



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

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

BIÓLOGO

Tema:

**DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE PROBIÓTICOS
ACTIVADOS Y SU UTILIZACIÓN EN EL CULTIVO DE LARVAS
DE *Penaeus vannamei* EN EL LABORATORIO AQUAGEN S.A.,
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

Autor:

TOMALÁ SUÁREZ MAXIMILIANO EDUARDO

Tutor:

ACUI. MENDOZA LOMBANA SONNYA PATRICIA., Ph.D.

LIBERTAD – ECUADOR

2025

UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE PROBIÓTICOS
ACTIVADOS Y SU UTILIZACIÓN EN EL CULTIVO DE LARVAS
DE *Penaeus vannamei* EN EL LABORATORIO AQUAGEN S.A.,
PROVINCIA DE SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo

TUTOR:

ACUI. Mendoza Lombana Sonnya Patricia., Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, "Determinación de la eficacia de probióticos activados y su utilización en el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei* en el laboratorio Aquagen S.A., provincia de Santa Elena", elaborado por el señor Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo, 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 dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



ACUI. Mendoza Lombana Sonnya Patricia., Ph.D.

DOCENTE TUTOR

C.I. 0912802816

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “**Determinación de la eficacia de probióticos activados y su utilización en el cultivo de larvas de *Penaeus vannamei* en el laboratorio Aquagen S.A., provincia de Santa Elena**”, elaborado por el señor Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo, 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

A handwritten signature in blue ink, reading "Tomalá Solano Dennis", is written over a horizontal line.

Blga. Tomalá Solano Dennis., M.Sc.

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0922584982

DEDICATORIA

El presente trabajo, en primer lugar, lo dedico a Dios por darme la vida, la salud y la fortaleza necesarias para seguir adelante, y por permitirme alcanzar una de las metas más importantes en mi formación académica.

A mi familia, por acompañarme en cada etapa de este proceso académico, brindando su apoyo emocional y motivación constante, especialmente en los momentos de mayor exigencia. A la memoria de mi hermano, quien me enseñó con su ejemplo que, a pesar de las dificultades, siempre es posible continuar. Compartíamos el anhelo de estudiar esta carrera, y hoy sé que estaría orgulloso de ver este logro cumplido.

A mis amigos por su respaldo, su compañía sincera y por las palabras de aliento que me impulsaron a no desistir, y a todas aquellas personas que contribuyeron de manera significativa a la culminación de esta meta.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por mantenerme con salud y vida, ayudándome a cumplir mis metas propuestas.

Expreso con gratitud al Laboratorio Aquagen S.A., por abrirme sus puertas y brindarme el espacio, los recursos y el acompañamiento necesario para llevar a cabo este trabajo de investigación. Gracias al personal técnico y administrativo por su apoyo constante, por compartir su experiencia y por facilitar cada una de las etapas del proceso experimental.

A mi cotutora MBA. Miryan Rodríguez R, Mvz., quien con su experiencia y criterio contribuyó de manera importante al desarrollo de esta tesis.

Finalmente, extendo mi agradecimiento a todos los docentes de la universidad, quienes contribuyeron significativamente a mi formación académica a lo largo de toda la carrera. De manera especial, agradezco a la Máster en ciencias Mendoza Lombana Sonnya Patricia, tutora de este proyecto, por sus valiosas observaciones profesionales y científicas, las cuales me guiaron durante todo el proceso de investigación.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 08 de julio de 2025



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



Blga. Tomalá Solano Dennis., M.Sc.
**PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



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



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



Lic. Roca Silvestre Pasañal Alejandro, MSc.
SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo con cédula de identidad 2450180266 declaro bajo juramento que la responsabilidad por las ideas, contenido y análisis de los resultados expuestos en este trabajo de Integración Curricular me corresponden de manera exclusiva y el patrimonio intelectual del mismo lo comparto con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Maximiliano

Tomalá Suárez Maximiliano Eduardo
C.I. 2450180266

INDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PROBLEMÁTICA.....	2
3. JUSTIFICACIÓN	4
4. OBJETIVOS.....	6
4.1. Objetivo general:	6
4.2. Objetivos específicos:	6
5. HIPÓTESIS.....	7
CAPÍTULO II.....	8
6. MARCO TEÓRICO.....	8
6.1. La larvicultura de <i>Penaeus vannamei</i>	8
6.2. Fases críticas en el cultivo de larvas	9
6.4. Fisiología digestiva de larvas de camarón.....	11
6.5. Nutrición larval en fases tempranas.....	12
6.6. Factores de riesgo en mortalidad larval.....	13
6.7. Enfermedades frecuentes en larvicultura de camarón	15
6.8. Calidad bacteriológica del sistema de cultivo.....	16
6.9. El uso de probióticos en acuicultura.....	18
6.13. Cinética de crecimiento bacteriano	22
6.14. Métodos para la detección de vibrios	24
6.15. Microbiota intestinal de camarones.....	25
6.17. Requerimientos de calidad del agua.....	26
6.18. Impacto del <i>Vibrio</i> spp. en la larvicultura	27
6.19. Estrategias preventivas en Larvicultura	29
6.20. Parámetros físico – químicos del agua	30
6.20.1. Temperatura	30
6.20.2. Salinidad	31
6.20.3. pH.....	31
6.20.4. Alcalinidad.....	32
7. METODOLOGÍA	33
7.1. Tipo de estudio.....	33

7.2. Área de estudio	33
7.3. Diseño experimental.....	34
7.3.1. Preparación y aplicación de la cinética bacteriana.....	38
7.3.2. Implementación y preparación de medios de cultivo.....	41
7.3.2.1. Preparación de Chromagar bacillus.....	41
7.3.2.2. Preparación de TCBS	42
7.3.2.3. Preparación de MRS.....	43
7.3.2.4. Preparación de Chromagar Vibrios	43
7.3.3. Método de conteo de colonia	44
7.3.3.1. Conteo de colonias	44
7.3.3.2. Recuento de colonias en distintos tipos de agar	44
7.3.4. Indicadores de salud en correlación con la eficacia del probiótico.....	47
7.3.5. Diagnóstico de agentes patógenos	48
7.3.5.1. Monitoreo microscópico de la salud larvaria	48
7.3.6. Análisis para calidad de agua.....	49
7.3.6.1. Instrucciones generales para análisis con reactivos API..	49
7.3.7. Evaluación económica de los probióticos.....	50
7.3.8. Análisis estadístico	51
CAPÍTULO IV	52
8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	52
8.1.1. Determinación de la cinética bacteriana de los probióticos	52
8.1.2. Salud Larvaria	55
8.2. Análisis de calidad de agua.....	60
8.3. Diagnostico bacteriano.....	64
8.4. Costos de producción	88
8.5. Supervivencia.....	93
9. DISCUSIÓN	96
10. CONCLUSIONES.....	101
11. RECOMENDACIONES	103
12. BIBLIOGRAFÍA	104
ANEXOS	114

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Anatomía de camarones peneidos	12
Figura 2 Crecimiento bacteriano	23
Figura 3 Ubicación de la empresa AQUAGEN S.	34
Figura 4 Descripción gráfica del diseño experimental.	36
Figura 5 Descripción gráfica de diluciones seriadas.	46
Figura 6 Cinética individual obtenida en las siembras microbiológicas de los probióticos P1 a P6 en el agar Chromagar Bacillus	53
Figura 7 Cinética individual obtenida en las siembras microbiológicas de los probióticos P1 a P6 en el agar MRS.	54
Figura 8 Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 1.	56
Figura 9 Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 2.	57
Figura 10 Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 3	58
Figura 11 Valoración patológica de la salud larvaria. Control	59
Figura 12 Valoración patológica de la salud larvaria. Tratamiento 1	59
Figura 13 Valoración patológica de la salud larvaria. Tratamiento 2	60

Figura 14 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Nauplio 5.	65
Figura 15 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Zoea 2.	66
Figura 16 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Zoea 3.	67
Figura 17 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Mysis 2.	68
Figura 18 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Mysis 3.	69
Figura 19 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio PL2.	70
Figura 20 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio PL6.	71
Figura 21 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio PL10.	72
Figura 22 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Nauplio 5.	73
Figura 23 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Zoea 2.	74
Figura 24 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Zoea 3.	75

Figura 25 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Mysis 2.	76
Figura 26 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Mysis 3.	77
Figura 27 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 2.	78
Figura 28 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 6.	79
Figura 29 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 6.	80
Figura 30 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Nauplio 5.	81
Figura 31 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Zoea 2.	82
Figura 32 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Zoea 3.	83
Figura 33 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Mysis 2.	84
Figura 34 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Mysis 3.	85
Figura 35 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Post Larva 2.	86

Figura 36 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Post

Larva 6 87

Figura 37 Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 3 del estadio Post

Larva 10 88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen bibliográfico sobre los diferentes estadios larvarios del camarón.....	10
Tabla 2 Composición bacteriana de los diferentes probióticos y los estadios larvarios empleados	40
Tabla 3. Valores promedios de cada parámetro registrado durante cada ciclo entre todos los estadios.	63
Tabla 4. Valor en dólares y presentación en el mercado de los reactivos usados	89
Tabla 5 Dosificación de probióticos empleada por estadio en el tratamiento 1... 	90
Tabla 6 Costos estimados por reactivos en tratamiento 1.	90
Tabla 7 Dosificación de probióticos empleada por estadio en el tratamiento 2... 	91
Tabla 8. Costos estimados por reactivos en tratamiento 2.	92

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Siembra de Nauplios.....	114
Anexo 2. Preparación de los probióticos.....	115
Anexo 3. Preparación de los medios de cultivos.....	116
Anexo 4 Toma de pH en los tanques experimentales y control.....	117
Anexo 5 Análisis de calidad de agua por reactivos API.....	118
Anexo 6 Conteo de colonias en el contador digital.....	119
Anexo 7. Siembra den superficie de las muestras para su respectivo análisis.....	120
Anexo 8 Aplicación de diluciones seriadas.....	121
Anexo 9 Cosecha de tanques experimentales y control	122
Anexo 10 Revisión al microscopio	123
Anexo 11 Incubación del fermento	124
Anexo 12. Análisis Estadístico de normalidad y homocedasticidad de cada estación realizado con el programa Minitab 19.0	125
Anexo 13. ANOVA de 1 vía y test a posteriori de Tukey realizado con el programa MINITAB 19.0.	126
Anexo 14 Preparación de Probiótico Activado	127
Anexo 15 Preparación - Relación melaza, agua destilada y probiótico	128
Anexo 16 Tratamiento 1 en tanques de producción.....	130

Anexo 17 Tratamiento 2 en tanques de producción.....	130
Anexo 18 Tratamientos y los probióticos propuestos.....	131
Anexo 19. Criterio para el control de calidad de larvas.	132

GLOSARIO

Agar CHROMagar Bacillus™: Medio cromogénico diferencial diseñado para la identificación de bacterias del género *Bacillus*.

Agar MRS (Man, Rogosa and Sharpe): Medio específico para el cultivo de bacterias lácticas, especialmente *Lactobacillus*.

Agar TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose): Medio de cultivo selectivo utilizado para aislar bacterias del género *Vibrio*.

Agar TSA: Medio utilizado para propósitos generales, favorece el desarrollo y aislamiento de una gran variedad de microorganismos.

ANOVA: Es el análisis de la varianza es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados, en el cual la varianza está particionada en ciertos componentes debidos a diferentes variables explicativas.

Cinética bacteriana: Estudio del crecimiento y comportamiento de poblaciones bacterianas a lo largo del tiempo bajo ciertas condiciones.

Larvicultura: Rama de la acuicultura enfocada en la producción y desarrollo de larvas de organismos acuáticos.

Probióticos activados: Microorganismos benéficos que han sido previamente estimulados con un sustrato antes de ser aplicados al sistema acuático.

UFC/ml (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro): Medida utilizada para cuantificar bacterias viables presentes en una muestra líquida.

ABREVIATURAS

UFC Unidades Formadoras de Colonias

CO₂ Dióxido de Carbono

pH Potencial de Hidrógeno

O₂ Oxígeno

PPM Partes por millón

NO₃ Nitrato

NH₄ Amonio

°C Grados Celsius

cl/ml Células por mililitro

P. vannamei Penaeus

NH₃ Amoniaco

NaCl Cloruro de Sodio

G Gramos

Mg Magnesio

P1-6 Probióticos

Sp Especie

TCBS Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sacarosa

RESUMEN

La producción larvaria de *Penaeus vannamei* presenta limitaciones por enfermedades bacterianas, desequilibrios microbiológicos y altos costos asociados al manejo químico. Ante este escenario, los probióticos activados representan una alternativa biotecnológica con potencial, aunque su eficacia aún no ha sido totalmente validada. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de probióticos activados sobre la cinética bacteriana, la salud larvaria y los costos productivos. Se aplicaron seis cepas bajo dos tratamientos (activados y no activados) en condiciones controladas, utilizando medios selectivos (CHROMagar Bacillus y MRS) y análisis fisicoquímicos del agua. Los resultados demostraron que los probióticos activados alcanzaron mayores valores entre las 12 y 48 horas, destacando 360 UFC/ml (P3) y 294 UFC/ml (P5). La salud larvaria mejoró notablemente, con supervivencia de hasta el 90%, reducción de necrosis tisular y mayor presencia de lípidos hepatopancreáticos. Asimismo, el tratamiento con probióticos activados redujo el amonio de 1,44 a 0,94 mg/L y el NH_3 de 0,12 a 0,08 mg/L. En cuanto al aspecto económico, el consumo de probiótico disminuyó de 9463,5 ppm a 219,375 ppm, reflejando una reducción superior al 75% en costos. Estos hallazgos confirman que la activación previa de probióticos mejora su comportamiento microbiológico, favorece condiciones sanitarias óptimas y representa una estrategia sostenible y rentable para la larvicultura intensiva. La implementación de protocolos de activación podría transformar las prácticas actuales, mejorando la eficiencia y reduciendo el impacto ambiental en sistemas de cultivo larvario.

Palabras clave: Probióticos activados, costos de producción, cinética bacteriana, supervivencia larval, calidad del agua.

ABSTRACT

Larval production of *Penaeus vannamei* faces limitations due to bacterial diseases, microbiological imbalances, and high costs associated with chemical management. In this context, activated probiotics represent a promising biotechnological alternative, although their effectiveness has not been fully validated. This study aimed to evaluate the effect of activated probiotics on bacterial kinetics, larval health, and production costs. Six strains were applied under two treatments (activated and non-activated) in controlled conditions, using selective media (CHROMagar Bacillus and MRS) and water quality analyses. Results showed that activated probiotics reached higher values between 12 and 48 hours, with peaks of 360 CFU/ml (P3) and 294 CFU/ml (P5). Larval health improved notably, achieving survival rates up to 90%, reduced tissue necrosis, and increased hepatopancreatic lipid accumulation. Additionally, activated probiotic treatment reduced ammonia levels from 1.44 to 0.94 mg/L and NH_3 from 0.12 to 0.08 mg/L. In terms of economic impact, probiotic consumption dropped from 9463.5 ppm to 219.375 ppm, reflecting a cost reduction of over 75%. These findings confirm that prior activation enhances probiotic microbiological performance, promotes optimal sanitary conditions, and represents a sustainable and cost-effective strategy for intensive larviculture. The implementation of standardized activation protocols could transform current practices by improving efficiency and reducing environmental impact in larval rearing systems.

