facilitando su aplicación en el manejo sanitario. Los métodos comúnmente aplicados para lograr esta caracterización son la secuenciación del ARN ribosomal 16S y el análisis de perfiles genéticos que ayudan en la diferenciación de cepas con propiedades benéficas y así evaluar su impacto en la flora intestinal del camarón, así como en el medio donde se desarrollan (Castañeda et al., 2018).

De esta manera, este trabajo se fundamenta en investigaciones previas que han destacado la importancia de las BAL en la acuicultura, cuyas contribuciones han sido clave para el desarrollo de estrategias probióticas en sistemas de cultivo de camarón y se establece el objetivo de caracterizar molecularmente las cepas de BAL presentes en el reservorio de agua de mar de un sistema de cultivo de *Penaeus vannamei* con la finalidad de determinar su eficacia contra *Vibrios* patógenos.

## II. JUSTIFICACIÓN

La acuicultura es una de las principales fuentes de producción de proteína animal en el mundo, desempeñando un papel fundamental en la seguridad alimentaria y en el desarrollo económico de múltiples regiones (Anderson et al., 2017). En particular, el cultivo de camarón ha demostrado ser una actividad altamente rentable, pero enfrenta desafíos derivados de la proliferación de patógenos bacterianos. Estos microorganismos pueden comprometer la producción al provocar enfermedades infecciosas graves, lo que incrementa la dependencia de antibióticos generando impactos negativos en el ambiente, económico y en la salud pública en general (González Salas et al., 2021).

Dentro de este panorama, el uso de bacterias ácido lácticas (BAL) como probióticos ha emergido como una alternativa biotecnológica prometedora para fortalecer la sanidad en los sistemas acuícolas de producción. Estas bacterias, al desempeñar un papel clave en la regulación de la flora microbiana, pueden contribuir significativamente a la reducción de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio alginolyticus* manteniendo un entorno acuático más estable y saludable (Chizhayeva et al., 2022; Anas et al., 2021). No obstante, la limitada disponibilidad de estudios enfocados en la caracterización molecular y funcional de cepas autóctonas de BAL ha restringido su aplicación a gran escala (Paixão et al., 2020). La ausencia de información detallada sobre sus mecanismos de acción, capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales y compatibilidad con el

microbiota nativo del camarón impide el desarrollo de estrategias probióticas específicas y eficientes (Muñoz-Atienza et al., 2013).

Por lo tanto, la selección e identificación de cepas bacterianas Ácido-lácticas con propiedades probióticas adecuadas para el mantenimiento de los sistemas de cultivo de camarón es fundamental con la finalidad de adicionarlas a los protocolos de manejo sanitario establecidos en cada laboratorio. Además, la aplicación de este tipo de probióticos naturales a los medios cultivados no solo aporta una protección y reducción de incidencia contra bacterias y virus infecciosos, sino que también ayudará al equilibrio del microbiota de los organismos haciéndolo más estable.

Esta investigación se justifica no solo por su aporte científico, sino también por su alineación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) establecidos por la Agenda 2030 de las Naciones Unidas (United Nations, 2015). En particular, contribuye a los objetivos: ODS 14 al fomentar prácticas sostenibles que preservan los ecosistemas acuáticos y promueven una acuicultura responsable; ODS 12 mediante la sustitución de insumos químicos por alternativas biológicas seguras y sostenibles; ODS 6 al promover el control biológico de microorganismos patógenos y la mejora de la calidad del agua en los sistemas de cultivo; ODS 9 al generar conocimiento científico y tecnológico en el área de biotecnología aplicada a la acuicultura y ODS 2 al contribuir a la producción sostenible de alimentos acuáticos de alto valor nutricional.

Por lo tanto, la relevancia de este estudio radica tanto desde el punto de vista científico, ambiental y social, ya que aporta soluciones innovadoras para una acuicultura más limpia y eficiente, en concordancia con los principios de sostenibilidad y desarrollo responsable, como en la necesidad de proveer conocimiento en base a las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus*, donde se logre optimizar el uso de estas en la acuicultura, a través de la caracterización molecular donde se podrá determinar la diversidad funcional y la capacidad inhibitoria frente a bacterias *V. alginolyticus*, otorgando así una fuente alternativa que ayudará a la disminución del uso de antibióticos minimizando el riesgo de adquisición de resistencia bacteria, ayudando al mantenimiento de la salud de los organismos y garantizando la sostenibilidad del sector camaronero.

### **III. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Tipificar molecularmente cepas autóctonas de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL), mediante técnicas microbiológicas y secuenciación del gen 16S rARN, valorando su diversidad in-vitro y su capacidad antimicrobiana frente a cepas patógenas del género *Vibrio*.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar Bacterias Ácido-Lácticas presentes en reservorios de agua de mar destinados al cultivo de larvas de camarón, mediante técnicas microbiológicas, para determinar su diversidad microbiana.
2. Realizar la caracterización molecular de las BAL aisladas mediante análisis de secuenciación del gen 16S rARN.
3. Determinar el potencial probiótico de cepas de Bacterias Acido-Lacticas (BAL) seleccionadas, mediante pruebas *in vitro* de inhibición frente a *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio alginolyticus*, para establecer su capacidad antimicrobiana.

#### **IV. HIPOTESIS**

**H1.** Las Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) aisladas de los reservorios utilizados en el cultivo larval de *Penaeus vannamei* presentan actividad probiótica in vitro, incluyendo la capacidad de inhibir el crecimiento de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio alginolyticus*.

## V. MARCO TEORICO

### Descripción Taxonómica de *Penaeus vannamei*

*Figura 1. Ejemplar perteneciente a la especie P. vannamei*



Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Subfilo:	Crustacea
Clase:	Malacostraca
Orden:	Decapoda
Suborden:	Dendrobranchiata
Infraorden:	Caridea
Familia:	Penaeidae
Género:	Litopenaeus
Especie:	<i>P. vannamei</i> (Boone, 1931)

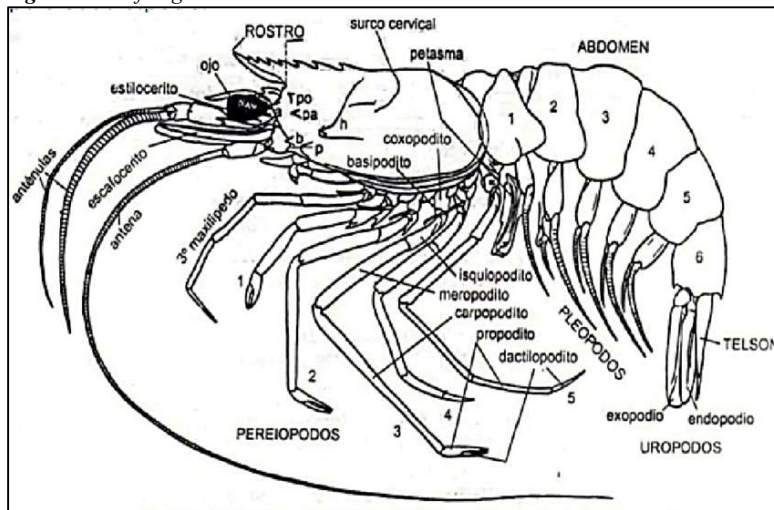
### Generalidades de *P. vannamei*

#### Morfología

Tienen un cuerpo comprimido lateralmente, rostrum moderadamente largo con 7–10 dientes dorsales y 2–4 dientes ventrales bien desarrollado y comprimido de la misma forma (FAO, 2009). Su cuerpo se divide en tres zonas: cefalotórax, abdomen y télson. Se trata de un crustáceo azulado verdoso pálido y apariencia traslúcida. Puede

presentar una coloración en la parte gástrica levemente anaranjada. La anatomía externa de *P. vannamei* se caracteriza por poseer un tronco compuesto de 6 segmentos más el telson; todos los segmentos portan apéndices, los que se encuentran en el abdomen anterior son llamados pleópodos y son usados para nadar y los posteriores son llamados periópodos que son usados para caminar en el fondo (Perez Farfante, 1971).

**Figura 2.** Morfología del camarón blanco *P. vannamei*



### Hábitat y Distribución

El camarón blanco (*P. vannamei*), es una especie perteneciente a la familia Penaeidae, es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, desde Sonora, México al Norte, hacia Centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, se distribuye en aguas cuya temperatura es normalmente superior a 20 °C durante todo el año (FAO, 2009). Los organismos de esta especie se encuentran en hábitats marinos tropicales, en aguas con fondos lodosos o arena con lodo, con una profundidad aproximada entre 5 y 72m. Los adultos se desarrollan en ambientes meramente

marinos mientras que las larvas y postlarvas pueden hacerlo en zonas estuarinas y lagunas salobres (Bermúdez et al., 2002).

### **Alimentación**

Es una especie detritívora, se alimenta de restos de animales, desechos y partículas orgánicas que se encuentran en el fondo, así como también puede alimentarse de organismos bivalvos, gusanos y otros pequeños crustáceos de fondo (Dugassa & Gaetan, 2018).

### **Reproducción**

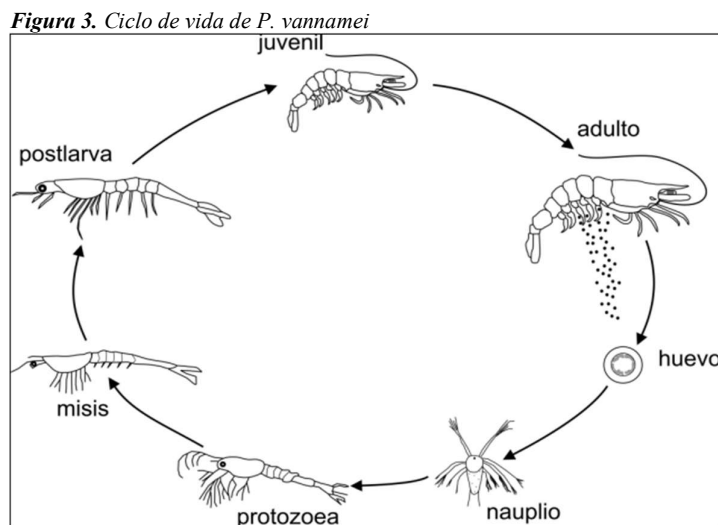
Es una especie dioica, su dimorfismo se identifica en las estructuras externas del sistema. El macho posee dos pares de apéndices abdominales modificados petasma y el apéndice masculino ubicados en el primer y segundo segmento abdominal, estos transportan los espermatozoides al telicum, receptáculo externo de la hembra, ubicado entre el cuarto y quinto par de pleópodos. El petasma y el telicum se encuentran en la zona ventral; el telicum en las hembras es cerrado, por lo que, los espermatozoides son colocados por el macho en el canal a la altura de este (Dugassa & Gaetan, 2018).

### **Ciclo de vida**

La incubación de los huevos ocurre aproximadamente 16 horas después del desove y la fertilización. En la primera etapa, la larva, denominada nauplio, nada

intermitentemente y es fototáctica positiva. Los nauplios no requieren alimentación, sino que se nutren de su reserva embrionaria.

Las siguientes etapas larvarias (protozoa, mysis y postlarva temprana respectivamente) continúan siendo planctónicas por algún tiempo, se alimentan del fitoplancton y del zooplancton, y son transportados a la costa por las corrientes marinas. Las postlarvas (PL) cambian sus hábitos planctónicos unos 5 días después de su metamorfosis a PL, se trasladan a la costa y empiezan a alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y crustáceos (FAO, 2009).



Fuente: Modificado de Morales & Cortez, 2015

### **Cultivo de larvas de camarón**

En el Ecuador el cultivo de camarón tuvo su auge a inicios de los 70, en la provincia de El Oro (Cámara Nacional de Acuicultura, 2007). El total de hectáreas

de producción del sector camaronero, en el país actualmente, es de 220 000 ha, donde las principales provincias que se dedican a este recurso son: Guayas con 60%, El Oro con 15%, Esmeraldas con 9%. Otro 9% está en Manabí y 7% en Santa Elena, las provincias mencionadas se encuentran rodeadas de bosques y manglares, además cuentan con un clima y una posición geográfica ideal para el crecimiento de la industria camaronera (Gómez & Parrales, 2019). En la provincia de Santa Elena se han aplicado sistemas de producción tanto intensivos como semi-intensivos, convirtiéndose una de las principales provincias generadoras de ingresos en este sector económico.

### **Calidad de agua en cultivos larvarios de camarón**

La calidad de agua implementada en los sistemas de cultivo de larvas de camarón es de vital importancia en su desarrollo, de esta depende el crecimiento, supervivencia y la capacidad de resistencia a enfermedades de los organismos cultivados.

De la misma manera, la calidad de agua es un factor que involucra parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad, oxígeno, pH, amoníaco, nitritos), biológicos (bacterias, fitoplancton, probióticos) y de manejo (recambios, bioseguridad). El control y regularización de estos aseguran el correcto mantenimiento del sistema (Li et al., 2019).

**Tabla 1.** Parámetros establecidos de calidad de agua en medios de cultivo

Parámetro	Rango/Valor Óptimo	Efectos de desviaciones
Temperatura	28 – 32 °C	<28 °C: metabolismo lento. >32 °C: estrés térmico, menor supervivencia.
Salinidad	28 – 35 ‰	Cambios bruscos afectan osmorregulación y supervivencia.
pH	7.5 – 8.5	<7: mayor toxicidad de metales. >9: favorece acumulación de NH <sub>3</sub> .
Oxígeno disuelto (OD)	> 5 mg/L	<5 mg/L: hipoxia, estrés y mortalidad.
Amoníaco (NH <sub>3</sub> -N)	< 0.1 mg/L	>0.1 mg/L: tóxico, incrementa con pH y temperatura.
Nitritos (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	< 1 mg/L	>1 mg/L: interfiere en transporte de oxígeno (metahemoglobinemia).
Alcalinidad / Dureza	> 80 mg/L CaCO <sub>3</sub>	Valores bajos reducen estabilidad de pH y dificultan calcificación.
Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )	< 20 mg/L	>20 mg/L: interfiere en respiración al competir con O <sub>2</sub> .