Keywords: Activated probiotics, Production costs, bacterial kinetics, larval survival, water quality.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es uno de los sectores alimentarios de más rápido crecimiento a nivel mundial, y se ha consolidado como un recurso de alto valor proteico para satisfacer la demanda en aumento, debido a la sobreexplotación de recursos naturales (FAO, 2024). Actualmente el mayor problema que enfrenta la industria acuícola son las enfermedades causadas por diversos agentes biológicos, entre estos grupos de microorganismos se encuentran las bacterias; se han reportado enfermedades bacterianas principalmente de *Vibrio*, cuyos brotes pueden ocurrir por diversos factores desencadenando una rápida concentración de bacterias patógenas (RAO, 2024).

Los probióticos son bacterias muy utilizadas en acuicultura, ya sea como complemento alimenticio o como adición de agua (Jahangiri, 2018); estudios previos han demostrado que varias cepas de probióticos exhiben efectos beneficiosos en el crecimiento, la tasa de supervivencia, respuesta inmune, salud del sistema digestivo, actividades de enzimas metabólicas, capacidad anti microbiana y salud intestinal de los camarones, así también como la calidad de agua del cultivo (Lee et al., 2021).

Además, la aplicación de probióticos con diferentes cepas bacterianas tales como bacterias ácido-lácticas (*Bacillus subtilis*, *Streptomyces*) y levaduras, han demostrado su eficacia inhibitoria bacteriana y control en la calidad de agua mediante la descomposición de materiales orgánicos, siendo las bacterias heterótrofas quiénes eliminan los compuestos nitrogenados mediante la desnitrificación heterótrofa que transforma el nitrógeno amoniacal total (TAN) en biomasa microbiana beneficiosa (Abakari et al., 2021).

En el área de la acuicultura, la administración directa o acompañada de probióticos en la dieta han demostrado impactos positivos sobre la salud del camarón, incluyendo un mayor crecimiento, mayor inmunoestimulación, una mejor microbiota intestinal y mejores parámetros de calidad de agua (Campa et al., 2020) sin embargo, se necesita varios estudios para optimizar las eficiencias de las técnicas de alimentación mediante la incorporación de probióticos en los piensos comerciales para combatir enfermedades del camarón.

El presente estudio busca evaluar la utilización de seis probióticos en tanques de producción larvaria de *P. vannamei* para determinar su eficiencia, eficacia y el ahorro en los costos de la producción.

2. PROBLEMÁTICA

La producción de larvas de *P. vannamei* enfrenta muchos desafíos con recurrencia sobre todo relacionados a la mortalidad y el crecimiento. Así mismo, existen diversidad de factores como: el desequilibrio microbiológico en los tanques de cultivo y las condiciones adversas. Es debido aquello que, la industria acuícola usa a los probióticos como una alternativa sustentable y efectiva para mejorar estos aspectos, aunque la eficacia de los mismos se condiciona a su activación previa y el uso adecuada de su aplicación.

Las enfermedades causadas por las bacterias generalmente del género *Vibrio* sp., son los promotores de pérdidas económicas en el sector acuícola, provocando grandes problemas de salud en todo el ciclo de vida del camarón. Entre las especies del género *vibrio* consideramos a los *parahaemolyticus*, *harveyi*, y *vulnificus*, y mismos que inician procesos infecciosos en el desarrollo fisiológico de la especie durante su ciclo de vida.

El manejo adecuado del agua, así como la prevención de enfermedades de origen bacteriano representan retos importantes para la cría de larvas de camarón. No obstante, aunque se emplean probióticos como alternativas naturales en el control

biológico, la misma se ha vuelto inconsistente por la ausencia de normativas y protocolos específicos de acuerdo su uso, dosis o frecuencia, poniendo en riesgo la estabilidad de los cultivos.

Por otra parte, la inadecuada selección de cepas probióticas resulta insuficiente para inhibir patógenos específicos, afectando el desarrollo de la larva y ocasionando mortalidades a gran escala. Los desequilibrios mencionados junto a la acumulación de diversos compuestos de origen nitrogenado tóxicos como el amoníaco provocan estrés crónico para las larvas en todos sus estadios y desarrollo general.

A pesar del potencial de los probióticos para incrementar la supervivencia larvaria y reducir los costos de producción, persiste una limitada base científica que respalde su eficacia en términos de cinética bacteriana, el impacto en la salud larval y rentabilidad al emplear métodos de activación convencionales. La falta de estándares claros en su aplicación limita la adopción de estas estrategias, por ello, se hace necesario evaluar de forma sistemática la eficacia de probióticos activados en los sistemas de cultivo larvario de *Penaeus vannamei*, identificando su impacto en la dinámica bacteriana, los indicadores de salud larvaria y los costos asociados a su uso. Contribuyendo a mejorar la sostenibilidad y rentabilidad de la producción y prácticas acuícolas.

3. JUSTIFICACIÓN

La industria del cultivo de camarón de la especie *Penaeus vannamei* ocupa un lugar preponderante en la acuicultura mundial debido a su alta demanda en el mercado y su potencial para generar ingresos económicos significativos. No obstante, el éxito en la producción de larvas sigue limitado por factores recurrentes como la alta incidencia de enfermedades, el desequilibrio en el microbiota de los sistemas de cultivo y los elevados costos asociados con tratamientos tradicionales y el manejo ambiental (Pérez et al., 2021).

Frente a esta problemática, los probióticos han emergido como una alternativa biotecnológica prometedora, capaz de mejorar la salud de los cultivos acuáticos, estabilizar el equilibrio microbiológico, incrementar la supervivencia larval y reducir la dependencia de productos químicos. Sin embargo, existe un vacío científico evidente respecto a la eficacia real de los probióticos cuando no han sido activados previamente, así como sobre la cinética bacteriana que estos presentan bajo condiciones controladas de cultivo. La literatura actual no ofrece suficiente evidencia sistemática sobre cómo la activación previa puede influir en su rendimiento, ni sobre su efecto directo en indicadores fisiológicos clave de las larvas.

Por ello, esta investigación se plantea como una contribución científica pertinente y necesaria, ya que busca evaluar la eficacia de probióticos activados en función de su dinámica bacteriana, su impacto sobre la salud larvaria y los beneficios económicos que conlleva su aplicación. Al generar nuevos datos experimentales y contrastables, el estudio pretende cerrar brechas de conocimiento fundamentales que actualmente limitan la adopción masiva y eficiente de estos insumos en la larvicultura.

Finalmente, el uso de probióticos activados no solo representa una solución técnica, sino también una estrategia sostenible, al reducir el uso de antibióticos y minimizar los impactos negativos sobre el medio ambiente. En consecuencia, esta investigación no solo busca resolver desafíos técnicos y económicos, sino también fomentar prácticas acuícolas responsables y sostenibles en concordancia con los principios de la biotecnología ambiental moderna.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general:

Determinar la eficacia de los probióticos utilizados en los tanques de producción larvaria, mediante su aplicación directa y activada por métodos convencionales, correlacionando su efecto con la rentabilidad productiva.

4.2. Objetivos específicos:

- Caracterizar la cinética bacteriana de los probióticos comerciales utilizados en larvicultura, incluyendo la determinación de la presencia de colonias bacterianas activas y su dinamismo en el entorno larvario de *Penaeus vannamei*.
- Determinar los indicadores de salud del cultivo de las larvas mediante técnicas de microscopía ocular, evaluando la tasa de supervivencia para establecer la relación con la eficacia de los probióticos aplicados en los tanques de la empresa Aquagen.
- Cuantificar el ahorro en los costos de producción generado por la utilización de probióticos activados mediante métodos convencionales, para la comparación del uso estándar.

5. HIPÓTESIS

H0: La aplicación de probióticos activados convencionalmente actúan en la eficiencia del control de calidad de agua y control biológico que se evidencian en la sobrevivencia obtenida.

CAPÍTULO II

6. MARCO TEÓRICO

6.1. La larvicultura de *Penaeus vannamei*

La acuicultura se puede definir como la cría de organismos acuáticos cultivables en aguas de las zonas costeras y del interior donde se aplican técnicas en el proceso de cría para aumentar la cantidad o el rendimiento de especies, siendo el único sector con mayor dinamismo en la producción de alimentos (Jar, 2018).

La larvicultura de *P. vannamei* trabaja con parámetros de calidad y supervivencia tan específicos que de esa manera define el éxito del cultivo en todas sus fases. Durante todo esto, los nauplios se condicionan a ambientes controlados de temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, etc. La larvicultura actual no busca solamente maximizar la supervivencia, sino también asegurar un óptimo desarrollo fisiológico, reduciendo la incidencia de enfermedades y fortaleciendo la respuesta inmune de las larvas mediante el manejo adecuado de la nutrición y la calidad del agua (Crespi, 2009).

6.2. Fases críticas en el cultivo de larvas

Penaeus vannamei presenta los siguientes estadios larvarios: nauplio, zoea, mysis y postlarva, donde cada uno necesita requisitos especiales y específicos para que pueda sobrevivir. Cada etapa de cambio entre ellas, representa un momento de vulnerabilidad, en el caso de cambios ambientales o escasez de alimentos, puede causar que existan altas tasas de mortalidad o afectaciones posteriores (Boschi et al., 2010).

6.3. Estadios larvales

En el ciclo de vida del camarón consta de varias fases, iniciando desde la fecundación de los huevos, misma que se lleva a cabo de manera externa desarrollándose por medio de metamorfosis para llegar a su fase adulta (Loza, 2023).

Los estadios son: Nauplios, Zoea, Misis y Postlarvas descritas en la siguiente tabla:

Tabla 1.

Resumen bibliográfico sobre los diferentes estadios larvarios del camarón.

ESTADIO	DESCRIPCIÓN
NAUPLIO	Su proceso de eclosión se realiza después de 10-14 horas tras la fecundación, dando lugar a 5 subestadios (nauplio I, II, II, IV, V). Se caracterizan por tener forma piriforme con tamaño pequeño (0,5mm long, 0,2mm ancho)
ZOEA	Segunda etapa denominada protozoea, la cual consta de 3 subestadios: Zoea I, II, III; se caracteriza por presentar cambios morfológicos en los maxilípedos, cuerpo más alargado, lo cual ayuda a la movilidad del organismo para la natación.
MYSIS	Última etapa larval del ciclo del camarón. Consta de 3 estadios donde sus antenas se reducen, el cuerpo toma una curvatura ligera en la parte abdominal, se desarrollan los periópodos y los maxilípedos refuerzan el nado.
POSTLARVAS	Etapas con apariencia juvenil. <i>L. vannamei</i> se distingue porque sus rasgos morfológicos constan del rostro corto y ancho con 3 a 4 espinas dorsales de 5mm con bordes lisos y 5 a 6 dientes de 10mm; junto con la fórmula rostral (2-4) /0 en tallas de 10 mm y (5-6) /1 en tallas mayores (León, 2012). En esta etapa se convierte en consumidor de detritos bentónicos con comportamiento omnívoro lograda gracias a la acción de los periópodo.

Nota: Descripción de las diferencias morfológicas en los estadios larvarios. Bores, Andrade, Cadena y Civera, 2023.

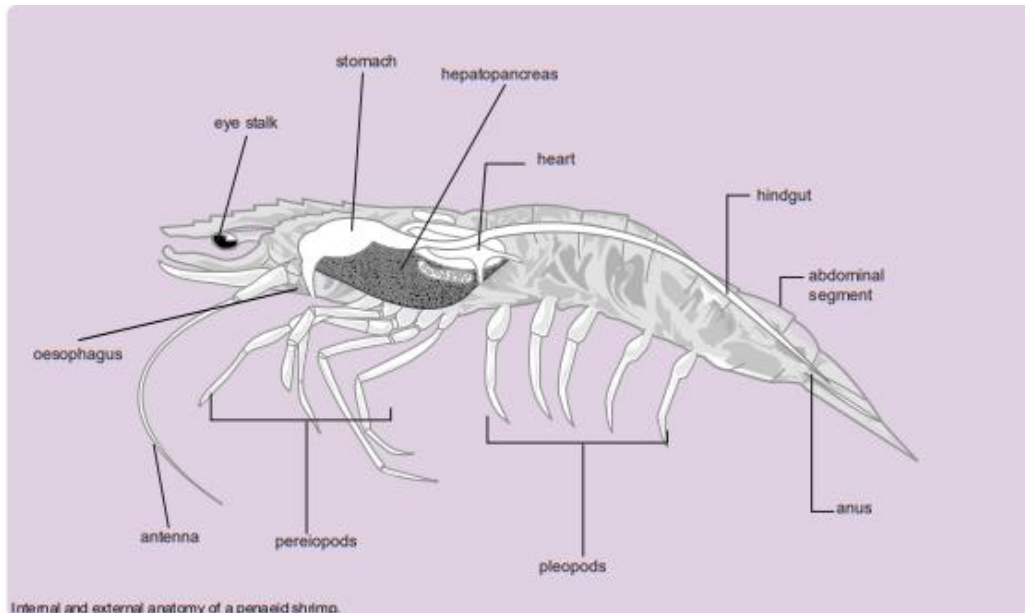
6.4. Fisiología digestiva de larvas de camarón

El sistema digestivo de las larvas de *Penaeus vannamei* está diseñado para maximizar la absorción de nutrientes esenciales en sus primeras etapas de vida. En términos generales, el tracto digestivo de camarones se encuentra compuesto por: 1) intestino proximal (masticación y se localiza el estómago); 2) el intestino medio o hepatopáncreas (secreta enzimas de digestión y absorción de nutrientes, así como ayudar al metabolismo de hidratos de carbono y lípidos); y 3) el intestino distal (estructura en forma de tubo desde parte dorsal hasta el ano) (Figura 1) (Reantaso et al., 2001).

En fases tempranas, la digestión es principalmente extracelular y se basa en la acción de enzimas como proteasas, amilasas y lipasas. A medida que las larvas avanzan en su desarrollo, el sistema digestivo se especializa, aumentando la eficiencia en la asimilación de macronutrientes críticos para su crecimiento, sin embargo, en la etapa postlarval los camarones peneidos son más susceptibles a enfermedades bacterianas, debido al microbioma bajo de sus intestinos, que se incrementa desde las etapas juveniles hasta llegar a las adultas (Garibay et al., 2020).

Figura 1

Anatomía de camarones penéidos



Nota: Estructura fisiológica y morfológica interna del camarón *P. Vannamei*. Reantaso et al., 2001

6.5. Nutrición larval en fases tempranas

La alimentación temprana de las larvas de camarón es clave para el desarrollo exitoso, usando artemias, rotíferos o especies de microalgas, así como dietas especiales y formuladas que aportan lo necesario para su óptimo desarrollo.

Las algas en la alimentación de los camarones representan proteínas altamente digestibles, que contienen azúcares, ácidos grasos poliinsaturados (DHA y EPA), vitaminas, antioxidantes y minerales, resultando esencial para apoyar el rápido crecimiento larvario y el desarrollo de un sistema inmune competente (Acuña, 2015), ya que si falta nutrientes esenciales puede afectar negativamente al rendimiento final del cultivo acuícola.

6.6. Factores de riesgo en mortalidad larval

Bassler (2022) afirma que "la mortalidad larval en el cultivo de camarones es un fenómeno multifactorial como factor en la degradación de la calidad del agua, la sobrepoblación, la nutrición inadecuada y la poca bioseguridad surgen como factores de riesgo".

Una mala calidad del agua puede producir en las larvas estrés fisiológico, lo que debilita el sistema inmune y las hace susceptibles a enfermedades. Además, si existe sobrepoblación se promueve la competencia de los recursos y aparecen patógenos, debilitando el sistema inmune de las larvas.

Por ello es importante comprender estos riesgos para explotar el potencial de los probióticos activados, ya que resultarían beneficiosos, sobre todo al mejorar la digestión, la asimilación de nutrientes, la modulación del sistema inmune y la activación de respuestas inmunes innatas (Akhter et al., 2015) pueden mitigar los efectos de una mala nutrición.

Al fortalecer la microflora, la predigestión de factores anti nutricionales que se encuentran en los alimentos y la estimulación del sistema inmunológico larval (Amoah et al., 2019), podrían aumentar la resistencia a los patógenos que proliferan en condiciones de estrés o calidad del agua subóptima. Además, un microbioma larval saludable promovido por probióticos podría contribuir a una mayor estabilidad del ambiente del cultivo, indirectamente mejorando la calidad del agua."

Por consiguiente, al realizar prácticas para evaluar la eficacia de los probióticos activados en el cultivo de larvas, es crucial considerar y, en la medida de lo posible, controlar estos factores de riesgo.

6.7. Enfermedades frecuentes en larvicultura de camarón

La aparición de enfermedades infecciosas como las producidas por bacterias, hongos y virus en la larvicultura, constituye un factor limitante para la obtención de tasas de supervivencias altas (Rao, 2024). El rápido desarrollo de estas enfermedades infecciosas se debe principalmente a la inmadurez del sistema inmune larval, lo que las hace particularmente susceptibles a los efectos.

La presencia constante de estas enfermedades infecciosas en los sistemas de larvicultura de *L. vannamei* resalta la importancia de implementar estrategias de manejo que no solo se enfoquen en el tratamiento, sino también en la prevención y el fortalecimiento de la resistencia larval. Las más comunes son causadas por virus, bacterias y hongos. Entre las enfermedades virales más importantes se encuentran el síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), la enfermedad aguda por necrosis hepatopancreática (AHPND) y el síndrome de bolitas (LBS). Las enfermedades bacterianas incluyen la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND) y la Hepatopancreatitis Necrotizante (NHP) (Toledo et al., 2018).

Los probióticos, microorganismos vivos, confieren beneficios para la salud del cultivo de camarón, cuando se administran en cantidades adecuadas, han demostrado

tener el potencial de modular el microbiota intestinal de las larvas y estimular su respuesta inmune, ofreciendo una vía para aumentar la resistencia contra patógenos (Toledo et al., 2018).

Por consiguiente, es fundamental que la presente investigación, demuestre la eficacia de los probióticos activados en el cultivo de larvas de camarón, debido a que logran reducir la incidencia o severidad de infecciones bacteriológicas, así como la mejora de su supervivencia en presencia de los mismos.

6.8. Calidad bacteriológica del sistema de cultivo

La presencia de una microbiota equilibrada en el cultivo propicia un entorno estable, reduce el riesgo de crecimiento del microorganismo patogénico y optimiza las condiciones para el desarrollo de larvas (Gómez-Gil et al., 2000).

Este desequilibrio de la microbiota, comúnmente caracterizada por un aumento excesivo en las bacterias distróficas patógenas, puede alterar los ecosistemas acuáticos y generar procesos de cambios acelerados en la materia orgánica y la producción de

vínculos tóxicos como el amoníaco y las generaciones. Los nitritos afectan la fisiología de las larvas y degradan la calidad del agua.

Además, una sobrecarga bacteriana intensifica la competencia por recursos esenciales como el oxígeno disuelto, generando ambientes hipóxicos que comprometen las funciones fisiológicas de las larvas. El incremento en la actividad bacteriana también conduce a la producción excesiva de metabolitos tóxicos, entre ellos el amoníaco, los nitritos y otros compuestos nitrogenados, los cuales, incluso a bajas concentraciones, pueden inducir estrés, debilitar el sistema inmunológico de las larvas y afectar su metabolismo (Martin, 2025).

La acumulación de amoníaco, aun en concentraciones moderadas, puede provocar estrés, inhibición del crecimiento, la expresión de la quitinasa, la muda, la inmunosupresión, la actividad antimicrobiana de la hemolinfa, lo que atenúa la respuesta inmunitaria del camarón, provocando mortalidades incluso en las etapas tempranas de desarrollo de *P. vannamei* (Yao et al., 2020). De esta manera, el control microbiológico en los sistemas larvarios no solo tiene un impacto en la sanidad, sino también en la eficiencia de producción y en la rentabilidad económica de los cultivos.

6.9. El uso de probióticos en acuicultura

Los probióticos en los sistemas de cultivo larvario ha logrado transformar las prácticas tradicionales, debido a que estos microorganismos cuando son activados ofrecen beneficios infinitos y significativos para la salud de las larvas, ayudando a fortalecer su sistema inmune (Akhter et al., 2015). Su acción se basa en el establecimiento de una microbiota benéfica que limita el crecimiento de bacterias patógenas, contribuyendo así a la prevención de enfermedades y a la reducción de la mortalidad larvaria (Wee et al., 2024).

Así mismo, su uso, no solamente favorece al equilibrio microbiano interno y externo de la larva, sino que también participa de manera activa a la degradación de compuestos tóxicos, mejorando la calidad del agua (Pérez et al., 2021). Además, al promover una competencia ecológica contra microorganismos perjudiciales, los probióticos ayudan a disminuir la necesidad del uso de antimicrobianos tradicionales. Esta estrategia no solo fortalece la sanidad de los cultivos, sino que también impulsa el desarrollo de prácticas acuícolas más sostenibles y responsables con el medio ambiente.

6.10. Principales géneros probióticos

Diversos géneros bacterianos han sido identificados como probióticos efectivos en acuicultura debido a su capacidad para promover la salud larval, fortalecer la resistencia frente a patógenos y mantener la calidad del agua de cultivo (Pérez et al., 2021). Gracias a estas características, su uso se ha consolidado como una estrategia clave para mejorar el rendimiento de los cultivos larvarios.

Entre los géneros más utilizados destaca *Lactobacillus*, conocido por su producción de ácido láctico, acético, butírico, propiónico y valérico. Sustancias inhibitoras similares a bacteriocinas con actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (*Vibrio spp.* y *Pseudomonas aeruginosa*) (Kaktcham et al., 2017), los cuales crean un ambiente que inhibe el crecimiento de patógenos y mejora la digestibilidad de los alimentos, favoreciendo además el sistema inmunológico de las larvas.

Asimismo, el género *Bacillus*, en los últimos años se ha convertido en un probiótico usado en productos de origen animal y en la acuicultura, debido a su potencial antimicrobiano por su diversidad de metabolitos que produce (Pérez et al., 2021). Dicho género es utilizado como probiótico ya que ayuda a la inhibición del crecimiento por competencia en sitios de adhesión, de genes de virulencia (quorum sensing), producción de enzimas líticas (proteasas, quitinasas), así como la activación

de genes moduladores de la inmunidad humoral, que al aumentar su actividad en el huésped pueden incrementar la respuesta inmune (Kuebutornye et al., 2019).

Otros géneros relevantes son *Streptomyces sp*, es de interés biotecnológico dado que es capaz de sintetizar metabolitos secundarios antimicrobianos, antiparasitaria, sideróforos y exoenzimas, entre otros, que suprimen patógenos acuáticos como. *Vibrio spp*, *Aeromonas hydrophila* y *Aeromonas sobria* (Tan et al., 2016).

También, el género *Pediococcus* ha surgido como una alternativa prometedora en acuicultura larval gracias a su capacidad para producir bacteriocinas, compuestos antimicrobianos que inhiben el desarrollo de patógenos (Maibunkaew et al., 2013).

En conjunto, la integración de estos géneros bacterianos en los cultivos larvarios se plantea como una estrategia sostenible que ayuda a potenciar la productividad y sanidad de los cultivos de *Penaeus vannamei*.

6.11. Mecanismos de comunicación bacteriana

Las bacterias no actúan de manera aislada, sino que se comunican entre sí mediante señales químicas en un proceso conocido como "*quorum sensing*". Este

comportamiento solo ocurre cuando existen altas densidades de población celular y a través de este mecanismo, las bacterias coordinan comportamientos colectivos como la formación de biopelículas, la producción de toxinas y la resistencia a antibióticos (Bassler, 2002).

En la acuicultura larval, controlar el quorum sensing representa una estrategia innovadora para reducir la virulencia de patógenos sin necesidad de eliminarlos completamente, disminuyendo así la presión de selección hacia resistencias. Además, algunos probióticos han demostrado capacidad para interferir con la comunicación bacteriana de patógenos, contribuyendo a su control.

6.12. Mecanismos de acción de los probióticos

Los probióticos tienen 2 mecanismos de acción fundamentales, los cuales son: 1) Síntesis de las moléculas antimicrobianas llamadas bacteriocinas, 2) Exclusión competitiva, esta puede darse de dos formas; inhibiendo la adhesión a las células epiteliales intestinales (CEIs) de bacterias potencialmente patógenas o bloqueando la unión de toxinas (Romero et al., 2018).

Los probióticos tienen influencia en el ecosistema intestinal, afectando los mecanismos inmunológicos de la membrana mucosa, interactuando con los microorganismos potencialmente patogénicos, creando productos metabólicos como ácidos grasos de cadena corta y comunicándose mediante señales químicas con las células del huésped, lo que puede causar antagonismo en patógenos potenciales (Guarner et al., 2017).

Los probióticos están involucrados en la prevención y el tratamiento de enfermedades infecciosas digestivas agudas, enfermedades intestinales y hepáticas, actúa sobre una función inmune de huéspedes y homeostasis intestinal, modulando el microbiota intestinal (Castañeda, 2018).

6.13. Cinética de crecimiento bacteriano

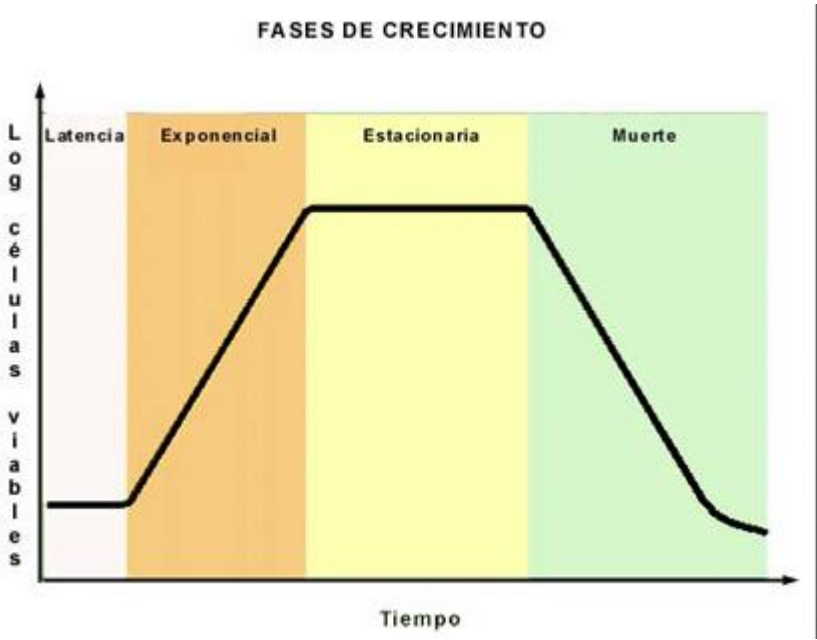
La cinética de crecimiento bacteriano se divide en las siguientes fases: latencia, exponencial, estacionaria y muerte (Fernández et al., 2024).

Durante la fase exponencial, las bacterias se multiplican a su máxima velocidad, incrementando rápidamente su número. En esta etapa, es crucial mantener condiciones

ambientales que favorezcan a bacterias beneficiosas y limiten la proliferación de patógenos, resultando importante el monitoreo constante de diversos parámetros del agua como: amonio, oxígeno disuelto, etc., ya que de esa forma se logra determinar las poblaciones larvales (CSA, 2021) (Figura 2).

Figura 2

Crecimiento bacteriano



Nota: En la imagen se observa la típica curva crecimiento de un organismo unicelular o microbiano en laboratorio, dónde comparten una serie común de fases. Combase, 2020.

6.14. Métodos para la detección de vibrios

La detección de *Vibrio* spp. en larvicultura de camarón es fundamental debido a su alta patogenicidad. Los métodos tradicionales incluyen cultivos en medios selectivos como TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose agar), agar TSA (Agar Trypticase soya) o agar de sangre (Ortega, 2024; Thompson y Swings, 2004). Además, se utilizan diversas técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificar especies específicas de *Vibrio*, aumentando la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

El monitoreo regular de vibrios en el agua de cultivo y en las larvas permite tomar acciones correctivas de manera oportuna, como la aplicación de probióticos o ajustes en la calidad del agua. La implementación de estrategias preventivas basadas en la detección temprana es considerada esencial para mejorar las tasas de supervivencia larval y garantizar el éxito del cultivo.

6.15. Microbiota intestinal de camarones

El microbiota intestinal cumple procesos digestivos importantes ayudando a la salud intestinal de los camarones, debido a su aporte nutricional y a la producción de enzimas lo que facilita la digestión de los alimentos y actúa como una barrera protectora frente a microorganismos patógenos (Garibay et al., 2020). Del mismo modo, la colonización de bacterias benéficas proporcionando un equilibrio en el tracto digestivo dando protección a la mucosa para prevenir la colonización de patógenas, así como activar el sistema inmune, lo que es crucial para mantener la homeostasis intestinal, resultando en una mayor resistencia a enfermedades, lo que a su vez influye en el bienestar general del organismo (Villaseñor, 2015).

Las alteraciones en el microbiota intestinal de las larvas llega a desencadenar procesos de infección severos, que afectan significativamente la supervivencia de las mismas y su crecimiento (Rungrassamee et al., 2016).

Resultando así que debe de resaltarse la importancia de mantener dicho microbiota saludable, así se optimiza y rinde la salud de los sistemas de cultivo de camarón.

6.16. Influencia del tratamiento probiótico en la composición del agua de cultivo

El tratamiento con probióticos no solo impacta el microbiota intestinal de las larvas, sino al del medio acuático. La incorporación de los mismos reduce la concentración de bacterias de carácter patógeno en el agua que compiten por espacio y nutrientes, así como producir compuestos antimicrobianos (Pérez et al., 2021; Verschuere et al., 2000).

La gestión activa de la calidad del agua mediante el uso de probióticos representa una herramienta sostenible y eficaz para mejorar los rendimientos en la larvicultura de *Penaeus vannamei*, disminuyendo la necesidad de tratamientos químicos o antibióticos.