Fuente: (Juarez et al., 2010; Velásquez et al., 2023; FAO, 2020; Cuéllar-Anjel et al., 2010)

### Bacterias en cultivos de larvas de camarón

Las bacterias forman parte esencial del microbiota presente en los sistemas larvarios influyendo directamente en la calidad de agua, esto debido a que intervienen en los ciclos biogeoquímicos y la regularización de las colonias bacterianas asociadas a las larvas (Verschuere et al., 2000). Bajo este contexto hay que especificar que existen bacterias benéficas para el cultivo como las Bacterias Ácido-Lácticas (Wang et al., 2008), así como bacterias patógenas siendo el género *Vibrio*, el más perjudicial y causante de la mayor cantidad de problemas al establecer los cultivos larvarios (Urresta, 2017).

## **Patógenos en cultivos de camarón**

El cultivo de camarón *P. vannamei* presenta varios desafíos desde sus primeros estadios larvarios hasta la maduración de los organismos, esto se debe a la presencia de bacterias patógenas que atacan los sistemas por los diversos cambios en los parámetros establecidos y seguidamente se registra individuos con un sistema inmunológico débil. En este caso, los principales patógenos afectantes registrados son Vibrios, bacterias consideradas como oportunistas que se aíslan en el tracto digestivo, branquias y cutícula de los camarones. Dentro de las principales especies identificadas se encuentran *V. parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus* (Urresta, 2017):

- ***Vibrio parahaemolyticus***

Este perjudicial organismo se encuentra ampliamente distribuido en ambientes marinos y se desarrolla en temperaturas de 35 a 37° C (Zamora et al., 2005) (Broberg et al., 2011). El cultivo de camarón se ha visto afectado, presentando pérdidas de más del 80% debido a la enfermedad llamada necrosis hepatopancreática aguda causada por este Vibrio generando reportes desde el 2013 (Galaviz-Silva et al., 2021).

- ***Vibrio vulnificus***

Esta especie de Vibrio también se encuentra distribuido en entornos marinos y salobres es responsable de diversas enfermedades que afectan los cultivos de larvas de camarón conocidas como vibriosis. Su cuadro sintomático incluye

coloración rojiza de apéndices acompañada de cromatóforos expandidos, músculo abdominal sin brillo, arrastre de muda (muda pegada), acalambramiento, pigmentación y degeneración con pérdida de las setas de los apéndices (Cuéllar-Anjel, 2013).

### **Probióticos y Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) dentro de los sistemas de cultivo de camarón**

Debido a los problemas bacterianos ocasionados en los cultivos de camarón se ha buscado la implementación de métodos que ayuden a reducir y regularizar las infecciones, así como también fortalecer el sistema inmunológico de los organismos. Una alternativa aplicada exitosamente para el control de enfermedades del camarón es el uso de los probióticos, siendo estas bacterias benéficas que ayudan al mantenimiento y refuerzo del microbioma presente tanto en los organismos como en el medio de cultivo (He, 2021).

Dentro de los probióticos comúnmente utilizados en los sistemas de cultivo de camarón se encuentran las BAL. Las bacterias del ácido láctico (BAL) son una clase de bacterias Gram-positivas, con forma de bastón o esféricas, no endosporantes y no móviles con el potencial de producir sustancias antimicrobianas, tales como bacteriocinas (Li et al., 2018). Este conjunto de microorganismos y/o sustancias contribuyen al balance de la flora benéfica del individuo, al bienestar y salud de los organismos, además, tienen la capacidad de competir contra bacterias patógenas tanto en el medio, como en el interior y exterior

del individuo y de degradar metabolitos tóxicos y materia orgánica (Luo et al., 2023).

Asimismo, diversos estudios han evaluado las propiedades probióticas y la seguridad de las BAL, tales como *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus lactis* y *Pediococcus acidilactici* aislados de animales acuáticos, para su posible aplicación como probióticos o agentes de biocontrol en acuicultura (Chomwong et al., 2018), analizando las cepas probióticas de manera presencial en los cultivos como molecularmente para verificar su comportamiento y acción dentro de los mismos.

### **Identificación de cepas bacterianas por medio de siembra en agar**

El uso principal de los agares consiste brindar un medio sólido de cultivo en microbiología, para el crecimiento y aislamiento principalmente de bacterias, hongos y virus bacteriófagos. La ventaja de este medio resalta en su resistencia ya que casi ningún microorganismo es capaz de degradarlo, por lo que las placas fabricadas con él no se alteran (FAO, 1990).

### **Agares utilizados como medios de cultivo para identificación de bacterias patógenas:**

- **Agar Cetrimide**

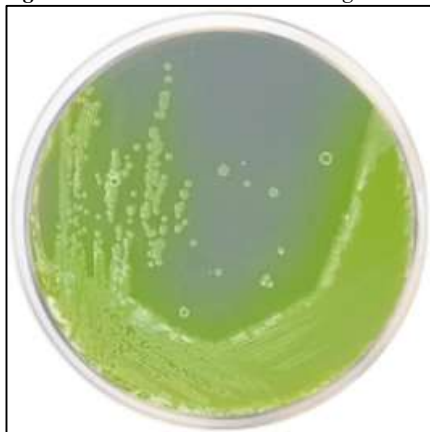
El Agar Cetrimide, es un medio de cultivo selectivo y diferencial sólido utilizado principalmente para el aislamiento e identificación de *Pseudomonas*, está

constituido por compuesto digestivo pancreático de gelatina que proporciona el soporte sólido, Cloruro de magnesio y Sulfato de potasio ayudan a la producción de pigmentos característicos como piocianina y fluoresceína que se observan con luz ultravioleta en la producción de pseudomonas y Cetrimide (Bromuro de tetradeciltrimetil amonio) sustancia que inhibe el crecimiento de bacterias permitiendo que se desarrolle únicamente Pseudomonas ya que presenta resistencia a este componente, (Dickinson, 2003).

**Tabla.2.** Características observadas en UFC formadas en agar cetrímide.

<b>Microorganismo</b>	<b>Apariencia típica de la colonia</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> Fuente: (Bioagar, 2018)	Amarillo verdoso – verde oscuro - azulado

**Figura 4.** UFC de *Pseudomona aeruginosa* en agar cetrímide



FUENTE: (Bioagar, 2018)

- **Agar TCBS**

El Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS), este es un medio sólido específico para el crecimiento de vibrios patógenos generalmente *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus*, gracias a su pH de 8,6 y 0,5% de NaCl, su composición consta

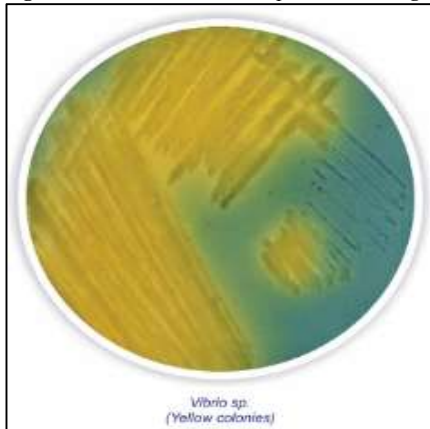
de Tiosulfato de sodio y citrato de sodio que privan el desarrollo de colonias de bacterias gramnegativas, Pseudomonas y bacterias grampositivas, sales biliares que aumentan la selectividad, sacarosa formando una fuente de carbohidrato permite diferenciar especies debido a su capacidad fermentativa, verde de bromotimol y azul de timol siendo estos indicadores de pH y agar proporcionando la consistencia sólida al medio (Dickinson, 2019).

**Tabla 3.** Características presentes en colonias sembradas en agar TCBS

<i>Microorganismo</i>	<i>Apariencia típica de la colonia</i>
<i>Vibrio cholera</i>	Amarillo
<i>Vibrio fluviales</i>	Amarillo
<i>Vibrio paraemolyticus</i>	Verde azulado
<i>Vibrio vulnificus</i>	Amarillo verdozo

Fuente: (TM MEDIA, 2018)

**Figura 5.** Colonias de vibrios presentes en Agar TCBS



Fuente: (TM MEDIA, 2018)

- **Agar MRS**

Agar M.R.S. desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, es un medio de cultivo selectivo recomendado para realizar aislamiento y recuento de Lactobacilos y de otras bacterias ácido láctico (Bioagar, 2021).

Este medio es una modificación que reemplaza con ventaja a los medios anteriormente utilizados para el cultivo de lactobacilos, todos ellos basados en las propiedades nutritivas del jugo de tomate. Su composición a base de peptonas, extractos de levadura, glucosa, acetato de sodio, citrato de amonio, tween 80 combinado con un pH entre 5 y 7 establecen un medio favorable brindando nutrientes y ácidos grasos para las bacterias ácido-lácticas, inhibiendo el desarrollo de bacterias neutrófilas y gramnegativas. Sin embargo, su selectividad es escasa y con frecuencia se suelen presentar contaminantes, con lo cual se precisa una mayor selección. Para ello se recomiendan los subcultivos alternados en medio sólido, en doble capa y en caldo. En muchas ocasiones el crecimiento se favorece con una atmósfera de CO<sub>2</sub> (Bioagar, 2021).

*Figura 6. UFC pertenecientes a lactobaacilus en agar MRS.*



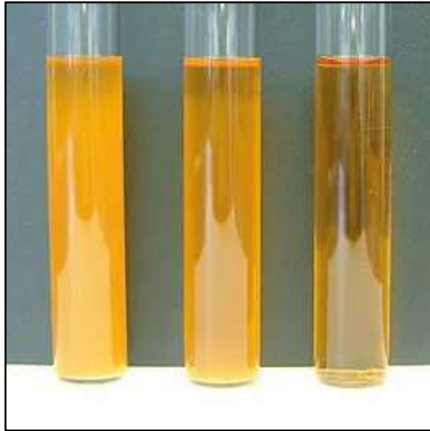
*Fuente: (Bioser, 2025).*

- **Caldo MRS**

El caldo MRS se utiliza para el crecimiento y el recuento de lactobacilos en productos de la industria alimentaria. Mediante la transferencia de colonias aisladas, se pueden obtener subcultivos. Este medio también se puede utilizar para cultivar lactobacilos

de crecimiento lento, como, por ejemplo, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus fermentum* (Bioser, 2025).

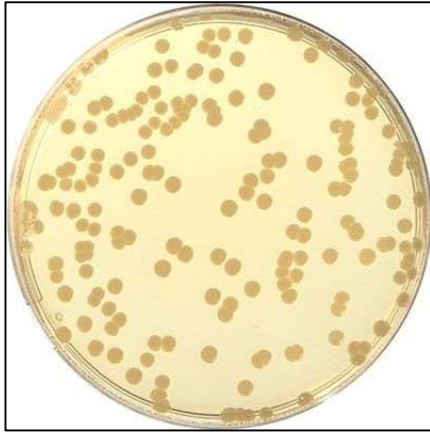
**Figura 7.** Presentación de caldo MRS para identificación de *Lactobacillus*



- **Agar TSA**

Es un medio de cultivo versátil y no selectivo utilizado para el crecimiento y aislamiento de una gran variedad de microorganismos, tanto exigentes como no exigentes. Su formulación nutritiva permite cultivar bacterias y otros microbios en el control microbiológico de diversos productos y en la investigación (Bioser, 2025).

*Figura 8. Bacterias anaerobias y aerobias presentes en medio TSA*



Fuente: (Bioser, 2025)

### **Caracterización molecular de BAL**

La caracterización molecular de cepas bacterianas constituye un conjunto de pruebas fenotípicas y genéticas indispensables en la acuicultura ya que es imprescindible conocer las especies de bacterias a utilizar y la cantidad de cepas (Mohania et al., 2008).

Existen diferentes métodos utilizados para la caracterización bacteriana, siendo uno de los principales el método 16S rRNA.

#### **❖ 16S rRNA**

El ARN ribosómico (ARNr) 16S es la macromolécula más ampliamente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacterianas. La identificación molecular basada en el análisis del ARNr 16S (o del gen que lo codifica) puede representar una ventaja tanto en tiempo como en precisión, llegando incluso a competir de manera favorable con otras técnicas rápidas y eficaces, como las inmunológicas (del Rosario Rodicio y del Carmen Mendoza, 2004).

Este método de caracterización en acuicultura utiliza la secuenciación del gen del ARNr 16S para identificar y analizar la diversidad de bacterias presentes en ambientes acuáticos. El proceso implica la extracción de ADN, amplificación por PCR del gen 16S rRNA, secuenciación de los fragmentos amplificados, y comparación de las secuencias resultantes con bases de datos como la de NCBI para determinar la identidad y las relaciones filogenéticas de las bacterias, ofreciendo una visión completa de las comunidades bacterianas, incluso de las no cultivables (Egyptian Journal of Aquatic Research, 2024).

### **Método Kirby-Bauer**

La prueba de antibióticos Kirby-Bauer (también llamada prueba KB o prueba de sensibilidad a antibióticos por difusión en disco) utiliza obleas o discos que contienen antibióticos para evaluar si ciertas bacterias son susceptibles a antibióticos específicos. Primero, se aísla un cultivo puro de bacterias.

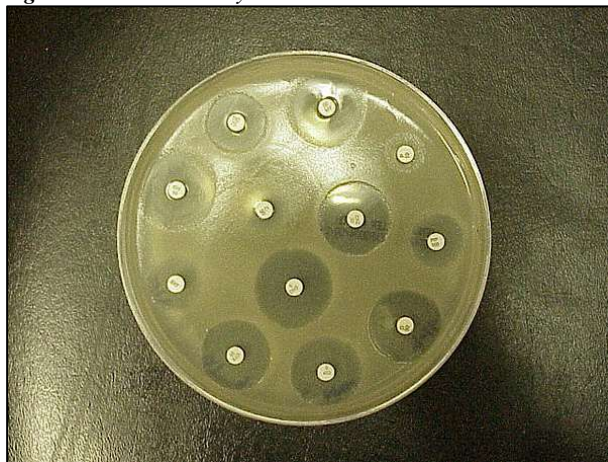
Luego, se cultiva una cantidad conocida de bacterias durante la noche en placas de agar (medio de crecimiento sólido) en presencia de una oblea delgada que contiene una cantidad conocida de un antibiótico relevante. Si las bacterias son susceptibles al antibiótico particular de una oblea, un área de medio transparente donde las bacterias no pueden crecer rodea la oblea, lo que se conoce como la zona de inhibición.

Una zona de inhibición más grande alrededor de un disco que contiene

antibiótico indica que las bacterias son más sensibles al antibiótico en el disco. Las pruebas de KB se realizan en condiciones estandarizadas y se han establecido zonas de inhibición de tamaño estándar para cada antibiótico. Los resultados de las pruebas de KB suelen informarse como sensibles, intermedios o resistentes, según el tamaño de la zona de inhibición. Si la zona de inhibición observada es mayor o igual al tamaño de la zona estándar, se considera que el microorganismo es sensible al antibiótico. Por el contrario, si la zona de inhibición observada es menor que el tamaño estándar, se considera que el microorganismo es resistente.

El tamaño de una zona de inhibición en una prueba de KB está inversamente relacionado con la concentración inhibitoria mínima (CIM), que es la cantidad de antibiótico necesaria para prevenir el crecimiento bacteriano en un cultivo nocturno.

*Figura 9. Prueba de Kirby-bauer*

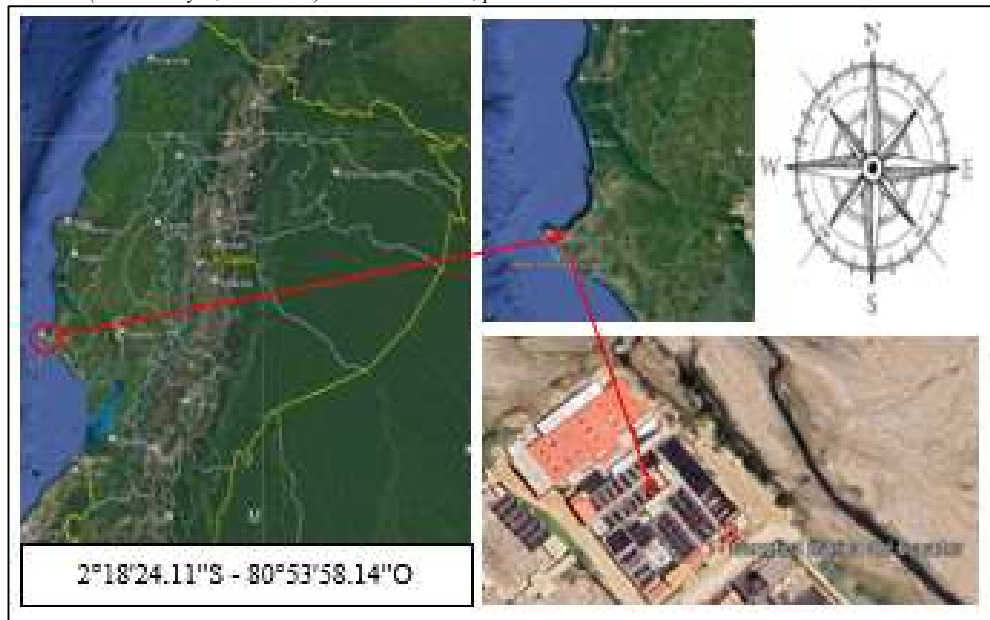


## VI. MARCO METODOLÓGICO

### Área de Estudio

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio Genética Marina del Ecuador (Modulo 1 y 2; Modulo 9), en las coordenadas  $2^{\circ}18'24.11''\text{S}$  -  $80^{\circ}53'58.14''\text{O}$ , ubicado en la Carretera a Punta Carnero, La Libertad avenida 25 entre calle 8 y 9 Punta Carnero, en la parroquia Anconcito cantón Salinas, provincia de Santa Elena.

**Figura 10.** Ubicación geográfica correspondiente al área de estudio Laboratorio Genética Marina del Ecuador (Modulo 1 y 2; Modulo 9). Cantón Salinas, provincia Santa Elena.



Fuente: Modificado de Google Earth, 2025

## **Fase de campo**

### **Diseño Experimental**

El presente estudio se realizó utilizando unidades experimentales conformadas por tanques de reservorios que contienen agua de mar tratada, con una capacidad de 130 a 170 toneladas, de esta manera se analizó un total de 6 reservorios distribuidos 3 en el primer módulo y 3 en el segundo.

Las variables independientes como temperatura, pH y salinidad se mantuvieron dentro de los rangos establecidos por los protocolos del laboratorio, mientras que los efectos sobre las variables dependientes siendo estas el crecimiento de UFC pertenecientes a distintos filos de bacterias Acido lácticas fueron analizados a lo largo del tiempo de estudio (3 meses).

### **Preparación del Agua de Mar**

El proceso de preparación de agua de mar inició con el muestreo de esta, para esto, se bombeó agua de mar de la punta hacia los reservorios, el agua almacenada atravesó primero por procesos de purificación:

- **Clorinar:** Al agua recogida se añadió 10 ppm de cloro granulado y se mantuvo en recirculación por un periodo de 2 días.
- **Desclorinar:** se añadió 3 ppm de vitamina C, 2 ppm de tiosulfato, 2 de EDTA, se deja con aireación por 8h, posteriormente se coloca cal P24 y se deja decantar por 6h.

Estos procedimientos se realizaron siguiendo el protocolo establecido por el laboratorio, el mismo que es una modificación a beneficio del manual de Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina. (FAO, 2004)

Del resultado del proceso de decantación se tomó la muestra para la siembra microbiológica, de manera *in-situ*, se registró parámetros de temperatura, pH, oxígeno disuelto y salinidad, mediante un multiparámetro de la marca YSI 9500. Así mismo, para la verificación de existencia de cloro residual se utilizó dos métodos (FAO, 2004).

1. Fotometría:

Para este proceso se utilizó el multiparámetro YSI 9500, se tomó 10 mL para el blanco y 10 mL a los que se añadió los reactivos DPD 1 y DPD 3 (pastillas), seguidamente se maceró y se dejó actuar por 3 min para su posterior medición.

2. Colorimetría:

Se tomó una muestra de 5 ml en un tubo de ensayo a la que se le añade 19 gotitas de orto-toluidine, se espera 3 minutos para realizar la comparación de color mediante los rangos establecidos en el kit.

## **Fase de laboratorio**

### **1. Identificación y Aislamiento de BAL**

#### **Muestreo del agua de reservorio:**

Se realizó un muestreo continuo según (INEN 2176), recolectando las muestras de agua en frascos de vidrio estériles y rotulados con capacidad de 1 L, estas fueron tomadas en tres zonas distintas del reservorio, inicio, medio y final de este (Cuéllar-Anjel et al., 2010).

Los parámetros de temperatura, pH, salinidad y oxígeno fueron medidos directamente en los reservorios previo a la toma de muestras. Las muestras colectadas fueron llevadas al laboratorio para su posterior análisis.

#### **Procedimiento de siembra directa en agar:**

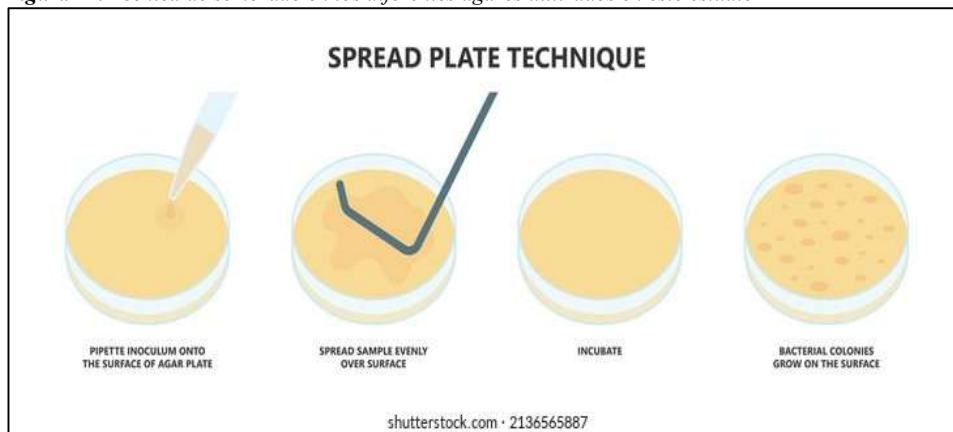
Las muestras de agua colectadas se sembraron en agar MRS selectivo para Bacterias Ácido – Lácticas con la finalidad de lograr el aislamiento, y en agares TCBS, TSA y CETRIMIDE como control de pureza de las muestras, verificando que estas estén totalmente libres de vibrios, pseudomonas y bacterias patógenas.

El proceso de sembrado se realizó de la siguiente manera:

- Se tomó 300  $\mu$ L de muestras de agua de mar tratada para agar MRS y 100  $\mu$ L para los demás controles con una micropipeta estéril.
- Se colocó la muestra de agua de mar tratada sobre las placas con medio de Agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) con 2% NaCl para adaptarse al ambiente marino y sobre los agares de control.

- Posterior se realizó el barrido correspondiente con asa de vidrio debidamente esterilizada.
- Se incubó en condiciones anaeróbicas a 30-37 °C durante 48 h.

*Figura 11. Técnica de sembrado en los diferentes agares utilizados en este estudio*



Posterior a la incubación se verificó la ausencia de bacterias y otros patógenos en los agares de control (TCBS, TSA y CERIMIDE) y se procede a la selección de colonias obtenidas en agar MRS. Para esto, se tomó en cuenta dos criterios.

#### **Criterios para la Selección de colonias:**

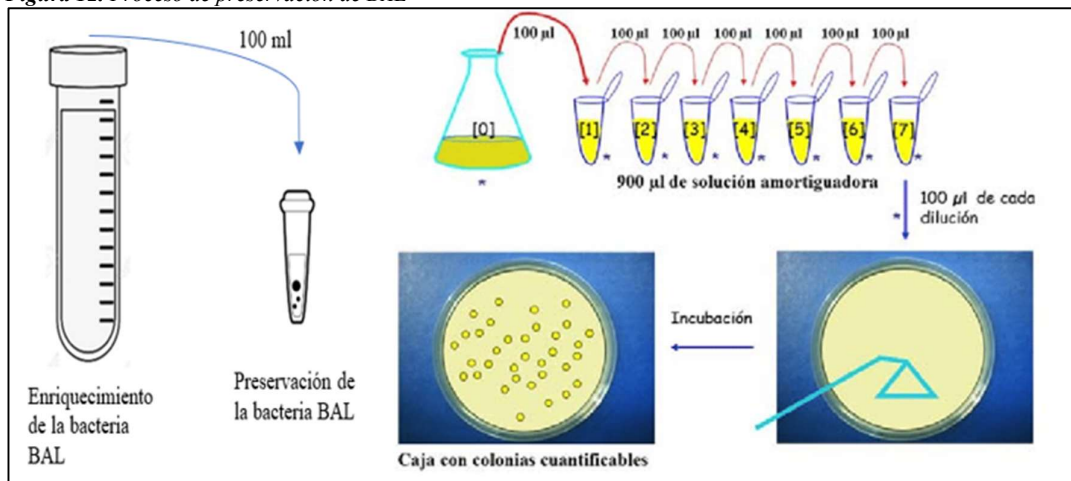
- Escoger colonias morfológicamente distintas.
- Realizar tinción de Gram (positivo) y prueba de catalasa (negativa) para confirmar características de BAL.

## 2. Caracterización Molecular de BAL

Para el análisis metagenómico, las muestras bacterianas fueron enviadas a la empresa **BioSequence**. Previamente, se realizó el proceso de aislamiento del microorganismo, el cual fue inoculado en tubos Falcón estériles que contienen medio de cultivo líquido CALDO MRS (Man, Rogosa y Sharpe) el cual fue preparado mezclando 2 gramos de cloruro de sodio, 6 gr de caldo en 100 ml de agua destilada. Posteriormente se procedió con el tiempo de incubado durante 48 horas a 30-37°C, a fin de asegurar el crecimiento bacteriano adecuado para su procesamiento y secuenciación.

Después de la siembra, se continuó con la preparación para la preservación de las muestras, este proceso se realizó inicialmente desarrollando una mezcla de 80 mL de agua destilada con 20 ml de glicerol y 5 gr de caldo MRS, luego se procede a autoclavar, con la finalidad de asegurar la purificación, consecutivamente, se toma 900  $\mu$ L de la mezcla de Caldo MRS con glicerol y 100  $\mu$ L de muestra obtenida de caldo MRS en un tubo Eppendorf, obteniendo así un total de 30 muestras por modulo. Finalmente, para el análisis de BioSequence se trasfiere 100  $\mu$ L de cada tubo Eppendorf en un tubo Falcon hasta completar 20ml.