6.17. Requerimientos de calidad del agua

La calidad del agua es fundamental para el éxito en larvicultura, misma que se ve reflejada por las buenas prácticas de manejo que se apliquen durante el proceso de cultivo, sin embargo, la calidad del agua puede verse afectada por el manejo

inapropiado en el tratamiento y la desinfección de materiales y tanques de recepción en cada ciclo de producción (Valle, 2020).

Para garantizar niveles óptimos en la calidad del agua, es necesario llevar el control de los parámetros como temperatura (28–30 °C), salinidad (28–32‰), oxígeno disuelto (>5 mg/L), pH (7.8–8.2) y concentración de amonio (<0.1 mg/L) monitoreados varias veces al día (FAO, 2020). Fluctuaciones bruscas o niveles inadecuados de estos factores provocan estrés, inmunosupresión y elevan la susceptibilidad a infecciones bacterianas, especialmente de *Vibrio spp.*

6.18. Impacto del *Vibrio spp.* en la larvicultura

Los vibrios representan un desafío significativo en la larvicultura de camarón dado que es una enfermedad bacteriana con importante relevancia debido a su capacidad para proliferar en ambientes marinos y desencadenar daños a una amplia gama de especies de camarones, causada por diferentes especies de *Vibrio* (Abdel – Latif et al., 2022). *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. vulnificus*, *V. anguillarum* y *V. splendidus*, considerados como patógenos oportunistas identificados en el tracto digestivo, branquias y cutícula de camarones

enfermos (Loza, 2023; Abdel – Latif et al., 2022), siendo recurrentes en los sistemas de cultivo.

La proliferación de estas bacterias se ve a menudo favorecida por condiciones de estrés ambiental y una calidad del agua deficiente, factores comunes en los sistemas intensivos de larvicultura. El estrés expone la salud de larvas y camarones al aumentar la capacidad de las infecciones por patógenos y otras enfermedades que afectarán el rendimiento productivo, provocando que aumente la mortalidad de los animales de cultivo (BRF, 2022).

La presencia de especies patógenas de *Vibrio* puede manifestarse a través de lesiones en el hepatopáncreas, músculo abdominal opaco y encalabramiento, además de presentar melanización cuticular y branquial, coloración rojiza acompañada de cromatóforos expandidos (Cuellar, 2013), no solo se traduce en un aumento considerable de las tasas de mortalidad larval, sino que también impacta negativamente en el crecimiento y la calidad general de las postlarvas producidas. Estas consecuencias directas sobre la supervivencia y la calidad comprometen seriamente la rentabilidad de los laboratorios de larvicultura.

Introducir probióticos activados como microorganismos beneficiosos en el medio de cultivo y en el tracto digestivo de las larvas, tienen el potencial de modular la comunidad bacteriana, promoviendo un equilibrio que dificulte el establecimiento y la proliferación de patógenos como *Vibrio spp.* Al mejorar la salud intestinal y fortalecer las defensas naturales de las larvas, los probióticos podrían contribuir a reducir la susceptibilidad a las infecciones bacterianas (Mandujano, 2014).

6.19. Estrategias preventivas en Larvicultura

La prevención constituye la herramienta más eficaz para minimizar la aparición de enfermedades y optimizar la productividad en la larvicultura de *Penaeus vannamei* para resultados exitosos en producción, entre estos la implicación de mantener condiciones óptimas de calidad de agua y adecuadas densidades de siembra controladas para una alimentación balanceada y de alta calidad (Pérez et al., 2010).

La aplicación de estrictos protocolos de seguridad es necesario y fundamental para prevenir la introducción de patógenos en los sistemas de cultivo. Dentro de estas medidas se incluye desinfectar equipos, personal, cuarentena de nuevos organismos y monitoreo diario de la calidad bacteriológica del agua.

De esta manera, las estrategias preventivas no solo mejoran el estado sanitario de las larvas, sino que también contribuyen a la sostenibilidad y eficiencia de la producción acuícola.

6.20. Parámetros físico – químicos del agua

El desarrollo y éxito de una producción de camarón blanco son los parámetros físico – químicos del agua, que, en valores óptimos, garantiza el correcto el crecimiento del organismo cultivado.

6.20.1. Temperatura

Factor abiótico más importante en el cultivo de camarones dado que influye en procesos fisiológicos de gran importancia en los primeros estadios larvales, las fluctuaciones tienen a ser perjudiciales y no toleradas por la especie, ocasionando atraso morfológico y estrés afectando su desarrollo (Valle, 2020). Los rangos para el cultivo del camarón blanco son 29°C siembra – 32, 34 para mantenerlos (Ortega, 2024).

6.20.2. Salinidad

Concentración total de iones disueltos, cuyas concentraciones en el agua de mar son: Sodio, 10,500 mg/L; Magnesio, 1,450 mg/L; Calcio, 400 mg/L; Potasio, 370 mg/L; Cloruro, 19,000 mg/L; Sulfato, 2,700 mg/L; Bicarbonato, 142 mg/L. La salinidad promedio del agua de mar es 34.5 partes por mil (ppm) (Valle, 2020).

6.20.3. pH

Potencial de Hidrógeno es un elemento importante para el desarrollo de los nauplios, siendo así que se debe mantener en rangos entre 7.5 a 7.7, un medio alcalino o ácido altera el proceso metabólico y fisiológico de las larvas (Valle, 2020).

6.20.4. Alcalinidad

Conocido como neutralizador de ácidos disueltos en el agua. Sus bases son los carbonatos y bicarbonatos. Los rangos deben ser superior a <100. Si la alcalinidad baja a 40 ppm afecta el proceso de muda del animal (Valle, 2020).

7. METODOLOGÍA

7.1. Tipo de estudio

El presente estudio se enmarcó dentro de una investigación de tipo experimental, con un enfoque metodológico cuantitativo, ya que se manipularon deliberadamente las condiciones de aplicación de probióticos (activados y no activados) en tanques de producción larvaria de *Penaeus vannamei*.

7.2. Área de estudio

El presente estudio fue desarrollado en la Empresa AQUAGEN S.A. se encuentra ubicado en el cantón Santa Elena, vía la Ruta del Spondylus, Comunidad Playa Bruja (Valdivia), cuyas coordenadas geográficas son: 1°54'36.9" S – 80°43'38.4" W (Figura 3).

Figura 3.

Ubicación de la empresa AQUAGEN S.



Nota: Sitio del desarrollo de la parte experimental, playa Bruja. A. Vista espacial del laboratorio. B. Infraestructura del laboratorio. Google Earth, 2024.

7.3. Diseño experimental

El diseño experimental incluyó tratamientos diferenciados y replicados bajo condiciones controladas, y los datos fueron obtenidos mediante observación directa, conteo microbiológico y análisis de parámetros fisicoquímicos del agua, permitiendo su posterior análisis estadístico para establecer correlaciones significativas entre los tratamientos aplicados y los resultados obtenidos.

Para la aplicación del experimento, se utilizaron 7 tanques de producción larvaria de 3 hasta 7 toneladas. En dichos sistemas se aplicaron un total de 6 probióticos comerciales distintos, los mismos que se distribuyeron en dos tipos de tratamiento con el objetivo de evaluar la eficacia en condiciones de cultivo controladas.

Control: Se utilizó como cepa control un probiótico comercial diferente a los probióticos masificados empleados en los tratamientos de esta investigación.

Tratamiento 1: Consistió en la aplicación de los probióticos sin ningún proceso previo de activación en las diferentes dietas y posteriormente incorporarlos a los tanques de cultivos a razón de diferentes dosis dependiendo del estadio larval (Anexo 16).

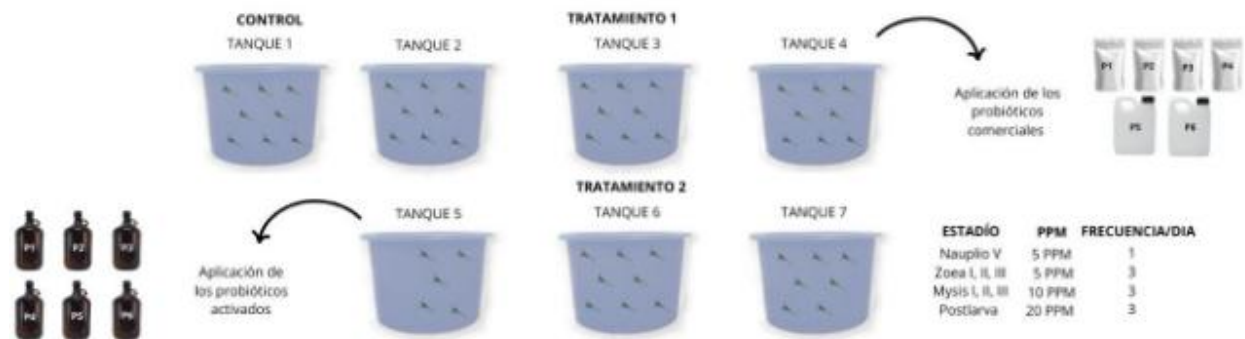
Tratamiento 2: Activación previa de los probióticos a través de una fuente de carbono o sustrato, permitiendo así su fermentación antes de ser incorporados a los tanques. La activación fue llevada a cabo con la idea de favorecer la multiplicación de las bacterias benéficas (Prentu, 2016). La dosificación podemos observarla en el Anexo 17.

Ambos tratamientos se aplicaron con una frecuencia de ocho veces al día, estableciendo un intervalo de tres horas entre cada dosificación. Esta estrategia permitió mantener una concentración homogénea y constante de probióticos en el medio de cultivo durante todo el ciclo experimental.

La frecuencia de aplicación fue cuidadosamente programada con el fin de evitar picos de concentración y asegurar una acción sostenida de los microorganismos benéficos tanto en el agua como en el tracto digestivo de las larvas (Toral, 2015). La densidad de siembra de pl de post larva fue de 100-200 larvas por litro. El Anexo 16 detalla la distribución de los tratamientos, las cepas utilizadas en cada uno y la cantidad de siembra correspondiente por réplica.

Figura 4.

Descripción gráfica del diseño experimental.



Nota: La imagen representa la adición de probióticos y su frecuencia diaria por estadio larvario.

El uso de los probióticos de acuerdo con el estadio larvario se ajustó, asegurando de esa forma que las necesidades específicas de cada estadio sean satisfechas. Los probióticos se aplicaron desde el estadio Zoea I hasta la fase de postlarva 10 (PL10) considerando su compatibilidad con cada etapa y su capacidad para favorecer el equilibrio microbiano y el bienestar general de las larvas.

7.3.1. Preparación y aplicación de la cinética bacteriana.

Para el óptimo desarrollo de las cepas se activaron a través de melaza, la cual actuó como fuente de carbono, asegurando de esa manera la disponibilidad constante de sustrato energético para el crecimiento y cinética bacteriana.

La Tabla 2 indicó la forma en la cual se realizó el cálculo antes de la preparación de los seis probióticos evaluados. En la misma tabla se indica las cantidades en ppm, las toneladas, la frecuencia y días de aplicación, de acuerdo con los requerimientos de los tanques de cultivo

Para este proceso, la melaza se aplicó en una relación del 15% del volumen levante del probiótico previamente esterilizada y posteriormente se mezcló con los probióticos comerciales aplicados según la recomendación del proveedor, estableciéndose una relación con los probióticos utilizados que se resume en el Anexo 14. Tras el proceso anteriormente descrito, se obtuvieron fermentos o cultivos activados sobre los probióticos de los probióticos empleados (Anexo 3).

Se realizaron evaluaciones de las diferentes fases del crecimiento bacteriano (fase exponencial o de crecimiento, fase estacionaria y fase de muerte) para cada

probiótico, diferenciando entre aquellos destinados al tracto digestivo y los que se cultivan en el medio de cultivo. Esta evaluación permitió comprender el crecimiento de cada probiótico tras la aplicación en los diferentes tanques de producción (Anexo 6 y 7). Así mismo, esta evaluación permitió contar las UFC que se encontraban en el análisis bacteriano del animal.

Tabla 2

Composición bacteriana de los diferentes probióticos y los estadios larvarios empleados

Probiótico	Estadio larvario
1. <i>L acidophilus, L plantarum, B megaterium, Saccharomyces cerevisiae</i> (Exp. 10^8)	Zoea I – Postlarva 10
2. <i>B subtilis, B licheniformis, B pumilus</i> (Exp. 10^7)	Zoea I – Postlarva 10
3. <i>B subtilis, B licheniformis</i> (Exp. 10^7)	Zoea I – Postlarva 10
4. <i>B cereus, L, Saccharomyces cerevisiae</i> (Exp. 10^8)	Zoea I – Postlarva 10
5. <i>L acidophilus, L rhamnosus, L bulgaricus, L helveticus, L casei, L cellobiosus, L fermentum</i> (Exp. 10^8)	Zoea I – Postlarva 10
6. Mix de <i>Bacillus</i> sp (Exp. 10^9)	Zoea I – Postlarva 10

Nota: A cada estadio larvario se utilizó un tipo de probiótico.

A continuación, se realizaron diluciones de las muestras conforme al protocolo de análisis estandarizado empleando fiolas de un litro, para la realización de la cinética. Después de cultivado el fermento, se tomaron muestras en intervalos de tiempo específico (2, 6, 12, 24, 48 y 72 horas respectivamente post siembra). Dichos intervalos de tiempo ayudaron a conocer la evolución esperada del crecimiento bacteriano, permitiendo así una evaluación detallada de las distintas etapas del proceso de fermentación.

7.3.2. Implementación y preparación de medios de cultivo

7.3.2.1. Preparación de Chromagar bacillus

Fue elegido por su capacidad para diferenciar especies de *Bacillus*, lo que facilita la identificación de colonias específicas de este grupo bacteriano. Su preparación consta de una disolución de 33.3 g de *Chromagar bacillus* en 1 litro de agua destilada, seguido se calienta hasta ebullición, después dejar enfriar a 45-50 °C en un baño de agua, removiendo suavemente, por último, se vierte en placas Petri (Aryal, 2022).

La identificación de las bacterias en este medio de cultivo se basa en la coloración que desarrollan, la cual depende del pH del entorno. Según esta característica, es posible diferenciar los géneros y especies de *Vibrio* de la siguiente

manera: *Vibrio parahaemolyticus* se observa con una tonalidad rosada, *Vibrio alginolyticus* presenta una coloración crema, mientras que *Vibrio vulnificus* se distingue por su color turquesa.

7.3.2.2. Preparación de TCBS

Se escogió este medio por ser selectivo para el aislamiento de diferentes especies del género *Vibrio*. Su preparación consiste en disolver 89 g del medio en polvo en 1 litro de agua destilada, calentando la mezcla con agitación frecuente hasta llevarla a ebullición. Finalmente, se deja enfriar y se distribuye en placas Petri estériles (Rossi, 2021).

La identificación bacteriana en este agar se basa en una clasificación colorimétrica relacionada con la asimilación de carbohidratos, particularmente sacarosa. Las colonias que fermentan sacarosa (sacarosa positiva) desarrollan una coloración amarilla, mientras que las que no la fermentan (sacarosa negativa) presentan colonias de color verde. Esta diferenciación permite distinguir entre especies de *Vibrio* según su metabolismo.