Figura 12. Proceso de preservación de BAL



### 3. Evaluación Probiótica In Vitro

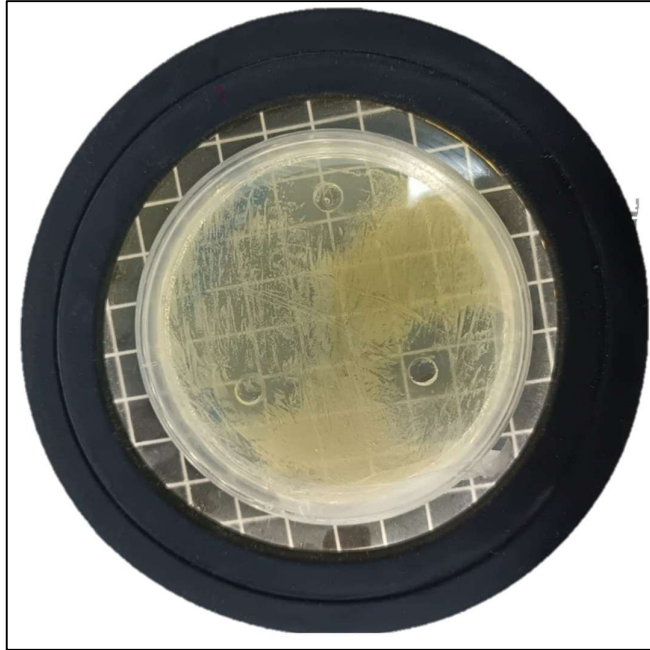
#### Actividad antimicrobiana (Pozo); (Kirby-Bauer)

a) **Preparación del Medio de Cultivo:** Se utilizó 6 gr medio de cultivo TSA (Tripton de Soja Agar) enriquecido con un 2% de NaCl mezclado en 150 ml de agua destilada para proporcionar un ambiente adecuado para el crecimiento de los microorganismos en estudio. Esta preparación es autoclavada para una correcta esterilización.

b) **Siembra de Patógenos:** Se procedió a sembrar las cepas de **Vibrio alginolyticus** obtenidos del agar TCBS en el medio preparado, teniendo como referencia un patrón de turbidez. La siembra se realizó de manera uniforme para asegurar una distribución homogénea de las células bacterianas.

- c) **Aplicación de Pozo de Probióticos:** Se realizó pequeños pozos en la placa con la parte trasera de una punta de micropipeta de 100  $\mu$ L de capacidad y se sellaron con agar agar, posteriormente se aplicó una suspensión de cepas probióticas dentro de los pozos. Esta técnica permitió el crecimiento del halo de inhibición entre los probióticos y los patógenos.
- d) **Incubación:** Las placas fueron incubadas a 30 °C durante 48 horas. Este tiempo y temperatura resultaron ser óptimos para el crecimiento de los *Vibrio* y para observar la posible actividad antimicrobiana de los probióticos.
- e) **Evaluación de la Actividad Antimicrobiana:** Tras el periodo de incubación, se procedió a medir el diámetro del halo de inhibición alrededor de los cúmulos de probióticos. Esta medida, expresada en milímetros, indica la efectividad de las cepas probióticas en la inhibición del crecimiento de los patógenos.

*Figura 13. Placa de Agar TSA inoculada con Bacterias del género Vibrio y sepas probióticas*



## **VII. RESULTADOS**

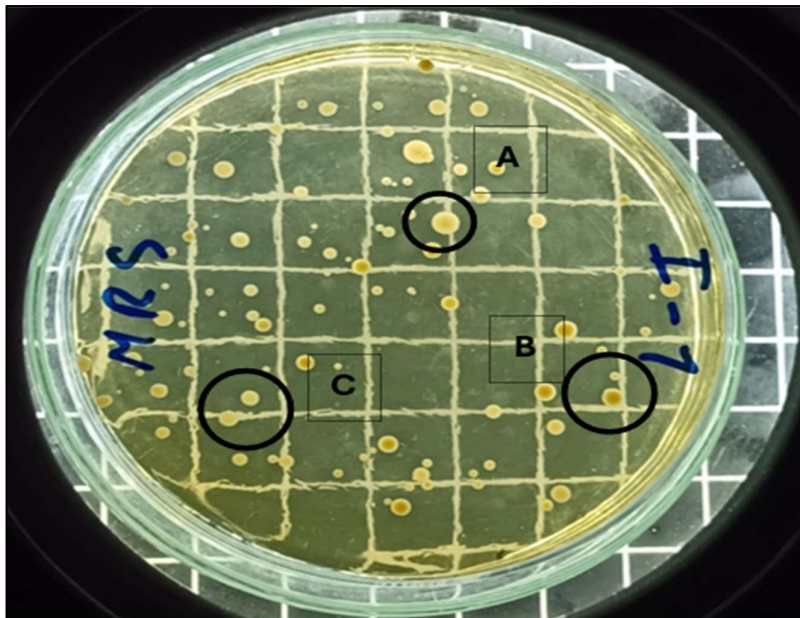
De acuerdo con la metodología aplicada posterior a la siembra en agar MRS, se obtuvieron 3 tipos de Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias ácido-lácticas (BAL), las cuales presentaron características morfológicas generales similares como color aperlado, superficie convexa, tinción grampositiva y prueba de catalasa negativa (Anexo 1), además de características distintivas de cada colonia como tamaño, bordes y tiempo de incubación que se presentaron en las placas (tabla 4).

Tabla 4. Características de UFC pertenecientes a BAL presentes en agar MRS

TIPO	COLOR	TAMAÑO	BORDES	TINCIÓN GRAM	CATALASA	TIEMPO DE INCUBACIÓN
A <i>L. brevis</i>	Beige Aperlado claro	Grande	Simétricos	+	-	> 48
B <i>L. buchneri</i>	Beige Aperlado oscuro	Pequeña	Ligeramente irregulares	+	-	< 24
C	Beige Aperlado claro	Pequeña	Simétricos	+	-	< 24

La bacteria denominada tipo A logró ser identificada como *Lactobacillus brevis* debido al tamaño de la UFC, el cual es superior y tuvo un tiempo de incubación >48 horas, mientras que las bacterias del arquetipo B y C mostraron patrones similares en cuanto a forma y tamaño, sin embargo, se determinó que la bacteria tipo B pertenece a la especie *L. buchneri* debido a la presencia de una ligera producción de gas al ser sembradas en el caldo MRS (Figura 12).

Figura 14. Bacterias ácido-lácticas en agar MRS. A) *L. delbrueckii*, B) *L. fermentum* C) *L. johnsonii*

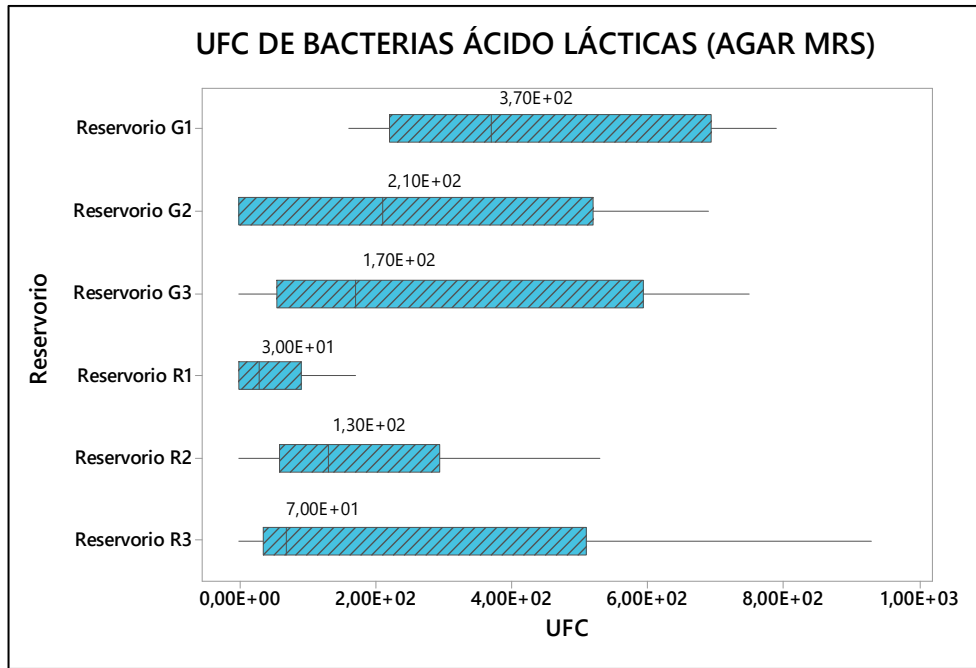


Consecutivamente, se realizó la prueba de normalidad de Anderson-Darling, obteniendo un *valor p* menor al nivel de significancia ( $p < 0,05$ ), por lo cual se concluye que los datos analizados de las seis muestras tomadas en los reservorios de agua de mar tratada para el uso en cultivos de *Penaeus vannamei*, denominados Genética Marina (G1, G2, G3) y Modulo 9 (R1, R2, R3) no se ajustan a una distribución normal. A razón de esto, se aplica la prueba de Kruskal-Wallis (no paramétrica) para establecer diferencias significativas entre las medianas de los grupos de UFC de BAL, obteniendo un *valor p* de 0,02, el cual es menor al nivel de significancia (0,05), concluyendo que existe diferencia estadísticamente significativa entre al menos una de las medianas evaluadas con un 95% de confianza.

En la figura 13, se puede observar la concentración de las UFC BAL de acuerdo a su presencia en los diferentes reservorios analizados, siendo los reservorios pertenecientes al módulo Genética Marina (G1, G2 y G3) quienes presentaron una mediana superior a  $1,70E+02$  UFC a diferencia de los reservorios evaluados en el módulo 9 (R1, R2 y R3), quienes presentaron valores de mediana por debajo de  $1,30E+02$  UFC; además se puede evidenciar que el reservorio G1 presenta una mayor concentración con  $3,70E+02$  UFC en contraste con el reservorio R1, quien presentó únicamente  $3,00E+01$  UFC de BAL. De la misma forma, mediante el uso del software SPSS, se realizó las comparaciones múltiples con corrección establecidas mediante la aplicación del Post Hoc de Bonferroni (anexo 2) la cual estableció con un nivel de confianza del 95%, diferencia

significativa únicamente entre las concentraciones de UFC ácido-lácticas presentes en el R1 y G1 ( $p=0,005$ ), mientras que los demás pares no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

*Figura 15. UFC de Bacterias ácido-lácticas presentes en agar MRS obtenidas de cada reservorio*



Para el control de pureza bacteriana se inoculó muestras de los seis reservorios pruebas en agar TCBS, Cetrimide y TSA (Figura 14), siendo en este último el único en el que se presentaron UFC, al tratarse de agua previamente tratada; además, en la figura 15 se muestran las medianas de las concentraciones de UFC presentes en agar TSA, las cuales no presentaron diferencias significativas, dado que se obtuvo un *valor p* de 0,12 mayor al nivel de significancia ( $\alpha=0,05$ ) con un nivel de confianza del 95%. De la misma manera se puede evidenciar que, aunque se presenta igualdad estadística entre las medianas, se puede evidenciar que

en el reservorio 2 y 3 del módulo 9 (R2 y R3) se presenta una mayor amplitud y distribución de UFC a diferencia de los reservorios G1 y R1 quienes presentaron valores más homogéneos y menos dispersión de datos.

**Figura 16.** Ausencia y presencia de UFC en agares de control. A) Agar TCBS, B) Agar Cetrimide, C) Agar TSA

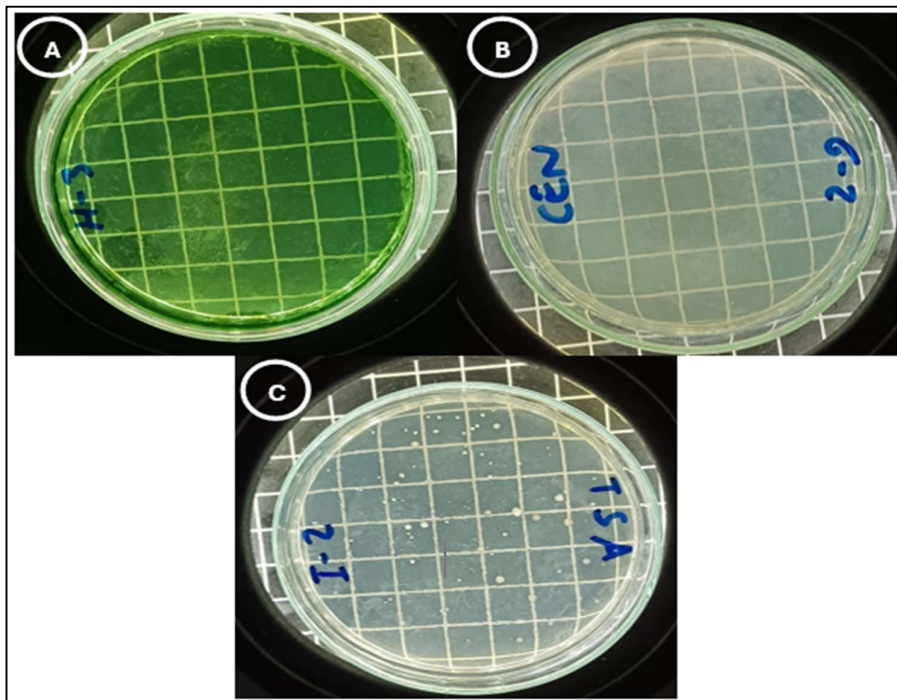
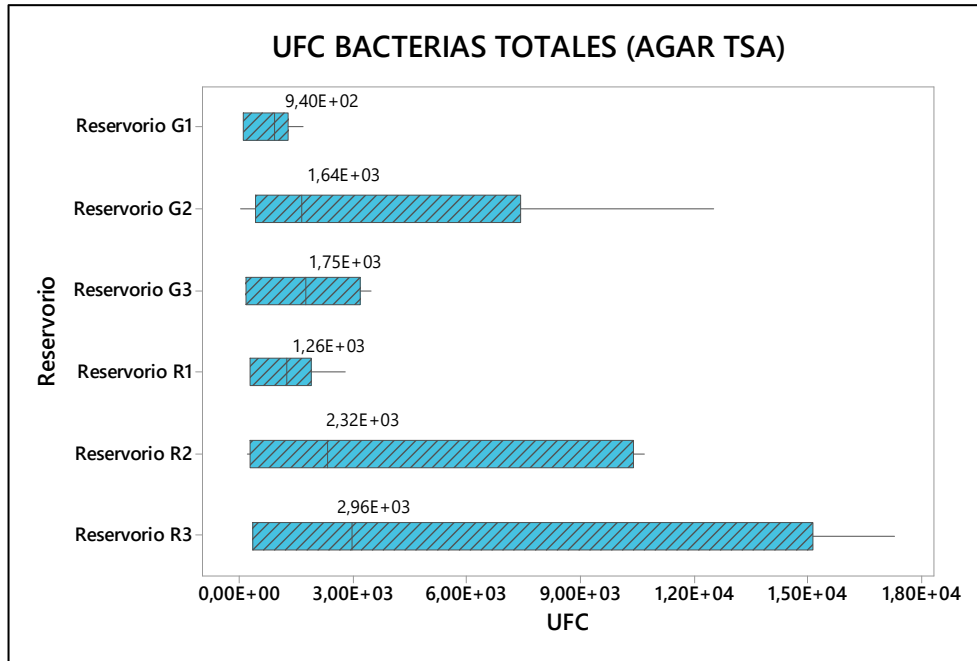


Figura 17. UFC de bacterias presentes en Agar TSA



Así también, los resultados obtenidos de las muestras de cepas aisladas en agar MRS y enviadas a la empresa BioSequence donde se realizó la secuenciación del Gen rRNA16S con la finalidad de corroborar las especies identificadas, la información de la muestra manifestó un total de lectura de 92.963, por las que pasaron por un filtro de calidad del 100%, estas lecturas fueron estadísticamente clasificadas en porcentaje a nivel taxonómico, pero el resultado de mayor importancia es la clasificación de las principales especies presente en la muestra analizada, (figura 16)

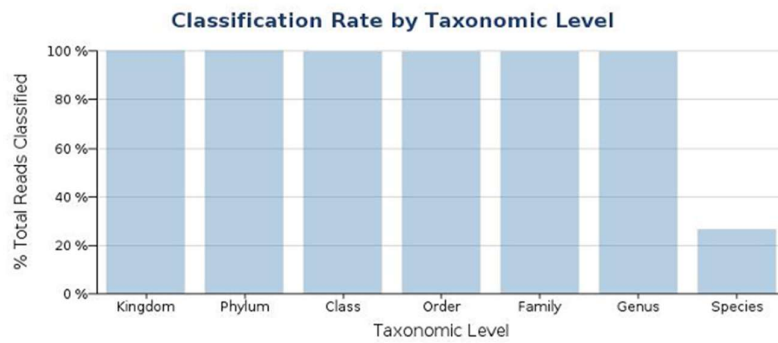
**Figura 18.** Resultados correspondientes a la secuenciación del gen 16S rRNA de muestras de cepas aisladas en agar MRS a) Total de Lectura, b) Clasificación taxonómico y c) Clasificación de Especies Principales.

**Sample Information** a)

Total Reads	Reads Passing Quality Filtering	% Reads Passing Quality Filtering
92,963	92,963	100.00 %

**Classification Statistics** b)

Taxonomic Level	Reads Classified to Taxonomic Level	% Total Reads Classified to Taxonomic Level
Kingdom	92,898	99.93 %
Phylum	92,873	99.90 %
Class	92,853	99.88 %
Order	92,802	99.83 %
Family	92,762	99.78 %
Genus	92,681	99.70 %
Species	24,496	26.35 %



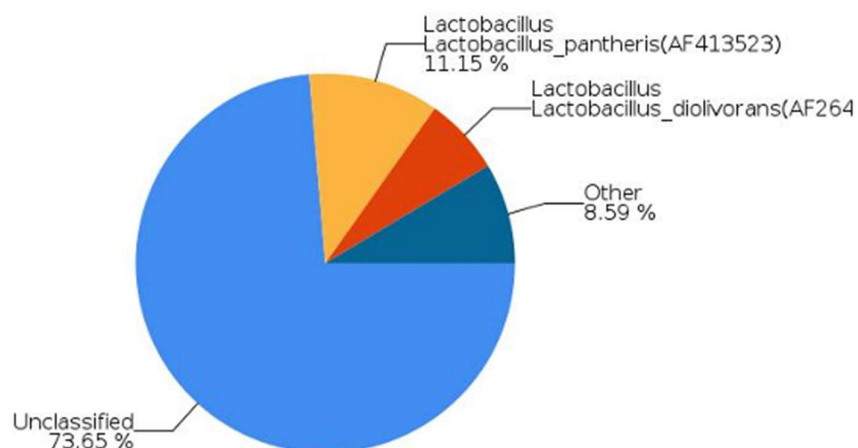
c)

### Top Species Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Unclassified at Species level	68,467	73.65 %
Lactobacillus Lactobacillus_pantheris(AF413523)	10,365	11.15 %
Lactobacillus Lactobacillus_diolivorans(AF264701)	6,150	6.62 %
Lactobacillus Lactobacillus_brevis(M58810)	2,240	2.41 %
Lactobacillus Lactobacillus_buchneri(AB205055)	1,824	1.96 %
Weissella Weissella_paramesenteroides(AB023238)	1,168	1.26 %
Lactobacillus Lactobacillus_xiangfangensis(HM443954)	715	0.77 %
Staphylococcus Staphylococcus_saprophyticus(AP008934)	525	0.56 %

Total Species-level Taxonomic Categories Identified: 139. This table shows the top 8 of 139 classifications.

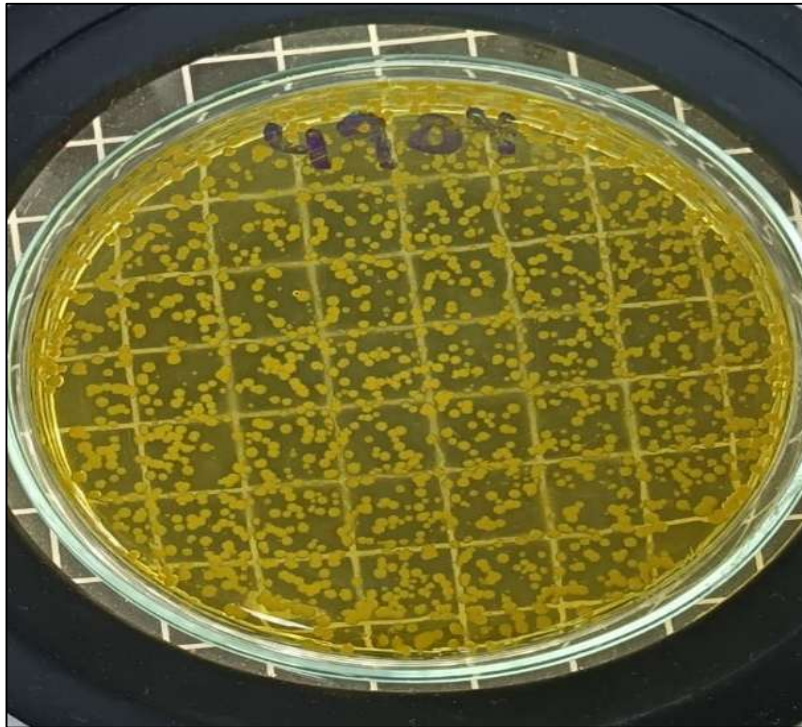
### Top Species Classification Results



Para finalizar se evaluó el potencial probiótico de las cepas obtenidas mediante la inoculación de bacterias ácido-lácticas en agar TSA con bacterias pertenecientes a la especie *Vibrio alginolyticus* (figura 17), el cual se obtuvo de la maceración de los organismos en estadios de postlarva V (PL5) y sembrados en agar TCBS; dado que, en el agua de mar analizada no se obtuvo presencia de este

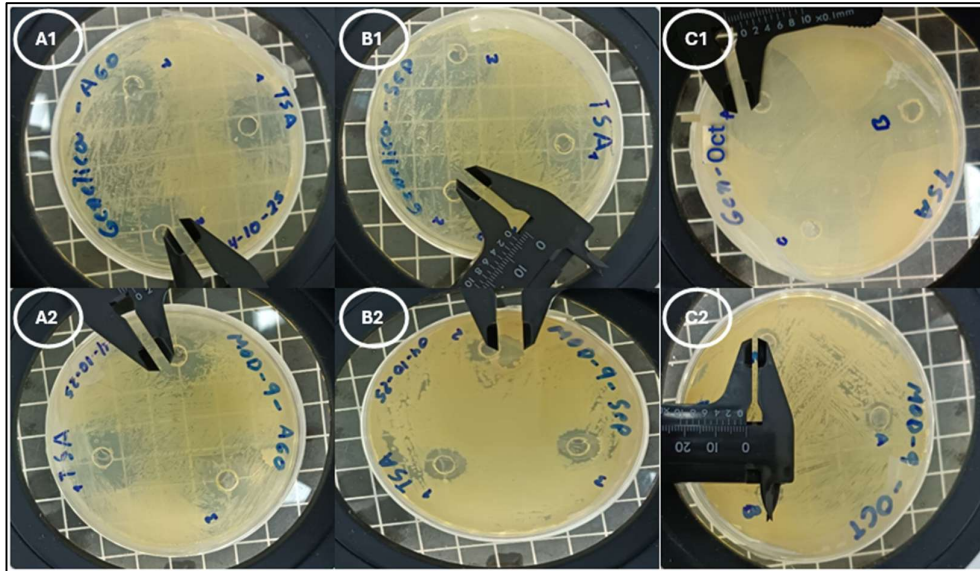
patógeno. Así también cabe recalcar que no se obtuvo bacterias pertenecientes a la especie *V. parahaemolyticus* mediante ninguno de los dos procesos, por lo cual no se pudo evaluar la eficacia de las BAL en esta especie.

**Figura 19.** Bacterias *V. alginolyticus* obtenido del macerado de postlarva presentes en agar TCBS



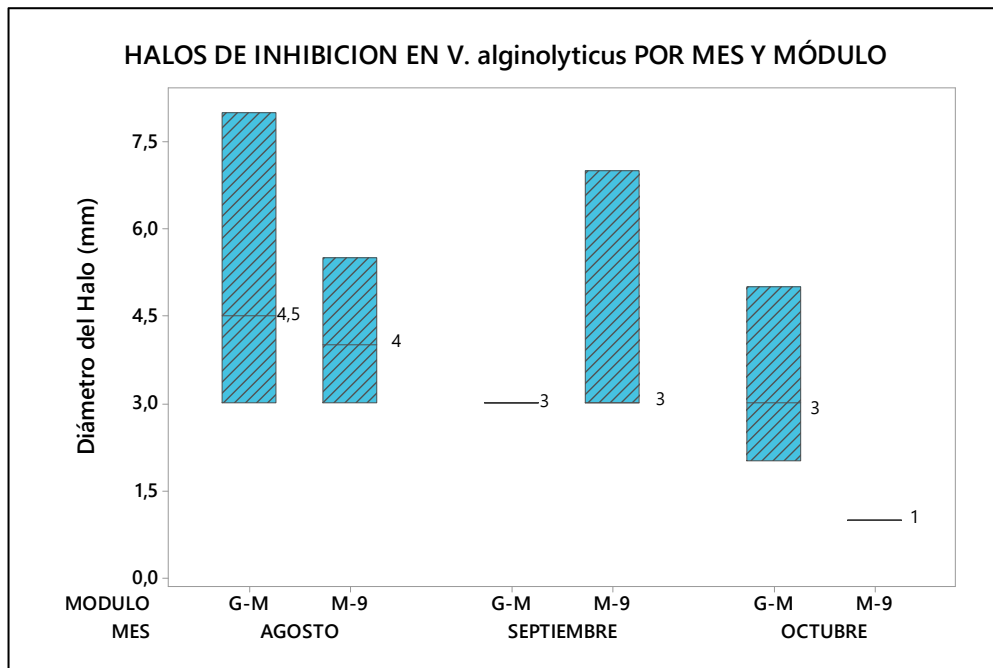
Los resultados obtenidos tras la inoculación del caldo bacterias ácido-lácticas del género *Lactobacillus* contra *V. alginolyticus* en agar TSA muestran un comportamiento similar dentro de los 6 reservorios analizados en este trabajo, produciendo halos de inhibición con diámetros entre 3 y 5 mm, sin embargo, cabe recalcar que los halos obtenidos en las placas pertenecientes al módulo 9 (M-9) muestran un diámetro ligeramente más delgado en comparación con los halos que se presentan en el Módulo de genética marina (G-M) (figura 18).

**Figura 20.** Halos de inhibición de BAL frente a *V. alginolyticus* formados en agar TSA A, B y C corresponde a los meses de estudio y 1, 2 corresponde a los módulos estudiados.



Mediante los resultados estadísticos obtenidos tras la aplicación de Kruskal Wallis se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los diámetros de los halos de inhibición producidos de los dos diferentes módulos de manera general ( $p > \alpha$ ), sin embargo, al realizar la comparación de los halos de inhibición por meses se evidencia diferencia estadística por medio de la aplicación de Kruskal-Wallis ( $p < \alpha$ ) entre el diámetro de los halos definidos en el mes de agosto con los de octubre (Bonferroni  $p = 0,035$ ) (anexo 3) y por último se evaluó la acción inhibitoria de las BAL's entre los módulos por meses, donde se evidencia que en el mes de octubre, el módulo 9 la mediana del diámetro de los halos se diferencia de los demás grupos (figura 19).

**Figura 21.** Prueba de Kruskal Wallis correspondiente a halos de inhibición formados en las muestras de los dos módulos estudiados donde G-M= Genética Marina y M-9= Módulo 9 por meses.



## VIII. DISCUSIÓN

En los últimos años las bacterias ácido-lácticas (BAL) han sido objeto de diversos estudios por las propiedades que estas aportan a los medios de cultivos acuícolas, así están los estudios realizados por Zheng et al. (2020), Ringø et al. (2020) y Kaktcham et al. (2018) donde se destaca la importancia del uso de las BAL como complementos en la acuicultura enfatizando en la capacidad de estas en la producción de sustancias con actividad antimicrobiana como las bacteriocinas, moléculas de proteínas con una mecanismo de acción bactericida.