Los resultados para este medio se visualizaron a las 24 horas post siembra, con una temperatura de incubación de 33-37 °C para la formación de colonias visibles y diferenciadas (Anexo 6).

7.3.2.3. Preparación de MRS

Seleccionado por su capacidad para fomentar el crecimiento de bacterias lácticas, siendo un medio adecuado para la evaluación de estos microorganismos en el fermento. Se prepara con 62 gr de agar en 1000ml de agua destilada, calentar hasta ebullición y agitar hasta disolver, seguido se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 min, finalmente se vierten en cajas Petri (Remel, 2011).

Las colonias en MRS se observaron a las 48 horas, dado que este tiempo permite una adecuada proliferación de las bacterias presentes en la muestra.

7.3.2.4. Preparación de Chromagar Vibrios

Fue empleado por ser un medio cromogénico para el aislamiento y la detección de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. cholerae*, se prepara con una disolución de 74,7 g del polvo en 1 litro de agua destilada, se eleva la temperatura

hasta la ebullición (100°C), por último, se deja reposar hasta enfriar en una cubeta térmica para luego verter el medio en placas de Petri estériles. (CHROMagar, 2021) (Anexo 6) (Pavone, 2020).

7.3.3. Método de conteo de colonia

7.3.3.1. Conteo de colonias

Una vez realizadas las siembras en ambos medios, se llevó a cabo el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC/ml), utilizando la técnica de recuento en placa de acuerdo con (Aguilar, 2018). Esta técnica es ampliamente reconocida por su precisión en la estimación de la cantidad de bacterias presentes en las muestras, y permite obtener datos cuantitativos sobre la población bacteriana en cada intervalo de tiempo.

7.3.3.2. Recuento de colonias en distintos tipos de agar

Para la siembra de larvas se tomó el equivalente a 1 gramos de muestra, tomando un volumen de 1 ml de larva macerada en un tubo eppendorf vacío, y posteriormente se colocó 100 microlitros o 0.1 gramo de las larvas maceradas en

900 microlitros de agua destilada al 2.5% de cloruro de sodio previamente esterilizada para las diluciones seriadas, equivalente a la dilución 10^{-1} .

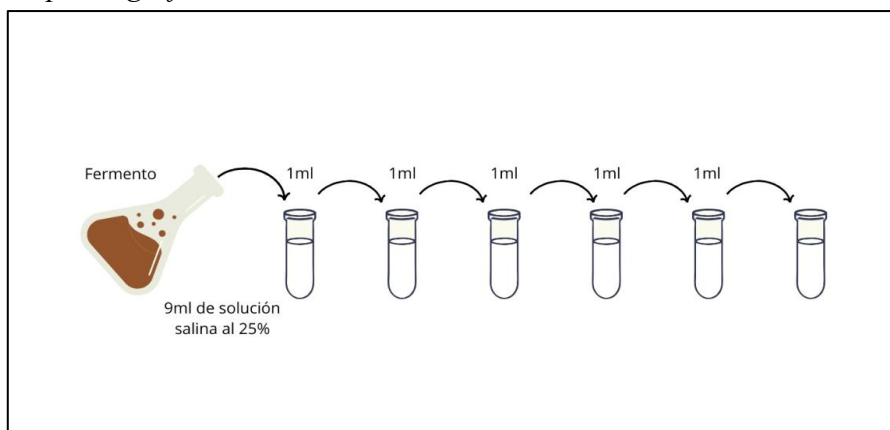
Para cada dilución seriada, se utilizó una alícuota de 100 μ l de 10^{-1} y se colocó en 900 microlitros de un nuevo tubo eppendorf para obtener la dilución 10^{-2} y así sucesivamente para las muestras de los probióticos de la cinética bacteriana, en la que se emplearon tubos de ensayo previamente esterilizados, en los cuáles se agregó 9 ml de solución salina al 25% y 1ml/g del fermento.

La metodología de siembra aplicada fue en las superficies del agar en la placa del cultivo empleando diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} para TCBS y Chromagar vibrios, y para probióticos en agar MRS 10^{-6} , 10^{-7} con el mismo volumen de siembra para superficie de agar.

La cuantificación de las placas de los diferentes agares se cuantificó siguiendo el estándar de 30 a 300 colonias por placa. Se registraron todas las colonias presentes, después se dividieron los mililitros que se colocaron en la caja y se multiplicó por la dilución, lo que resultó en el número de unidades que forman colonias por mililitro (UFC). De esta manera, se determinó la cantidad de unidades que forman colonias por mililitro (Aguilar, 2018).

Figura 5.

Descripción gráfica de diluciones seriadas.



Nota: La imagen proporciona información de las diluciones de las colonias bacterias para su posterior siembra.

Para cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{A \text{ colonias enumeradas (media)}}{B \text{ ml sembrados}} \times \text{Factor de dilución}$$

$$UFC/ml = \frac{A \text{ colonias enumeradas (media)}}{B \text{ ml sembrados}} \times \frac{1}{\text{Factor de dilución}}$$

Donde:

$$UFC/gr = \text{Número de colonias} \times \text{dilución} / \text{peso en gramos de la pl}$$

UFC/mL = Número de colonias x dilución / ml

UFC/larva = Número de colonias x dilución / # larvas.

A través de este procedimiento, fue posible obtener la trazabilidad de la curva de crecimiento bacteriano, así como la cuantificación de bacterias por gramo de larvas analizadas, lo que permitió analizar el comportamiento de las bacterias en función del tiempo de cultivo y de las condiciones ambientales de cada medio. Se incubó 24 horas post siembra con una temperatura de incubación de 37 °C.

7.3.4. Indicadores de salud en correlación con la eficacia del probiótico.

Para evaluar la eficacia de los probióticos en la salud de las larvas de *Penaeus vannamei*, se implementó un protocolo de monitoreo que abarca tantos indicadores biológicos, análisis patológicos, parámetros fisicoquímicos del agua.

Las muestras fueron recolectadas directamente de todos los tanques experimentales del tanque control, tratamiento 1 (aplicación directa) y del tratamiento 2 (probiótico preparado), utilizando un envase estéril y un tamiz, esta muestra por tanque permitió obtener organismos representativos del sistema de cultivo y cantidad de agua de 500 ml proveniente del tanque para su respectivo análisis.

Dicha técnica de muestreo se basó en protocolos establecidos para el monitoreo de calidad larvaria y salud en sistemas acuícolas intensivos (Saldarriaga & Briones, 2005; Soriano, 2017). A continuación, se explican ambas fases basadas en una toma de muestra por cada tanque.

7.3.5. Diagnóstico de agentes patógenos

7.3.5.1. Monitoreo microscópico de la salud larvaria

Se llevaron a cabo visualizaciones de cada estadio larvario, donde se registró la aparición de necrosis branquial, apendicular y muscular, además del desarrollo correcto de las branquias y la presencia de lípidos hepatopancreáticos. En la tabla 5, se expresan cada uno de estos parámetros junto a los criterios y escala de valoración empleada para cada uno.

Durante el proceso se hicieron observaciones a las larvas, tanto como el estado de salud de las mismas, el comportamiento y la actividad. Así mismo, se registraron los parámetros de calidad de agua. Más adelante, se tomaron muestras de larvas para un análisis detallado usando el microscopio, permitiendo así obtener información precisa sobre cada desarrollo, condición y proceso de digestión. Se dio como calificación según el rango de tabla que va de 0 a 4, indicando 0 como ningún

daño a nivel de órganos y tejidos, 1 como presencia muy baja en deformaciones, 2 presencia moderada de deformaciones, 3 presencia alta y 4 como la calificación máxima de daño en los tejidos de la muestra analizada (Anexo 19).

7.3.6. Análisis para calidad de agua

Se tomaron muestras de agua de todos los tanques experimentales, posteriormente se depositó 5 ml del agua que debía analizarse en un tubo de ensayo de 20 ml, se les agregó los reactivos API con el fin de evaluar la calidad del agua, midiendo amonio, nitritos, nitratos, alcalinidad y pH. Además, se utilizó una tabla para calcular las propiedades termodinámicas del amoníaco, considerando el pH y la temperatura de las muestras (Melgar et al., 2013; Matlock et al., 2007).

7.3.6.1. Instrucciones generales para análisis con reactivos API

Para el análisis API se realizaron los siguientes pasos:

- 1) Se llenaron 5ml del agua a analizar (hasta la línea del tubo);
- 2) Se añadieron gotas del frasco nº1 de solución de prueba manteniendo el frasco gotero de forma vertical;
- 3) Se añadió gotas del frasco nº2 de solución de prueba;
- 4) Se tapó el tubo de ensayo y se agita por 5 segundos;
- 5) Se esperó 5 minutos para que se desarrolle el color;
- 6) Comparando con la tabla de colores los resultados

Por cada parámetro analizado las instrucciones varían, es así que se describen a continuación los diferentes cambios:

- Amonio: Se añadió 8 gotas de cada frasco (n°1 y n°2) de solución de prueba.
- Alcalinidad: La solución tomó un color azul después de agregar una gota del kit solución. Si la muestra de agua contiene solamente 1°dKH, la solución de agua pasara de clara a amarillo después de agregar la primera gota. /
- Nitrito: Se añadió 5 gotas del reactivo (NO₂) kit solución
- Nitrito: Se añadió 10 gotas del frasco n°1 (NO₃) y agitar para mezclar. Seguido se agita el frasco n°2 durante 30 segundos, posteriormente se añaden 10 gotas y se agitan por 1 minuto (American Acuario, 2024).

7.3.7. Evaluación económica de los probióticos

Con la finalidad de reducir el impacto económico que conlleva la aplicación directa de productos liofilizados o líquidos de manera volumétrica en los tanques de producción larvaria, se valorizó en base a la validación de la cinética bacteriana

de los 6 probióticos empleados en la investigación, el valor en dólares de todos los insumos empleados en la bioaumentación de los productos comerciales versus el valor original de los productos sin activación. Los costos relacionados con la implementación de cada probiótico, su adquisición, elementos para activarlos, asociado para su correcto funcionamiento.

Además, se recogió información sobre la producción, cantidad de larvas sobrevivientes por estadio, salud general y calidad de agua, debido a que esto pudo influir indirectamente a la rentabilidad de cada sistema implementado. Para analizar los costos se esperó concluir con cada siembra y proceso larvario, terminando en tres ciclos, comparando los valores de cada tratamiento.

7.3.8. Análisis estadístico

Se realizaron análisis de datos a través del programa Minitab 19.0, en el mismo se determinó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro Wilk., después se determinó la homogeneidad de datos usando una prueba de homocedasticidad de Levene. Finalmente, se realizó un ANOVA de 1 vía con una prueba posterior de Tukey a un valor de significancia $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV

8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1.1. Determinación de la cinética bacteriana de los probióticos

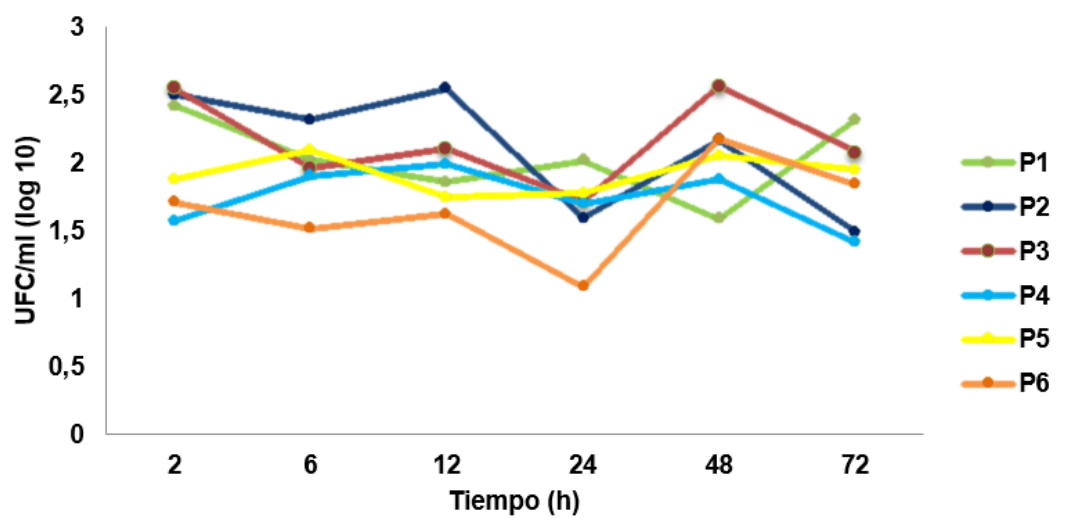
Se observó crecimiento bacteriano en los medios de *Chromagar Bacillus* y MRS, permitiendo de esta manera cuantificar el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) de los seis probióticos preparados en diferentes tiempos de revisión. Se determinó la cinética de crecimiento bacteriano caracterizada por un incremento progresivo en la concentración celular, alcanzando su punto máximo en un rango comprendido entre las 12 y 48 horas, dependiendo del probiótico evaluado.

Para los probióticos P2, P3 y P5 de *Chromagar Bacillus*, presentaron sus máximas concentraciones a las 48 horas, siendo estas: 1,48E+02 UFC/ml, 3,60E+02 UFC/ml, 1,13E+02 UFC/ml correspondientemente. En contraste, P1 y P4 evidenciaron valores menores de crecimiento a los mencionados (Figura 6).

Figura 6.

Cinética individual obtenida en las siembras microbiológicas de los probióticos

P1 a P6 en el agar Chromagar Bacillus



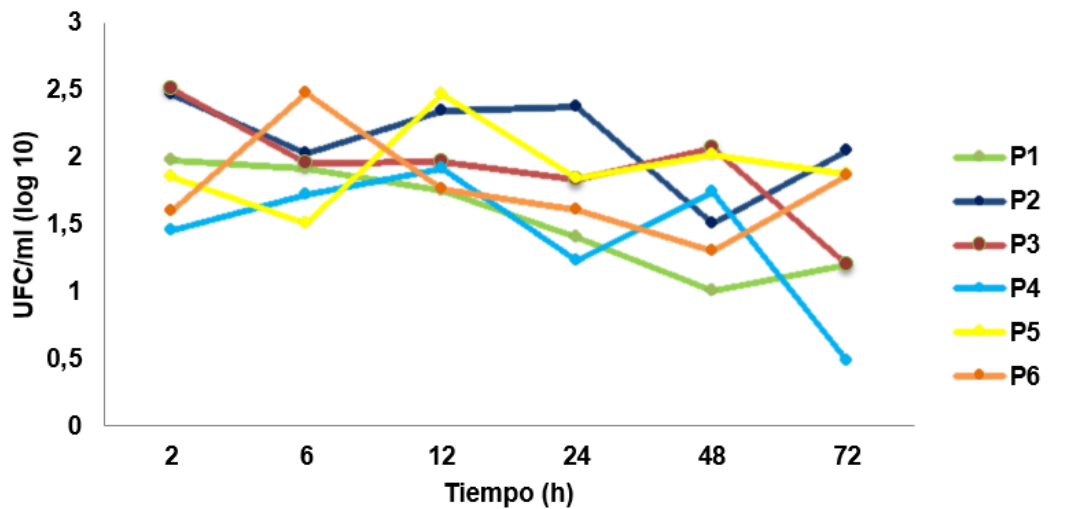
Nota: Resultados en base logarítmica 10 de la cinética bacteriana de los 6 probióticos analizados

En el medio de cultivo MRS, los probióticos P2 y P5 alcanzaron el pico de su crecimiento a las 12 horas con $2,20E+02$ UFC/ml y $2,94E+02$ UFC/ml respectivamente, lo que sugiere una fase exponencial temprana. Por otro lado, los probióticos P1 y P4 mantuvieron concentraciones significativamente más bajas durante todo el periodo que los demás probióticos utilizados, con máximos a las 12 horas de $5,60 E+01$ UFC/ml y $5,70 E+01$ UFC/ml respectivamente (Figura 7).