El espectro de inhibición por compuestos antimicrobianos de las BAL incluye a microorganismos que causan enfermedades en peces y mariscos: *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Pasteurella piscicida*, *Vibrio anguillar*, *V. salmonicida*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *Yersinia ruckeri*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Escherichia coli* patógena, hongos *Candida* y mohos (Chomwong et al., 2018; Gong et al., 2019; Ringø et al., 2020)

En este estudio se realizó dos tipos de obtención bacteriana, una mediante la toma de muestras de agua donde se obtuvieron bacterias ácido-lácticas y bacterias generales en agar MRS y TSA respectivamente mientras que las bacterias de la especie *V. alginolyticus* al no poder ser aislada del agua de mar tratada, se obtuvo del macerado de postlarva de camarón inoculado en agar TCBS, esto concuerda con la investigación realizada por Čanak et al. (2024) donde indica que se procedió al aislamiento de bacterias patógenas como vibrios de intestino del camarón al no

lograr conseguir la muestra directa de agua tratada para cultivos acuícolas, esto debido a que estas forman parte de la flora nativa del langostino, siendo patógenas oportunistas, así como que las bacterias ácido-lácticas sean comunes en el tracto intestinal (Cornejo-Granados et al., 2017; Md Zoqratt et al., 2018).

En cuanto a la cinética bacteriana se observó que el crecimiento en ciertas BAL inició tempranamente entre las 12 y 24 horas posteriores a la siembra concordando con Fernández et al. (2024) y Tomalá Suárez (2025) quienes en sus respectivos estudios denotaron crecimiento bacteriano a partir de las 12 horas hasta las 48 horas de incubación.

Estas características morfológicas para la diferenciación se vieron respaldadas posteriormente ya que mediante la secuenciación del Gen 16S rRNA se permitió identificar con precisión las especies, concordando con el trabajo de Rajonhson, D. M et al (2024) donde se comparó el uso de amplicones cortos (por ejemplo V3–V4) versus secuenciación de la longitud completa del gen 16S en sistemas de cultivo de *P. vannamei*, concluyendo que aunque para diversidad general los amplicones cortos pueden bastar, para resolución a nivel especie o para distinguir cepas muy próximas, la longitud completa aporta mayor precisión.

Estudios han mostrado que mediante secuenciación del gen 16S rRNA se pueden caracterizar las comunidades bacterianas del agua, sedimento e intestino en sistemas de cultivo de camarón. Por ejemplo, se encontró que en agua de cultivo de

camarón la riqueza bacteriana era menor que en agua de flujo libre, y los filos dominantes cambiaban con el tiempo (Qiao et al., 2025). Además, existen estudios donde se sugiere que la secuenciación de 16S del agua puede usarse como herramienta de vigilancia para anticipar brotes o deterioro de la calidad microbiológica antes de que se reflejen en la salud del camarón (Callac et al., 2023).

De la misma manera, las bacterias ácido-lácticas utilizadas en este estudio formaron halos de inhibición entre 3 y 8 mm para contrarrestar el crecimiento del *V. alginolyticus*, concordando aunque no en su totalidad con Tinoco Elizalde (2020) ya que en su estudio *in vitro* las cepas que tuvieron en su composición bacterias del género *Lactobacillus* obtuvo halos superiores con diámetros entre 13 y 17 mm, estos resultados también concuerdan con los obtenidos por Torres (2025) quien en su trabajo de investigación se demostró que las cepas de BAL que no tenían la *Lactobacillus* en su composición no presentaron halos de inhibición en los cultivos *in vitro* ante bacterias del género *Vibrio* mientras que las cepas con *Lactobacillus* presentaron un efecto inhibitorio demostrado con halos entre 5 y 11 mm y con Le & Yang (2018) quien obtuvo diámetros de halos similares.

Según los análisis estadísticos Kruskal Wallis realizados en este estudio para verificar la eficacia de las cepas de BAL utilizadas, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, así como Torres Canales (2025) quien tras aplicar ANOVA para el análisis de sus datos tampoco evidenció diferencias estadísticamente significativas al presentar un *valor p* < 0.05.

## IX. CONCLUSIONES

Al finalizar el presente trabajo de investigación se puede concluir que:

- Se identificaron 3 tipos de Bacterias ácido-lácticas presentes en los reservorios de agua de mar tratada para cultivos de camarón blanco *Penaeus vannamei* mediante técnicas microbiológicas como inoculación, incubación y observación morfológica en placas agar y pruebas genéticas como la secuenciación del Gen ARNr 16s.
- Los agares selectivos Cetrimide (pseudomonas) y TCBS (vibrios) no obtuvieron crecimiento bacteriano al tratarse de agua de mar previamente desinfectada, lo que son indicativos de buena calidad de agua utilizada en los cultivos.
- Las bacterias del género Lactobacillus utilizadas en este trabajo presentaron una capacidad de inhibición en contra de las bacterias patógenas del género *Vibrio* demostrando que pueden ser una fuente de control de enfermedades dentro del cultivo de camarón.
- La identificación molecular mediante secuenciación 16S permitió una diferenciación taxonómica más exacta, con la presencia de 6 especies de Lactobacillus, entre esta 6 Bacterias Acido lácticas se hallaron 2 que no están especificadas que se encuentren en el área marino, estos resultado demuestran que son bacterias no cultivables, indicando que este ADN bacteriano puede estar presente tanto en el agar como en el caldo usado para el crecimiento de las bacterias Acido Lácticas.

## **X. RECOMENDACIONES**

- Continuar con el aislamiento y estudio de las bacterias ácido-lácticas como aditivo en los cultivos acuícolas por sus cualidades antibacterianas.
- Realizar estudios con cepas de bacterias individuales para comprobar la acción de cada una en contra de bacterias patógenas.
- Probar la acción de las BAL en contra de otras bacterias del género *Vibrio* para conocer el comportamiento de inhibición y contagio.
- Se sugiere probar cada una de las especies de bacterias ácido-lácticas halladas en el estudio metagenómico por separado para comparar su efectividad contra los diversos patógenos que existen en los medios de cultivos.
- Se aconseja repetir este análisis para la creación de una base de datos más amplia y actualizada, con la finalidad de un ensamblaje de lecturas no clasificadas, este desarrollo permitirá descubrir posibles genomas incompletos o nuevos taxones bacterianos.

## XI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre Chanta, L. E.-S.-Z. (2021). Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(4). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i4.19386>
- Alderman, D. J., & Hastings, T. S. (1998). Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance–potential for consumer health risks. *International Journal of Food Science and Technology*, 33(2), 139-155. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.3320139.x>
- Anas, A., Sukumaran, V., Nampullipurackal Devarajan, D., Maniyath, S., Chekidhenkuzhiyil, J., M. A., & Tharakan, B. (. (2021). Probiotics inspired from natural ecosystem to inhibit the growth of *Vibrio* spp. causing white gut syndrome in *Litopenaeus vannamei*. *3 Biotech*, 1(11), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02618-2>
- Anderson, J. L., Asche, F., Garlock, T., & Chu, J. (2017). Aquaculture: Its role in the future of food. *World agricultural resources and food security: International food security.*, 159-173. <https://doi.org/10.1108/S1574-871520170000017011>
- Bermúdez, A., N, N. H., G, N., & J., R. (2002). Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia. *Bogotá: INVEMAR. Ministerio de Medio Ambiente.*, 110-112.
- Bioagar. (2018). Ficha tecnica Agar Cetrimide.
- Bioagar. (2021). Ficha Tecnica Agar MRS. 2.
- Bioser. (2025). MRS Agar.
- Bioser. (2025). TSA Agar.
- Broberg, C. A., Calder, T. J., & Orth, K. (2011). *Vibrio* parahaemolyticus cell biology and pathogenicity determinants. . *Microbes and infection*, 13(12-13), 992-1001.

- Callac, N., Giraud, C., Boulo, V., Wabete, N., & Pham, D. (2023). Microbial biomarker detection in shrimp larvae rearing water as putative bio-surveillance proxies in shrimp aquaculture. *PeerJ*, 11, e15201. <https://doi.org/10.7717/peerj.15201>
- Cámara Nacional de Acuicultura, P. o. (2007). *Aquacultura*.
- Čanak, I., Kostelac, D., Jakopović, Ž., Markov, K., & Frece, J. (2024). Lactic acid bacteria of marine origin as a tool for successful shellfish farming and adaptation to climate change conditions. *Foods*, 13(7), 1042. <https://doi.org/10.3390/foods13071042>
- Castañeda, A., Aguilar, J., Zatan, A., Toledo, O., Feria, M., & Castillo, D. (2018). Identificación molecular de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas aisladas del intestino posterior de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista de Investigaciones Altondinas*, 20, 429-438. <https://doi.org/https://doi.org/10.18271/ria.2018.420>
- Chizhayeva, A., Amangeldi, A., Oleinikoba, Y., Alybaeva, A., & Sadanov, A. (2022). Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. *Aquatic Living Resources.*, 35(10), 17. <https://doi.org/10.1051/alr/2022011>
- Chomwong, S., Charoensapsri, W., Amparyup, P., & Tassanakajon, A. (2018). Two host gut-derived lactic acid bacteria activate the proPO system and increase resistance to an AHPND-causing strain of *Vibrio parahaemolyticus* in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 89, 54-65. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.08.002>
- CNA, C. N. (2020). Ecuador, primer país en el mundo en incorporar tecnología blockchain para trazabilidad del camarón en colaboración con IBM. <https://www.cna-ecuador.com/ecuador-primer-camaron-en-el-mundo-en-incorporar-tecnologia-blockchain-para-trazabilidad-en-colaboracion-con-ibm/>
- Cornejo-Granados, F., López-Zavala, A. A., Gallardo-Becerra, L., Mendoza-Vargas, A.,

- Sánchez, F., Vichido, R., . . . Ochoa-Leyva, A. (2017). Microbiome of pacific whiteleg shrimp reveals differential bacterial community composition between wild, aquacultured and AHPND/EMS outbreak conditions. *Scientific Reports*, 7(1) . <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11805-w>
- Cuéllar-Anjel, J. (2013). Tipos de Vibriosis.
- Cuéllar-Anjel, J., Lara, C., Morales, V., De Gracia, A., & Suárez, O. (2010). MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS.
- Defoirdt, T., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2011). Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current Opinion in Microbiology*, 14(3), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.03.004>
- del Rosario Rodicio, M., & del Carmen Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(4), 238-245.
- Delgado-Díaz et al. (2020). Incorporación de bacterias ácido lácticas nativas como probióticos en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) en la camaronera Las Ánimas, El Salvador. *Revista Minerva: Revista Científica Multidisciplinaria de la Universidad de El Salvador*, 3, 81-97. <https://doi.org/https://doi.org/10.5377/revminerva.v3i1.12473>
- Dickinson, B. (2003). INSTRUCCIONES DE USO–MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR . *BD Triple Sugar Iron Agar*, 8-12.
- Dickinson, B. (2019). BD TCBS AGAR. *BD Triple Sugar Iron Agar*, 4-8.
- Dugassa, H., & Gaetan, D. G. (2018). Biology of white leg shrimp, *Penaeus vannamei*: Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 10(2), 5-17.
- Egyptian Journal of Aquatic Research. (2024). Culture-Independent molecular techniques

for bacterial detection in bivalves. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 50(4), 585-600. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2024.11.002>

FAO. (1990). CHAPTER III: PROPERTIES, MANUFACTURE AND APPLICATION OF SEAWEED POLYSACCHARIDES - AGAR, CARRAGEENAN AND ALGIN. *Training Manual on Gracilaria Culture and Seaweed Processing in China*.

FAO. (2004). Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina. *FAO Documento Técnico de Pesca*, 66. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/418fb6c9-530a-4f6b-8384-5b30dee25332/content>

FAO. (2009). *Penaeus vannamei*. (V. C. New, Ed.) *Cultured aquatic species fact sheets*. [https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es\\_whitelegshrimp.htm](https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/es_whitelegshrimp.htm)

FAO. (2020). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Regional review on status and trends in aquaculture development in Latin America and The Caribbean-2020: <https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2022/01/FAO-2020-REVIEW.pdf>

Fernández, L., Javelle, A., & Hoskisson, P. (2024). Introducción microbiana: cinética del crecimiento bacteriano. *Nacional Library of Medicine*, 170(2). <https://doi.org/10.1099/mic.0.001428>

Galaviz-Silva, L., Robles-Valdez, A., Sánchez-Díaz, R., Ibarra-Gamez, J. C., Gómez-Gil, B., & Molina-Garza, Z. J. (2021). Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que causan necrosis hepatopancreática aguda en camarón cultivado de Sonora, México y su resistencia a antibióticos. *Hidrobiológica*, 31(2), 111-123.

<https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2021v31n2/galaviz>

- Gil, Á., Plaza-Díaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gómez-Llorente, C., & Fontana, L. (2020). Mecanismo de acción de los probióticos. *Anales de Microbiota, Probióticos y Prebióticos*, 1(1), 1(1), 61-65. [https://semipyp.es/pdf/anales/vol1\\_num1.pdf](https://semipyp.es/pdf/anales/vol1_num1.pdf)
- Gomez, B. (1998). Evaluation of potential probionts for use in penaeid shrimp larval culture. *PhD Thesis, the University of Stirling*, 179.
- Gómez, G., & Parrales, J. (2019). Las exportaciones de camarón ecuatoriano y su incidencia en la balanza comercial, Periodo 2014-2018. Guayaquil, Ecuador. *Trabajo especial de grado de la Universidad de Guayaquil para optar al título de Economista*.
- Gong, L., He, H., Li, D., Cao, L., Khan, T. A., Li, Y., & Xia, L. (2019). A new isolate of *Pediococcus pentosaceus* (SL001) with antibacterial activity against fish pathogens and potency in facilitating the immunity and growth performance of grass carp. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1384. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01384>
- González Salas, R., Vidal del Río, M., & Pimienta Concepción, I. (2021). Uso intensivo de antibióticos profilácticos en la acuicultura: un problema creciente para la salud humana y animal. *Universidad y Sociedad*, 13(S2), 204-210. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/2304>
- Guevara Toscana, M. E., Palma Caicedo, T. A., & Cabrera Enríquez, D. M. (2021). Impacto económico y ambiental generado por el sector camaronero del Ecuador. *STRATEGOS - Revista Internacional de Estudios en Ciencias Administrativas*, 1(2). <https://doi.org/10.53591/strategos.v1i2.1844>
- He, S. (2021). TSM Gerente de I+D para acuicultura de Evonik Industries, Alemania. *International Aquafeed*.
- Juarez, L. M., Moss, S. M., & Figueras, E. (2010). Maturation and larval rearing of the

Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *The shrimp book*, 305-352.  
<https://doi.org/10.1079/9781800629349.0012>

Kaktcham, P. M., Temgoua, J. B., Zambou, F. N., Diaz-Ruiz, G., Wacher, C., & Pérez-Chabela, M. (2018). In vitro evaluation of the probiotic and safety properties of bacteriocinogenic and non-bacteriocinogenic lactic acid bacteria from the intestines of Nile tilapia and common carp for their use as probiotics in aquaculture. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(1), 98-109.  
<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9312-8>

Kumar, V., Roy, S., Kumar, D., & Kumar, U. (2016). Application of Probiotics in Shrimp Aquaculture: Importance, Mechanisms of Action, and Methods of Administration. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(4), 342-368. .  
<https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1193841>

Le, B., & Yang, S. H. (2018). Probiotic potential of novel *Lactobacillus* strains isolated from salted-fermented shrimp as antagonists for *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Microbiology*, 56(2), 138-144. <https://doi.org/10.1007/s12275-018-7407-x>

Li, C., Ren, Y., Jiang, S., Zhou, S., Zhao, J., Wang, R., & Li, Y. (2018). Effects of dietary supplementation of four strains of lactic acid bacteria on growth, immune-related response and genes expression of the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka. *Fish & shellfish immunology*, 74, 69-75.  
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.037>

Li, J., Guo, Y., Zhu, C., Ma, Z., Qin, J. G., Xie, X., & Chen, S. (2019). Effects of a partitioned aquaculture system on water quality and growth of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 50(7), 1942-1951. <https://doi.org/10.1111/are.14081>

Luo, K., Liu, Y., Qin, G., Wang, S., Wei, C., Pan, M., & Tian, X. (2023). A comparative study on effects of dietary three strains of lactic acid bacteria on the growth

performance, immune responses, disease resistance and intestinal microbiota of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* . *Fish & Shellfish Immunology*, 136, 108707. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108707>

Martínez-Cruz, P., Ibáñez, A. L., Monroy Hermosillo, O., & Ramírez Saad, H. (2012). Use of probiotics in aquaculture. *ISRN Microbiology*, 2012, 916845. <https://doi.org/10.5402/2012/916845>

Md Zoqratt, M. Z., Eng, W. W., Thai, B. T., Austin, C. M., & Gan, H. M. (2018). Microbiome analysis of Pacific white shrimp gut and rearing water from Malaysia and Vietnam: Implications for aquaculture research and management. . *PeerJ*, 6, e5826. <https://doi.org/10.7717/peerj.5826>

Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., & Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of digestive Diseases*, 9(4), 190-198. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2008.00345.x>

Morales Toruño, G. E., & Cortez Vanegas, R. D. (2015). Efecto de dos dietas: comercial 25% de proteína experimental 20% de proteína más melaza, sobre el crecimiento de los camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* en sistema semi-intensivo.

Mostacero Arango, L. B. (2024). *CONCYTEC*. Caracterización molecular de bacterias ácido lácticas aisladas de fermentaciones espontáneas de frutos: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS\\_dacd74fa4a9c549e349d816715e1efd6](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS_dacd74fa4a9c549e349d816715e1efd6)

Muñoz-Atienza, E. G.-S., Herranz, C., & Cintas, L. M. (2013). Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. . *BMC microbiology*, 13, 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-15>

- Paixão, P., Couto, M., Sousa, N., Abe, H., Dias, J., Meneses, J., & Fujimoto, R. (2020). In vitro selection of autochthonous lactic acid bacterium from clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture Research*, 51(2), 848-851. <https://doi.org/10.1111/are.14396>
- Perez Farfante, I. (1971). Western Atlantic Shrimps of the Genus *Metapenaeopsis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) with Descriptions of Three New Species. *Smithsonian Contributions to Zoology*, (79): 1-37. <https://doi.org/10.5479/si.00810282.79>
- Qiao, L., Bao, J. J., Li, T. J., Sun, X. M., Ze, W. G., & Li, J. (2025). MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE AND ITS DRIVING FACTORS IN THE WHITELEG SHRIMP (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) AQUACULTURE SYSTEM. *Applied Ecology & Environmental Research*, 23(1). [https://aloki.hu/pdf/2301\\_671686.pdf](https://aloki.hu/pdf/2301_671686.pdf)
- Rajonhson, D. M., Angthong, P., Thepsuwan, T., Sutheeworapong, S., Satanwat, P., Tapaneeyaworawong, P., & Rungrassamee, W. (2024). Integrating short-and full-length 16S rRNA gene sequencing to elucidate microbiome profiles in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds. *Microbiology Spectrum*, 12(11), e00965-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00965-24>.
- Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S. H., Soltani, M., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., & Song, S. K. (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of applied microbiology*, 129(1), 116-136. <https://doi.org/10.1111/jam.14628>
- Santiago, M., Espinosa, A., & Bermúdez, M. (2009, julio - septiembre). Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 40(3), 22-32.

- Tinoco Elizalde, V. (2020). Potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de *Litopenaeus vannamei* frente a *Vibrio* spp. resistentes y sensibles a antibióticos. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/63483>
- TM MEDIA. (2018). TM Media products Catalogue . <https://doi.org/https://es.slideshare.net/slideshow/tm-media-products-catalog-2018-titan-media/108226946>
- Tomalá Suárez, M. (2025). Determinación de la eficacia de probióticos activados y su utilización en el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei* en el laboratorio AQUAGEN SA, provincia de Santa Elena.
- Torres Canales, I. V. (2025). Efecto de productos antibacterianos comerciales sobre el crecimiento de *Vibrio* spp. aislados del tracto digestivo de *Litopenaeus vannamei*, en laboratorio. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/65679>
- United Nations. (2015). Transforming our world: The 2030 Agenda for Sustainable Development. *Naciones Unidas*. <https://sdgs.un.org/2030agenda>
- Urresta, P. (2017). Evaluación de 2 probióticos comerciales como controladores de patógenos en tanques de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Guayas, Ecuador.: *Universidad Católica de Santiago de Guayaquil*. <https://doi.org/http://repositorio.ucsg.ec/handle/3317/7712>.
- Velásquez, G. M. (2016). *Biblioteca IMARPE*. Caracterización de bacterias ácidos lácticas aisladas del intestino de *litopenaeus vannamei* cultivados en sistema intensivo en Tumbes - Perú y su potencial uso como probióticos: [https://biblioteca.imarpe.gob.pe/opac\\_css/index.php?lvl=notice\\_display&id=23145](https://biblioteca.imarpe.gob.pe/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=23145)
- Velásquez, P., Solorzano, J., Ochoa, P., Solano, G., Quizhpe, P., & Guillen, R. (2023). Characterization of water quality during freshwater culture of shrimp *Litopenaeus*

vannamei in southern Ecuador. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(2), 74-87. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2023.100200074x>

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 64(4), 655–671. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>

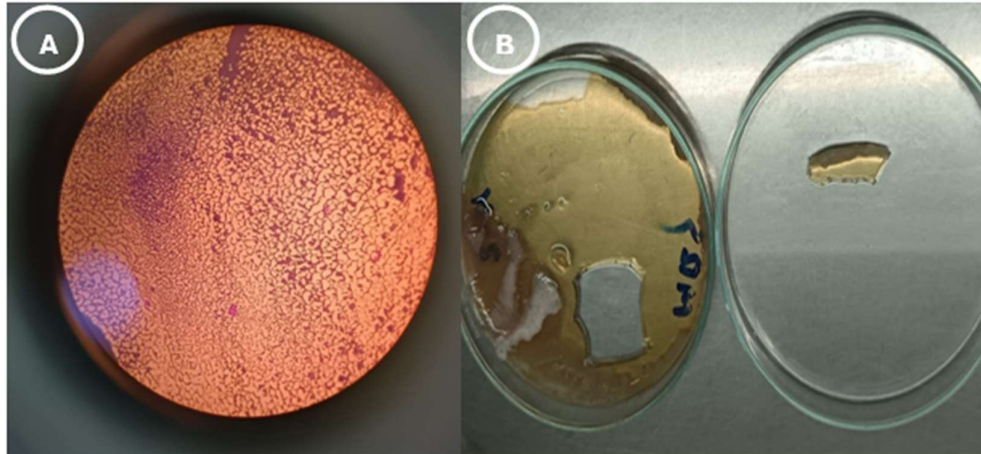
Wang, Y. B., Li, J. R., & Lin, J. (2008). Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281(1-4), 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.002>

Zamora, P. D., Quiróz, C., & Quiñónez, E. (2005). Un enemigo marino silencioso: *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Dig. Univ*, 6, 1-9.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., & Mattarelli, P. &. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

## ANEXOS

*Anexo 1. A) Coloración violeta para bacterias Gram positivas B) Prueba de catalasa negativa para BAL.*



*Anexo 2. Prueba post hoc de Dunn con corrección Bonferroni para determinación de diferencias entre grupos en cuanto a concentración de UFC de bacterias ácido lácticas por reservorio.*

Comparaciones por parejas de RESERVORIO					
Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada <sup>a</sup>
Reservorio R1- Reservorio R3	-12,056	7,382	-1,633	,102	1,000
Reservorio R1- Reservorio G2	12,222	7,382	1,656	,098	1,000
Reservorio R1- Reservorio R2	-12,611	7,382	-1,708	,088	1,000
Reservorio R1- Reservorio G3	16,611	7,382	2,250	,024	,367
Reservorio R1- Reservorio G1	26,500	7,382	3,590	,000	,005
Reservorio R3- Reservorio G2	,167	7,382	,023	,982	1,000
Reservorio R3- Reservorio R2	,556	7,382	,075	,940	1,000
Reservorio R3- Reservorio G3	4,556	7,382	,617	,537	1,000
Reservorio R3-	14,444	7,382	1,957	,050	,756

Reservorio G1					
Reservorio G2- Reservorio R2	-,389	7,382	-,053	,958	1,000
Reservorio G2- Reservorio G3	-4,389	7,382	-,595	,552	1,000
Reservorio G2- Reservorio G1	14,278	7,382	1,934	,053	,797
Reservorio R2- Reservorio G3	4,000	7,382	,542	,588	1,000
Reservorio R2- Reservorio G1	13,889	7,382	1,881	,060	,899
Reservorio G3- Reservorio G1	9,889	7,382	1,340	,180	1,000
Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales. Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.					
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.					

**Anexo 3. Prueba post hoc de Dunn con corrección Bonferroni para determinación de diferencias entre grupos en cuanto a diámetro de halos de inhibición formados por bacterias ácido lácticas frente a vibrios por mes.**

<b>Comparaciones por parejas de MES</b>					
Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada <sup>a</sup>
3-2	4,333	2,939	1,474	,140	,421
3-1	7,417	2,939	2,524	,012	,035
2-1	3,083	2,939	1,049	,294	,882
Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales. Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,05.					
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.					

*Anexo 4. Proceso de toma de muestras de agua*



*Anexo 5. Procesos microbiológicos aislamiento de BAL*



*Anexo 6. Caldo MRS con presencia bacteriana*



*Anexo 7. Resultados de la Empresa BioSequence, a nivel taxonómico.*

**Classification Results by Taxonomic Level**

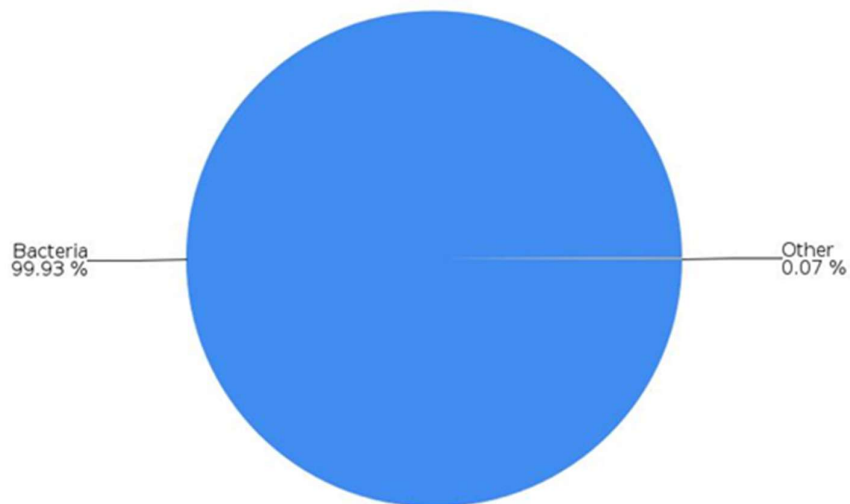
Tables show the highest 8 taxonomic classifications at each level.  
Pie charts show all classifications above 3.5% abundance.