Figura 7.

Cinética individual obtenida en las siembras microbiológicas de los probióticos

P1 a P6 en el agar MRS



Nota: Resultados en base logarítmica 10 de la cinética bacteriana de los 6 probióticos analizados

En algunos casos, como en el probiótico P2, se evidenció una posterior disminución en el número de UFC/ml después de alcanzar el pico de crecimiento, lo cual podría corresponder al inicio de la fase estacionaria o incluso a la fase de muerte celular.

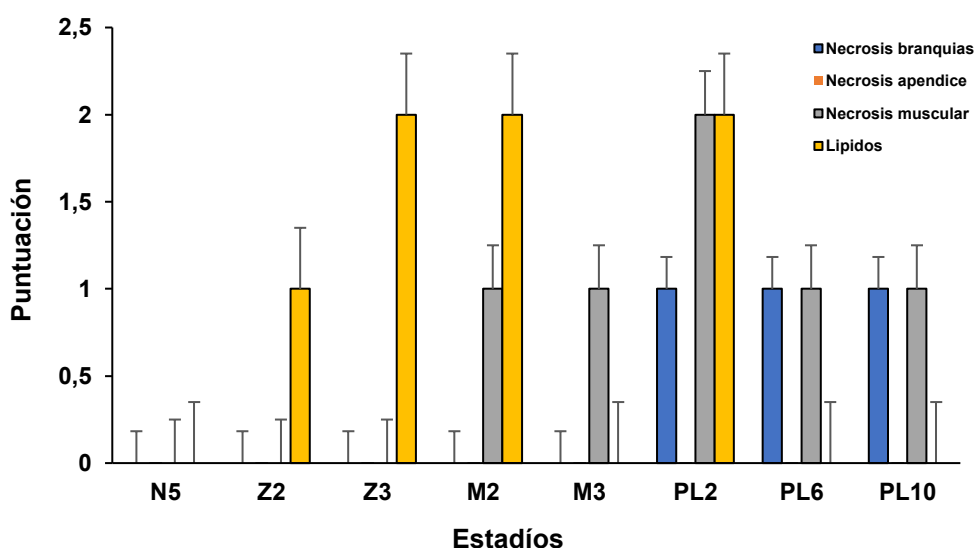
8.1.2. Salud Larvaria

Para los resultados fueron necesarios observaciones al microscopio para lograr registrar la aparición de necrosis branquial, apendicular y muscular, además del desarrollo correcto de las branquias y la presencia de lípidos hepatopancreáticos.

Por ende, para el ciclo de producción 1 se registró la aparición de necrosis branquial en un nivel bajo (1) sin cambios desde el estadio PL2 a PL10. Del mismo modo, se pudo observar Necrosis muscular desde Misis 2 a PL10 en un nivel bajo (1) siendo constante. Cabe destacar, no se determinó necrosis en los apéndices, y un nivel lipídico en la hepatopáncreas llegando hasta medio (2) solamente para el estadio PL2. Es necesario decir, que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,263$) (Figura 8).

Figura 8.

Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 1.

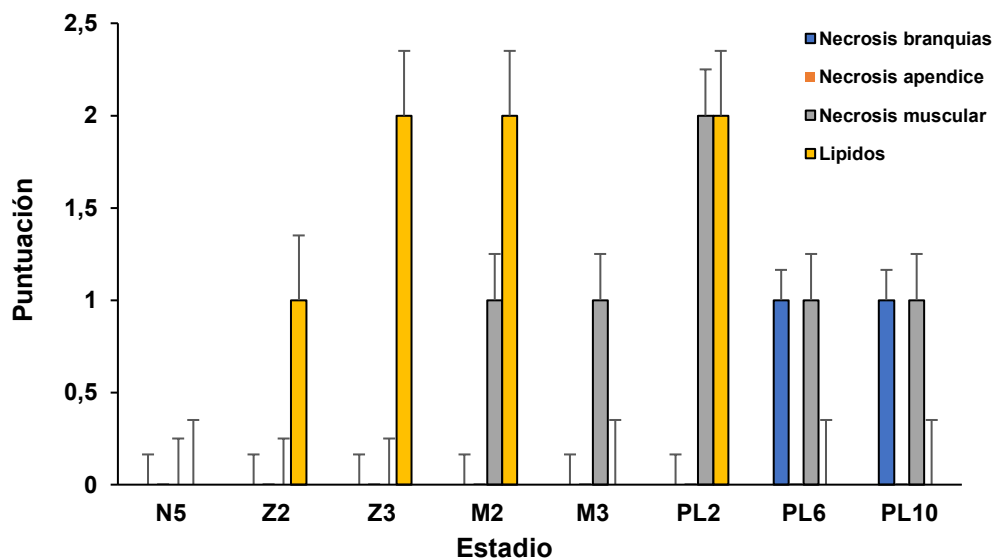


Nota: Resultados de los valores promedios del criterio de la calidad de larvas.

Para el ciclo de producción 2 se pudo observar que no existió necrosis apendicular en todos los estadios y que solamente los estadios de PL6 y PL10 se observó necrosis branquial en un nivel bajo (1) y constante. Además, se presentó necrosis muscular desde el estadio PL2 en un nivel medio (2) a diferencia de PL6 y PL10 en un nivel bajo (1). Se puede evidenciar lípidos en la hepatopáncreas hasta el nivel medio (2) en los estadios de Misis 2, Z3 y PL2. Además, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los datos obtenidos ($p = 0,268$) (Figura 9).

Figura 9.

Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 2.

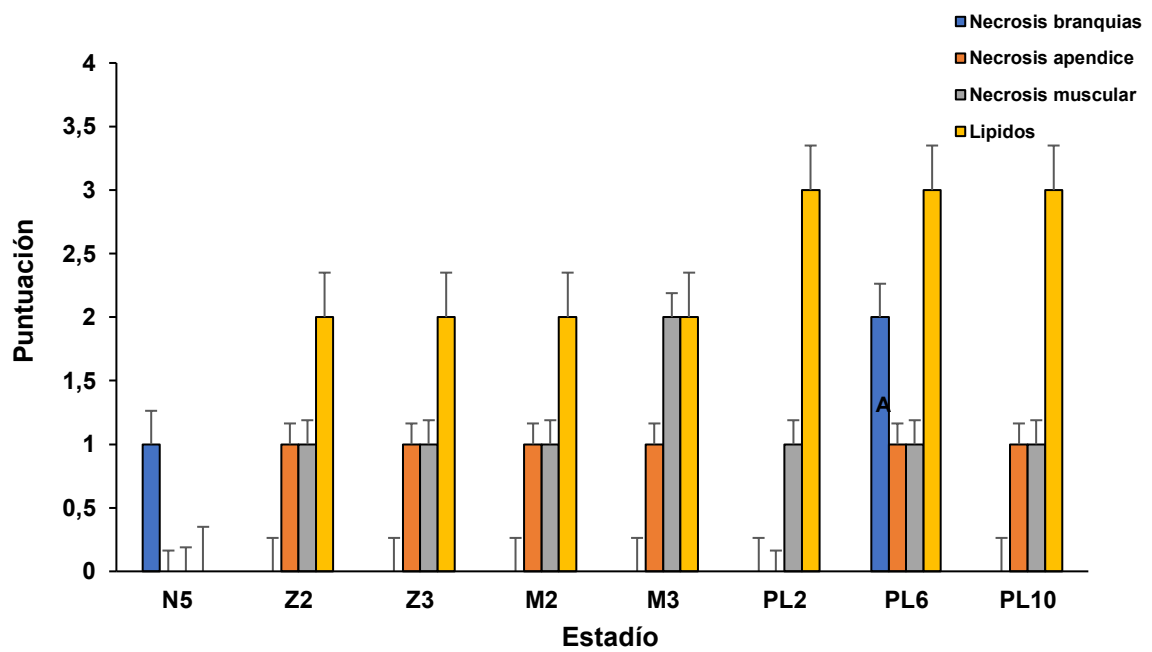


Nota: Resultados de los valores promedios del criterio de la calidad de larvas.

En el ciclo de producción 3 solamente se observó necrosis branquial en los estadios de N5 y PL6 en nivel bajo (1) y medio (2) respectivamente. También se detectó necrosis apendicular en niveles bajo (1) en los estadios Z2, Z3, M2, PL2, PL6 y PL 10, resultando distinto en M3 con un nivel medio (2). En cambio, para los estadios Z2, Z3, M2, PL2, PL6 y PL 10 se observó necrosis muscular en nivel bajo (1) en contraste a M3 con un valor medio (2). Se determinó lípidos en la hepatopáncreas a nivel elevado (3) en los estadios de PL2 a PL10 y un nivel medio (2) en los estadios de Z2 a M3 (Figura 10). No existieron diferencias significativas entre los datos ($p = 0,289$).

Figura 10.

Valores promedios sobre los criterios de control de calidad de larvas correspondiente al ciclo de producción 3



Nota: Resultados de los valores promedios del criterio de la calidad de larvas.

Figura 11

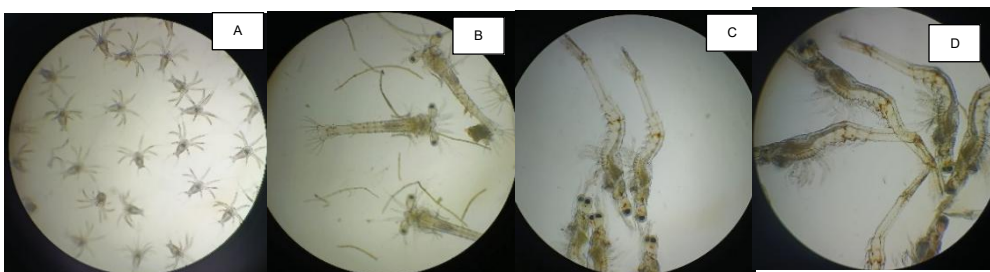
Valoración patológica de la salud larvaria. Control



Nota: (A) Nauplio 5, no presenta anomalías, (B) Zoea 3, no presenta necrosis, presenta retraso en su estadía grado 1, (C) Misis 3, presenta necrosis muscular grado 2 y (D), Postlarva, presenta necrosis muscular grado 2 y retraso en su estadía grado 1.

Figura 12.

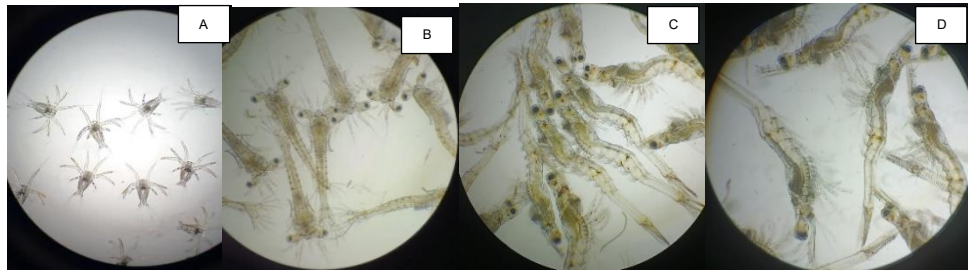
Valoración patológica de la salud larvaria. Tratamiento 1



Nota: (A) Nauplio 5, presenta retraso en su estadía grado 1, (B) Zoea 3, presenta necrosis muscular grado 2 y retraso en su estadía grado 2, (C) Misis 3, presenta necrosis en el apéndice grado 2, (D) Postlarva, presenta necrosis muscular grado 2.

Figura 13.

Valoración patológica de la salud larvaria. Tratamiento 2



Nota: (A) Nauplio 5, no presenta deformidades, (B) Zoea 3, presenta retraso en su estadía grado 2, (C) Mysis 3, presenta necrosis muscular grado 1 y retraso en su estadía grado 1, (D) Postlarva, presenta necrosis muscular grado 1.

8.2. Análisis de calidad de agua

Durante el tiempo de evaluación, se realizó el monitoreo de parámetros de calidad de agua en los diferentes tratamientos, cuyos resultados se resumen en la Tabla 3.

El nivel de amonio en cuanto a su promedio durante ciclo de producción 1 entre todos los estadios se encontró más alto en el tanque 4 (1,04 mg/L) a diferencia del tanque 8 resultando el de menor valor (0,94 mg/L), de los tratamientos 1 y 2. Para el ciclo de producción 2 el amonio en el tanque 5 se determinó promediamente entre los estadios como el más alto con un valor de 1,06 mg/L, diferenciado del tanque 8 con un valor menor de 0,51 mg/L de los tratamientos 1 y 2

respectivamente. En cambio, para el ciclo de producción 3 se observó en promedio que el tanque 1 del control obtuvo el valor más alto (1,44 mg/L) a diferencia del tanque 6 del tratamiento 2 (0,94 mg/L). Así mismo, se destaca que no existieron diferencias significativas en la estadística desarrollada ($p = 0,255$).

Para nitrito los valores se mantuvieron en 0 mg/L para todas las corridas en todos los estadios.

Para los nitratos en el ciclo de producción 1 de acuerdo al promedio entre los estadios se registró que no existe diferencia en valores ya que fluctúan desde 4,88 a 5,13 mg/L. En el ciclo de producción 2 sucede lo mismo, los valores promedios de todos los tratamientos presentan una fluctuación idéntica entre 4,56 – 4,88 mg/L. Por otra parte, en ciclo de producción 3 el tanque 1 del control obtuvo en promedio (4,50 mg/L) en contraste a los valores de menor referencia que fluctúan entre 3,25 – 3,56 mg/L. No presentan diferencias estadísticamente significativas entre las corridas ($p = 0,260$).

En alcalinidad durante el ciclo de producción 1 entre los estadios se encontró al tanque 2 del control como el más alto en cuanto a valores promedios 130 mg/L y el más bajo el tanque 6 con 120 mg/L. Por otro lado, durante el ciclo de producción 2 la alcalinidad promedio se determinó para el tanque 5 (tratamiento 1) con 143,5 mg/L a diferencia del tanque 6 (tratamiento 2) que resultó como el más bajo

promedio de entre todos con 130 mg/L. Para el ciclo de producción 3 el tratamiento 3 en promedio resultó con mayor valor (137,500/0), a diferencia del tanque 6 con un valor mínimo de 128,75 mg/L. Es necesario mencionar, que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las corridas ($p = 0,265$).