**Top Kingdom Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Bacteria	92,898	99.93 %
Unclassified at Kingdom level	65	0.07 %

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Kingdom Classification Results**



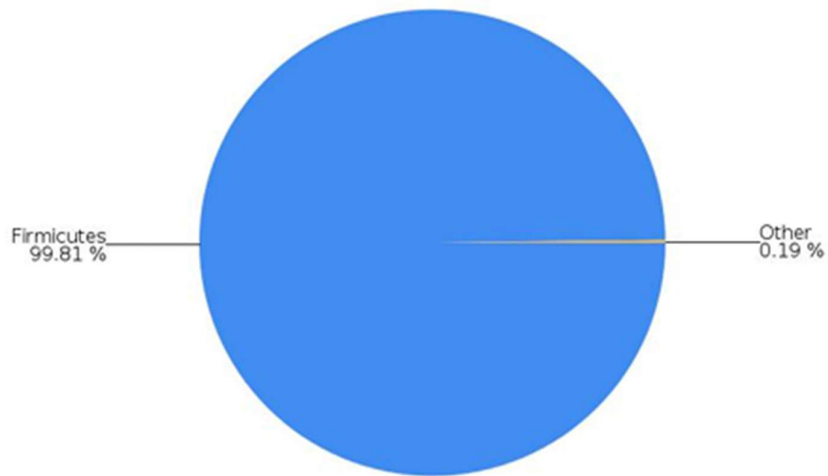
### Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	92,791	99.81 %
Unclassified at Phylum level	90	0.10 %
Proteobacteria	23	0.02 %
Tenericutes	16	0.02 %
Acidobacteria	12	0.01 %
Actinobacteria	6	0.01 %
Bacteroidetes	4	0.00 %
Candidatus_Saccharibacteria	3	0.00 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 19. This table shows the top 8 of 19 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

### Top Phylum Classification Results



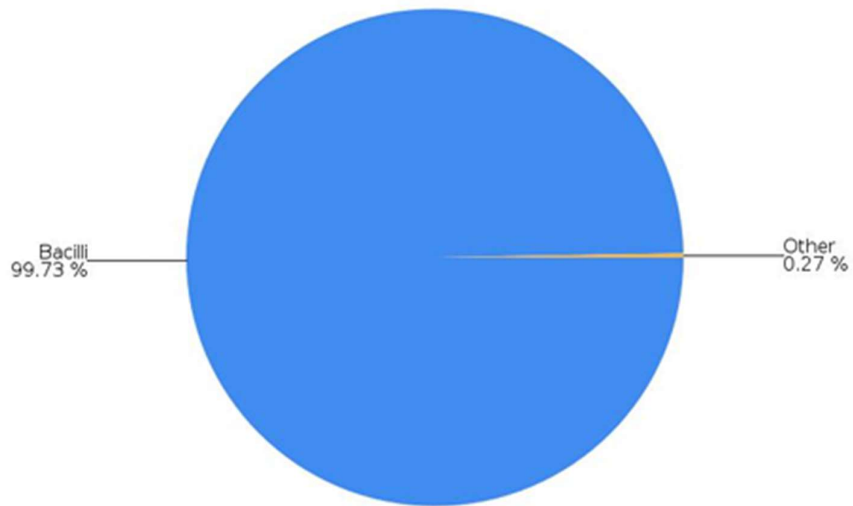
### Top Class Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Bacilli	92,712	99.73 %
Unclassified at Class level	110	0.12 %
Clostridia	50	0.05 %
Mollicutes	16	0.02 %
Gammaproteobacteria	11	0.01 %
Unclassified at Class level	10	0.01 %
Actinobacteria	6	0.01 %
Erysipelotrichia	5	0.01 %

Total Class-level Taxonomic Categories Identified: 32. This table shows the top 8 of 32 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

### Top Class Classification Results



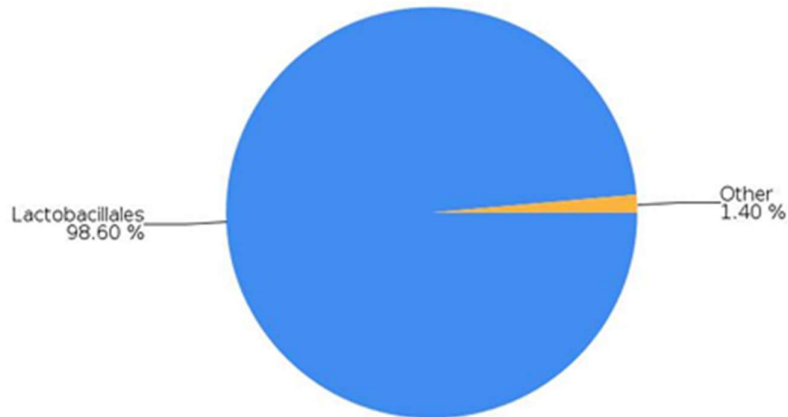
### Top Order Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Lactobacillales	91,663	98.60 %
Bacillales	1,001	1.08 %
Unclassified at Order level	161	0.17 %
Clostridiales	40	0.04 %
Unclassified at Order level	23	0.02 %
Mycoplasmatales	14	0.02 %
Halanaerobiales	9	0.01 %
Erysipelotrichales	5	0.01 %

Total Order-level Taxonomic Categories Identified: 38. This table shows the top 8 of 38 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

### Top Order Classification Results



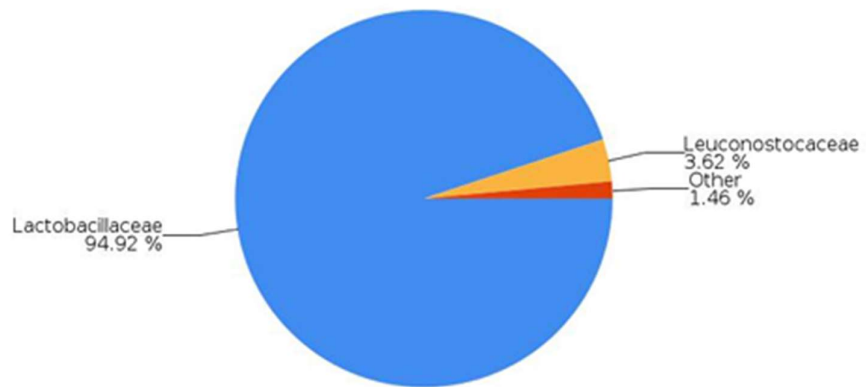
### Top Family Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Lactobacillaceae	88,240	94.92 %
Leuconostocaceae	3,362	3.62 %
Staphylococcaceae	937	1.01 %
Unclassified at Family level	201	0.22 %
Unclassified at Family level	22	0.02 %
Carnobacteriaceae	19	0.02 %
Ruminococcaceae	19	0.02 %
Planococcaceae	14	0.02 %

Total Family-level Taxonomic Categories Identified: 69. This table shows the top 8 of 69 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

### Top Family Classification Results



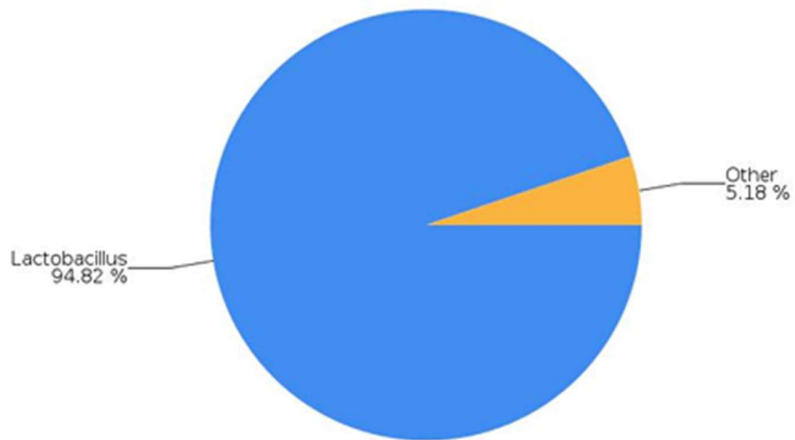
### Top Genus Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Lactobacillus	88,150	94.82 %
Weissella	2,964	3.19 %
Staphylococcus	934	1.00 %
Leuconostoc	381	0.41 %
Unclassified at Genus level	282	0.30 %
Pediococcus	42	0.05 %
Mycoplasma	14	0.02 %
Fructobacillus	12	0.01 %

Total Genus-level Taxonomic Categories Identified: 105. This table shows the top 8 of 105 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

### Top Genus Classification Results



La libertad 14 de octubre del 2025

Ing. Steven Ordoñez

**Gerente General**

Asunto: Solicitud de Permiso para Realizar Tesis

**Cordial saludo. –**

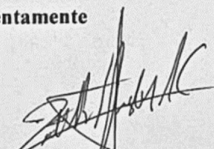
Por medio de la presente, me dirijo a usted con el fin de solicitarle el permiso para realizar mi tesis de grado en las instalaciones de su empresa del Laboratorio Genética Marina y Diosmar.

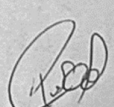
Yo **ALVARADO CALVACHE JUDITH DE LOS ANGELES**, estudiante de Biología en la "Universidad Estatal Península De Santa Elena. Mi tesis se titula "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN PROBIÓTICA DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS PROVENIENTES DE RESERVORIOS EMPLEADOS EN EL CULTIVOS DE PRODUCCION DE *Penaeus vannamei*" tiene como objetivo "Tipificar molecularmente cepas autóctonas de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL), mediante técnica microbiológicas y de secuenciación del gen 16S rARN, con el propósito de determinar su diversidad genética y evaluar in vitro su capacidad antimicrobiana frente a cepas patógenas del género *Vibrio*."

Para llevar a cabo mi investigación, necesito me puedan facilitar sus instalaciones. Me comprometo a mantener la confidencialidad de toda la información que me sea proporcionada y a no utilizarla para ningún otro fin que no sea el de mi tesis.


Agradezco de antemano su tiempo y consideración. Quedo a su disposición para ampliar la información que sea necesaria.

**Atentamente**

  
Alvarado Calvache Judith  
Telf.:0958962131  
Mail: judith.alvaradocalvache@upsc.edu.ec

  
Ing. Steven Ordoñez  
Gerente General de Genética  
Marina del Ecuador

Anexo 9. Compilation, entregado por la Tutora responsable.



**INFORME DE ANÁLISIS**  
magister

## Tesis Judith Alvarado Compilatio

**7%**  
Textos sospechosos


- 6% Similitudes (ignorado)
- 0% similitudes entre comillas
- 0% entre las fuentes mencionadas
- 4% Idiomas no reconocidos
- 3% Textos potencialmente generados por la IA

Nombre del documento: Tesis Judith Alvarado Compilatio.docx  
ID del documento: ac7864276b87b7ca4c2ef5a629b635132eee135e  
Tamaño del documento original: 1,73 MB

Depositante: ANGELA MARIA REYES LAINEZ  
Fecha de depósito: 5/11/2025  
Tipo de carga: interface  
fecha de fin de análisis: 5/11/2025


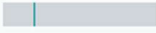
Número de palabras: 6572  
Número de caracteres: 43.361

Ubicación de las similitudes en el documento:





### Fuentes de similitudes

#### Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	<a href="https://repositorio.upse.edu.ec">repositorio.upse.edu.ec</a> <a href="https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/11699/1/JPSE-TBI-2024-0039.pdf">https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/11699/1/JPSE-TBI-2024-0039.pdf</a> 15 fuentes similares	5%		Palabras idénticas: 5% (364 palabras)
2	<a href="http://cedconsultoria.net">cedconsultoria.net</a>   Morfología Y Anatomía deL. Litopenaeus vannamei   TAM E... <a href="http://cedconsultoria.net/2022/06/27/morfologia-y-anatomia-del-litopenaeus-vannamei#:~:">http://cedconsultoria.net/2022/06/27/morfologia-y-anatomia-del-litopenaeus-vannamei#:~:...</a> 2 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (32 palabras)

#### Fuente con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	 Documento de otro usuario #034617 Viene de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (10 palabras)

## PROBLEMÁTICA

El cultivo de *Penaeus vannamei* es uno de los sistemas acuícolas más importantes a nivel mundial; sin embargo, su productividad se ve amenazada por enfermedades bacterianas y la degradación de la calidad del agua, lo que genera pérdidas económicas significativas (FAO, 2022). Tradicionalmente se han empleado antibióticos y desinfectantes para controlar patógenos, pero su uso excesivo ha provocado problemas como la resistencia antimicrobiana, el desequilibrio microbiano en los sistemas de cultivo y riesgos para la salud humana y ambiental (Defoirdt et al., 2011).

Ante este contexto, los probióticos se han propuesto como una alternativa sostenible para mejorar la salud de los camarones y estabilizar el ecosistema acuícola. Entre ellos, las bacterias ácido-lácticas (BAL) han demostrado potencial para inhibir patógenos, mejorar la digestibilidad de nutrientes y modular la microbiota del entorno (Ringø et al., 2020). No obstante, pese a su utilidad, existe limitada información sobre las BAL nativas presentes en los reservorios utilizados durante la producción de *P. vannamei*, a pesar de que las cepas autóctonas suelen mostrar mayor capacidad de adaptación y eficacia funcional que los probióticos comerciales (Martínez-Cruz et al., 2012).

La ausencia de estudios enfocados en su caracterización molecular, así como en la evaluación experimental de sus capacidades probióticas, constituye una brecha

importante en la gestión microbiológica de los sistemas camaroneros. La identificación precisa mediante herramientas moleculares permite asegurar la clasificación taxonómica adecuada y comprender mejor su rol ecológico (Verschuere et al., 2000). Asimismo, la evaluación de propiedades como tolerancia a condiciones gastrointestinales, capacidad antagonista frente a patógenos y producción de compuestos antimicrobianos es esencial para validar su potencial como probióticos funcionales.

Por lo tanto, se vuelve necesario estudiar las bacterias ácido-lácticas presentes en estos reservorios y determinar cuáles de ellas presentan características probióticas que puedan contribuir a mejorar la salud y el rendimiento del cultivo de *P. vannamei*. Este análisis permitirá sentar bases científicas para el desarrollo de probióticos nativos y estrategias de manejo microbiológico más sostenibles en la acuicultura.