Para el parámetro de pH los durante los registros de valores promedios del ciclo de producción 1 de los estadios se encontró que los tanques 2 (control) y 7 (tratamiento 2) resultaron con el valor más alto de 8,07 y el tanque 3 (tratamiento 1) más bajo con 7,96. En el ciclo de producción 2 el valor máximo registrado fue de 7,87 para el tanque 8 (tratamiento 2) y el valor mínimo para tanque 3 (tratamiento 1) con 7,81. En ciclo de producción 3 el tanque 7 obtuvo en promedio un valor máximo de 8,09 a diferencia del tanque 6 con valor mínimo de 8,03 (ambos del tratamiento 2). Se determinó que no existen diferencias significativas en la estadística ($p = 0,268$).

En temperatura los valores promedio por estadio de los tratamientos en el ciclo de producción 1 se mantuvieron en un mismo valor de 33,3 °C sin registrar cambios. Para ciclo de producción 2 los valores promedios por estadio se mantuvieron entre 32,8 y 32,9 entre todos los tratamientos sin haber cambios significativos. Para ciclo de producción 3 los tanques 5 (tratamiento 1) y 8 (tratamiento 2) en promedio resultaron los de mayor máximo con 33,5°C a

diferencia del tanque 4 con 33,4 °C como promedio total. Cabe indicar, que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las corridas ($p = 0,271$).

Para NH₃ los valores promedio por estadio en el ciclo de producción 1 presentaron al tratamiento 2 como el valor máximo entre los demás tratamientos (0,11 mg/L) y el valor mínimo de 0,05 mg/L para el tratamiento 7. Ciclo de producción 2 presenta el valor más alto para el mismo tratamiento 2 con 0,04 mg/L y valor más bajo como la corrida 1 al tratamiento 7 con 0,02 mg/L. Para ciclo de producción 3 los valores máximos en promedio fueron para los tanques 2 y 3 (tratamiento 1) con 0,12 mg/L, a diferencia de los tanques 6 y 7 (tratamiento 2) que en promedio resultaron menores (0,08 mg/L). No existieron diferencias estadísticamente significativas entre las corridas ($p = 0,267$).

Tabla 3.

Valores promedios de cada parámetro registrado durante cada corrida entre todos los estadios.

Corridas	Parámetros	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
	Amonio	1,04 ^d	1,01 ^d	1,14 ^d	1,04 ^d	0,98 ^d	0,96 ^d	0,94 ^d
	Nitrito	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrato	5,13 ^d	4,88 ^d	5,13 ^d	4,88 ^d	4,88 ^d	5,13 ^d	5,13 ^d
Corrida 1	Alcalinidad	130 ^a	126 ^a	126 ^a	123 ^a	120	126,2 ^a	122,5 ^a
	pH	8,01 ^c	7,96 ^c	7,98 ^c	7,98 ^c	7,99 ^c	8,01 ^c	7,99 ^c
	Temperatura	33,3 ^b	33,3 ^b	33,3 ^b	33,3 ^b	33,3 ^b	33,3 ^b	33,3 ^b
	NH3	0,11 ^d	0,08 ^d	0,08 ^d	0,09 ^d	0,08 ^d	0,05 ^d	0,08 ^d

	Amonio	0,97 ^d	0,95 ^d	0,81 ^d	1,06 ^d	0,95 ^d	0,58 ^d	0,51 ^d
	Nitrito	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrato	4,56 ^d	4,88 ^d	4,88 ^d	4,56 ^d	4,56 ^d	4,56 ^d	4,56 ^d
Corrida 2	Alcalinidad	141 ^a	137 ^a	141 ^a	143,5 ^a	130 ^a	135 ^a	136,2 ^a
	pH	7,83 ^c	7,81 ^c	7,83 ^c	7,83 ^c	7,85 ^c	7,85 ^c	7,87 ^c
	Temperatura	32,8 ^b	32,8 ^b	32,8 ^b	32,9 ^b	32,6 ^b	32,9 ^b	32,9 ^b
	NH3	0,04 ^d	0,05 ^d	0,03 ^d	0,04 ^d	0,03 ^d	0,02 ^d	0,03 ^d
	Amonio	1,44 ^a	1,38 ^a	1,20 ^a	1,22 ^a	0,94 ^a	0,97 ^a	1,00 ^a
	Nitrito	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrato	4,50 ^d	3,56 ^d	3,56 ^d	3,63 ^d	3,31 ^d	3,25 ^d	3,25 ^d
Corrida 3	Alcalinidad	135 ^a	137 ^a	131 ^a	136,2 ^a	128 ^a	136,5 ^a	130 ^a
	pH	8,06 ^c	8,04 ^c	8,08 ^c	8,08 ^c	8,03 ^c	8,09 ^c	8,08 ^c
	Temperatura	33,3 ^b	33,2 ^b	33,2 ^b	33,5 ^b	33,4 ^b	33,3 ^b	33,5 ^b
	NH3	0,12 ^d	0,12 ^d	0,09 ^d	0,10 ^d	0,08 ^d	0,08 ^d	0,09 ^d

Nota: Letras iguales indican que no existe diferencias significativas entre los datos según ANOVA de una vía y test a posteriori de Tukey ($p < 0,05$).

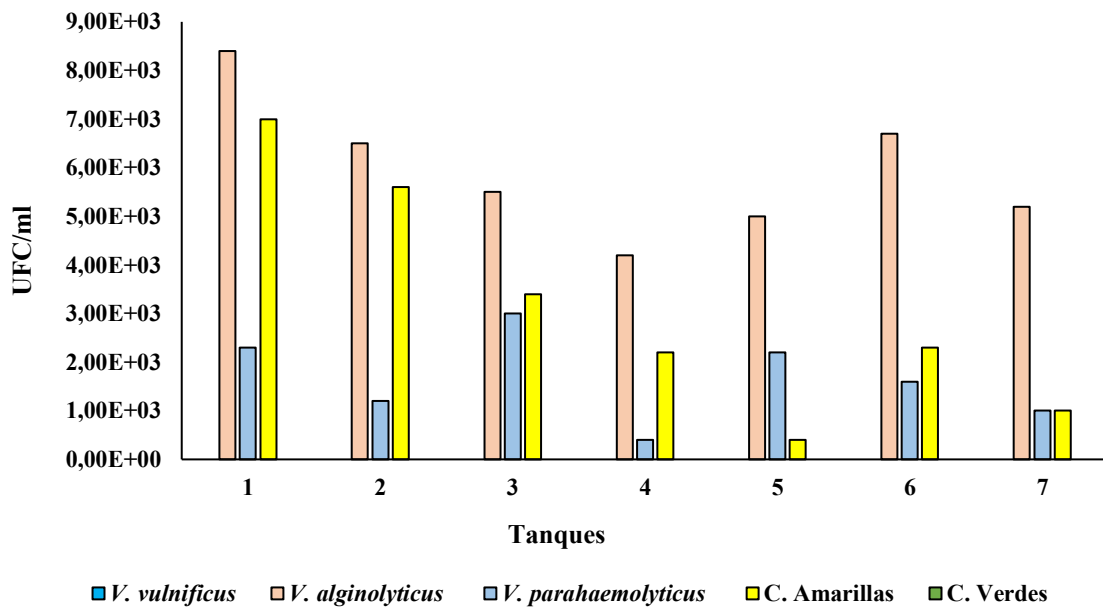
8.3. Diagnostico bacteriano

Para el ciclo de producción 1 se presentaron los siguientes resultados:

En el estadio Nauplio 5 se determinó en el tanque 1 de control la cantidad máxima de colonias contabilizadas de *V. alginolyticus* ($8,40 \text{ E}+03$) seguido del tanque en el tratamiento 2 ($6,7 \text{ E}+03$), a diferencia de *V. vulfunicus* que no se obtuvo colonia alguna. En colonias verdes no se presentaron, en cambio las amarillas si en valores máximos en el control ($7,00 \text{ E}+03$) y el tanque 2 del tratamiento 1 ($5,6 \text{ E}+03$).

Figura 14.

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio Nauplio 5.

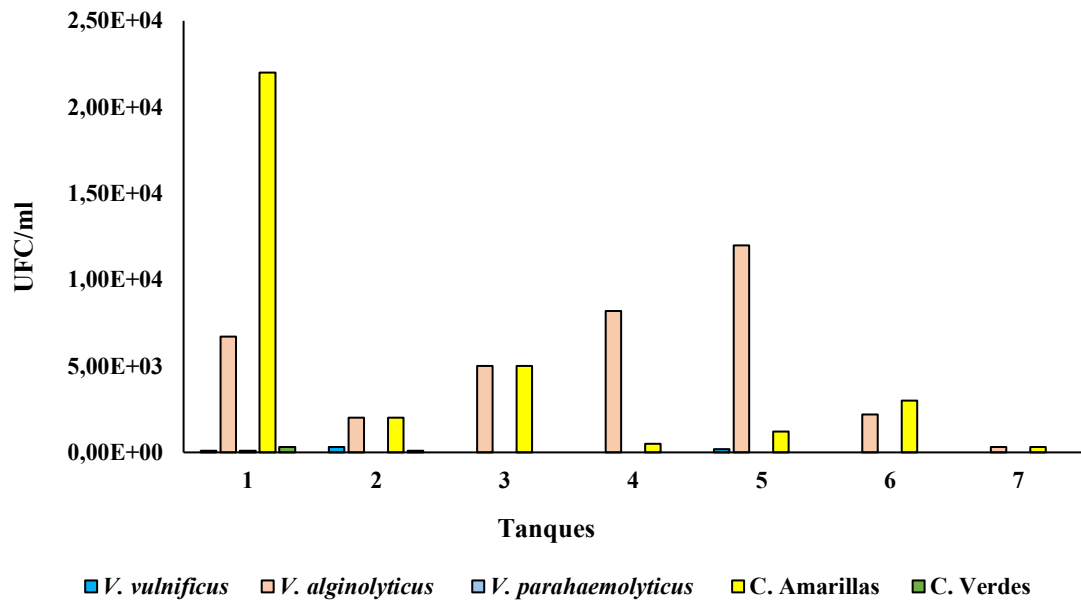


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Zoea 2 se determinó en el tanque 5 del tratamiento 2 la cantidad máxima de colonias de *V. alginolyticus* (8,20 E+03), en cambio *V. parahaemolyticus* sin resultado alguno. También, no se presentaron colonias verdes, en cambio las amarillas se presentaron en valores máximos en el tanque 1 (control) con 2,20 E+04 (Figura 15). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,138$).

Figura 15

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio Zoea 2.

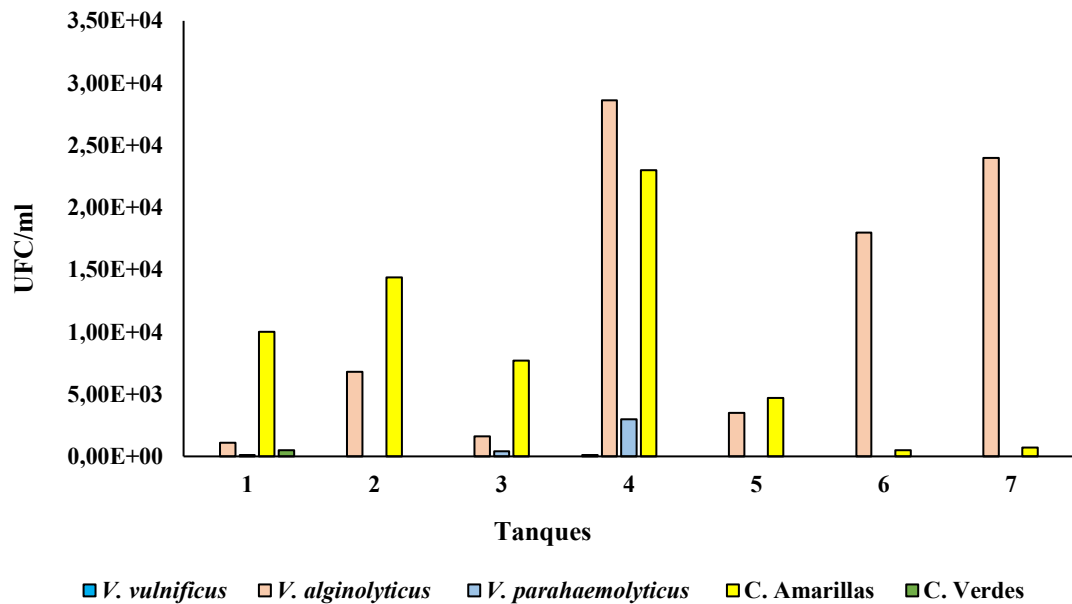


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Zoea 3, se determinaron para el tanque 4 valores máximos en *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus* en valores máximos de $2,86 \text{ E}+04$ y $3,00 \text{ E}+03$ respectivamente. Así mismo, el tanque 4 (tratamiento 1) presentó el valor máximo de $2,30 \text{ E}+04$ de colonias amarillas (Figura 16). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,169$).

Figura 16

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio Zoea 3.

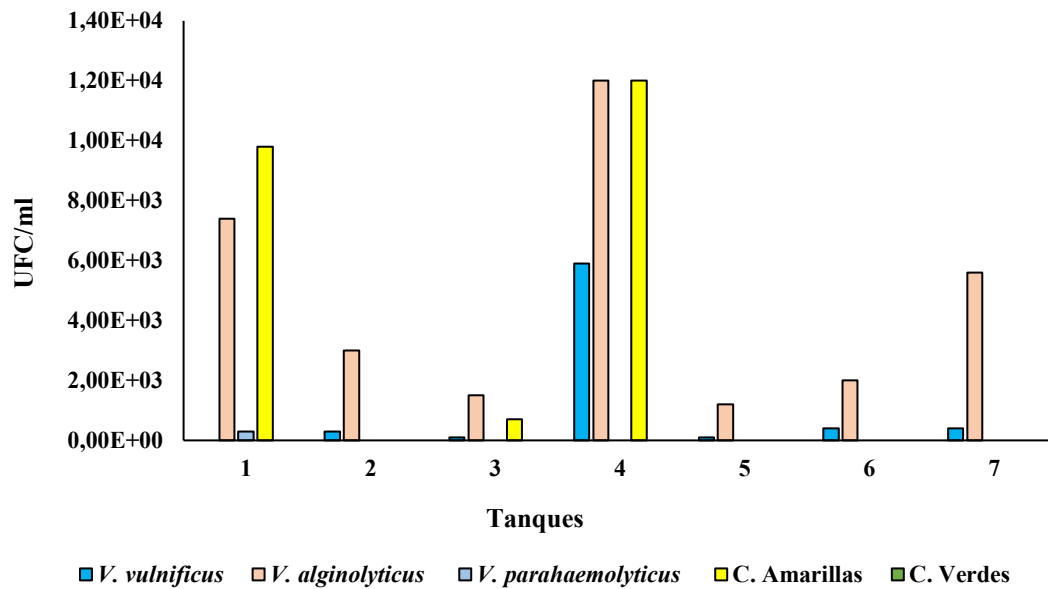


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Mysis 2 se encontró que el tanque 4 del tratamiento 1 presentó los valores máximos para *V. alginolyticus* ($1,50 \text{ E}+03$), *V. vulnificus* ($1,00 \text{ E}+02$) y colonias amarillas ($7,00 \text{ E}+02$) respectivamente. No se observaron colonias verdes y *V. parahaemolyticus* (Figura 17). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,158$).

Figura 17

Carga bacteriana presente en el ciclo de producción 1 del estadio Mysis 2.

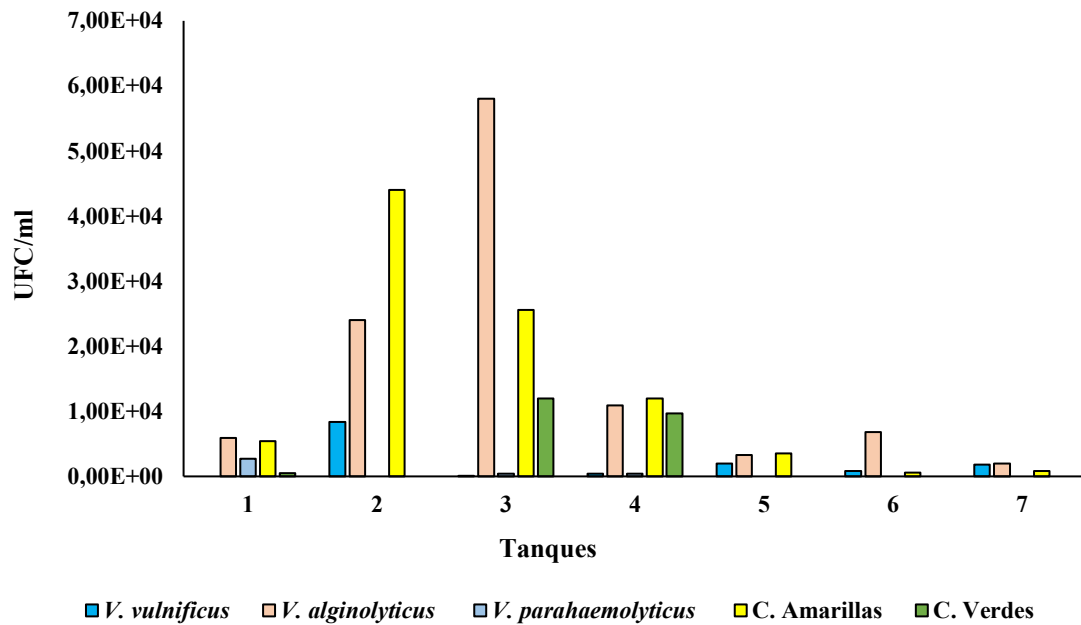


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Mysis 3 se encontró que el tanque 2 del tratamiento 1 presentó los valores máximos para *V. alginolyticus* (2,40 E+04), *V. vulnificus* (8,40 E+03) y colonias amarillas (4,40 E+04) respectivamente. En cambio, en el tanque 3 del mismo tratamiento 1 se contabilizó el valor máximo de 1,20 E+04 (Figura 18). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,176$).

Figura 18

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio Mysis 3.

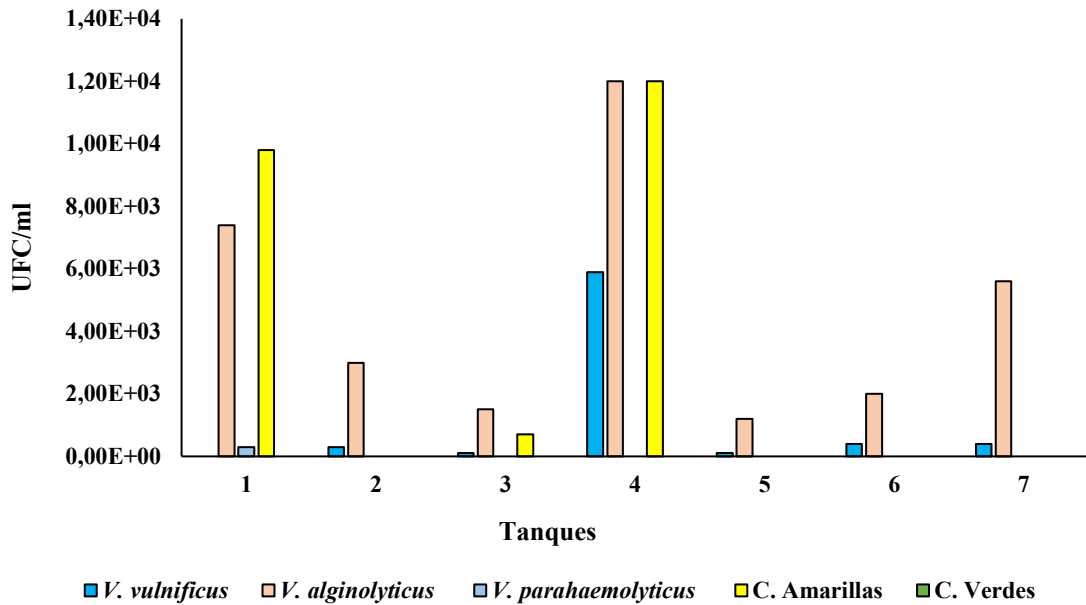


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Post larva 2 se encontró que el tanque 4 del tratamiento 1 presentó los valores máximos para *V. alginolyticus* (6,00 E+03), *V. vulnificus* (3,50 E+03) y colonias amarillas (7,00 E+03) respectivamente (Figura 19). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,152$).

Figura 19

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio PL2.

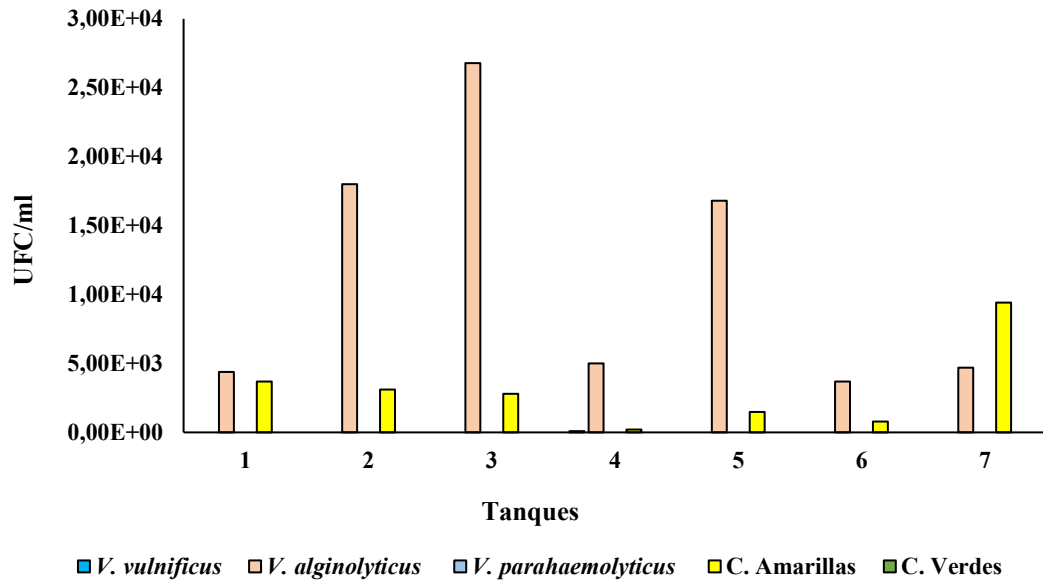


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Post larva 6 se determinó que el tanque 3 del tratamiento 1 presentó los valores máximos para *V. alginolyticus* ($2,68 \text{ E}+04$) y colonias amarillas ($9,40 \text{ E}+03$) respectivamente (Figura 19). Sin embargo, en colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* no se contabilizaron colonias (Figura 20). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,155$).

Figura 20

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio PL6.

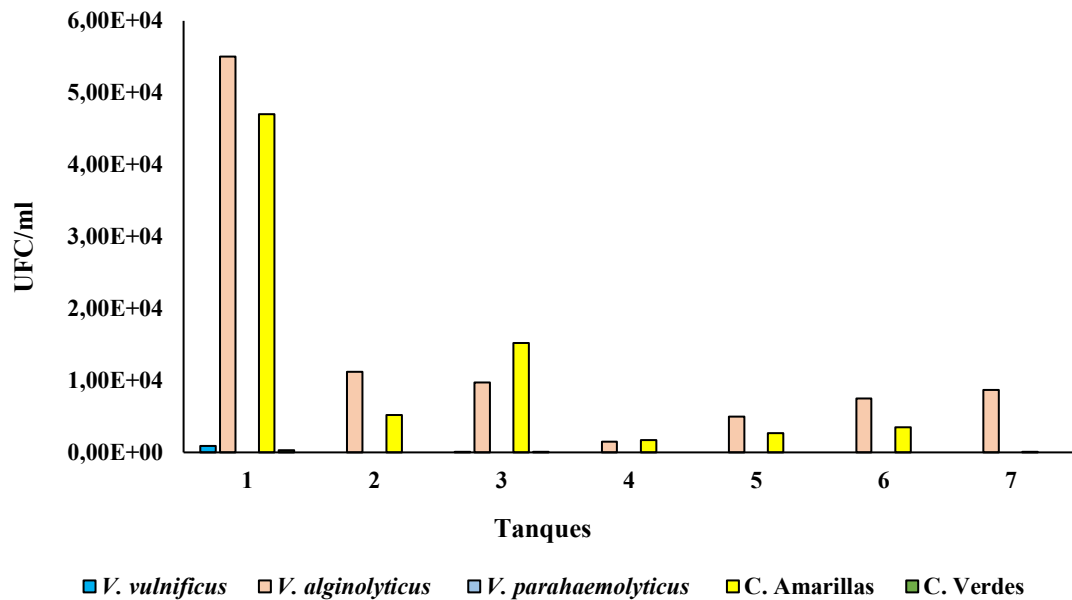


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En Post larva 10 se observó que el tanque 1 del control obtuvo valores altos para *V. alginolyticus* ($5,50 \text{ E}+04$) y colonias amarillas ($4,70 \text{ E}+04$), seguido del tanque 3 del tratamiento 1 presentó los valores máximos para *V. alginolyticus* ($9,70 \text{ E}+03$) y colonias amarillas ($1,52 \text{ E}+04$) respectivamente (Figura 21). Sin embargo, en colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* no se contabilizaron colonias (Figura 21). Cabe destacar, que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,126$).

Figura 21

Carga bacteriana en el ciclo de producción 1 del estadio PL10.

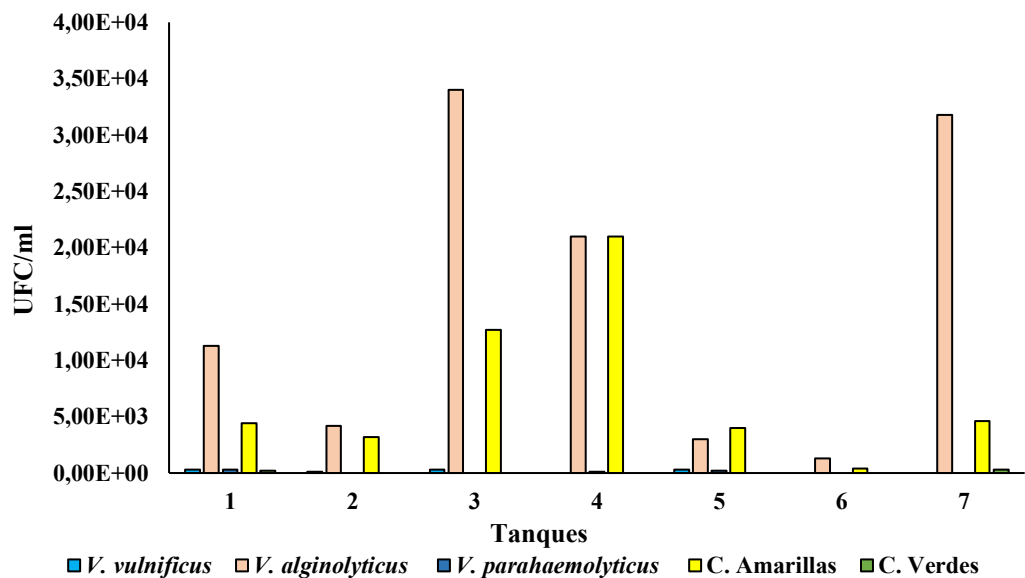


Para el ciclo de producción 2 se presentaron los siguientes resultados:

En el estadio de Nauplio 5 el tanque 3 ($3,43 \text{ E}+04$) y 7 ($3,2 \text{ E}+04$) de los tratamientos 1 y 2 respectivamente presentaron los valores máximos en *V. alginolyticus*. En colonias amarillas los valores máximos fueron para el tanque 4 de $2,1 \text{ E}+04$ (tratamiento 1), además, solamente el tanque 7 (tratamiento 2) se observó presencia de colonias verdes ($3,0 \text{ E}+02$) (Figura 22). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,140$).

Figura 22

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Nauplio 5.

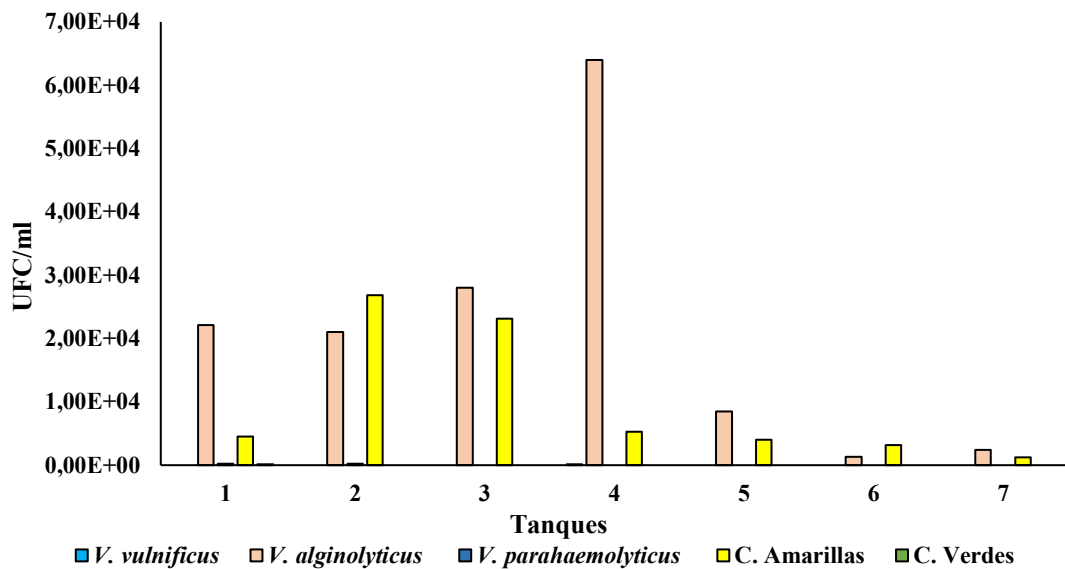


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Zoea 2 el tanque 3 (tratamiento 1) presentó los valores máximos en *V. alginolyticus* ($2,80 \text{ E}+04$). En colonias amarillas con valores altos de $2,68 \text{ E}+04$ para el tanque 2 del tratamiento 1. Sin embargo, no hubo presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 23). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,180$).

Figura 23

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Zoea 2.

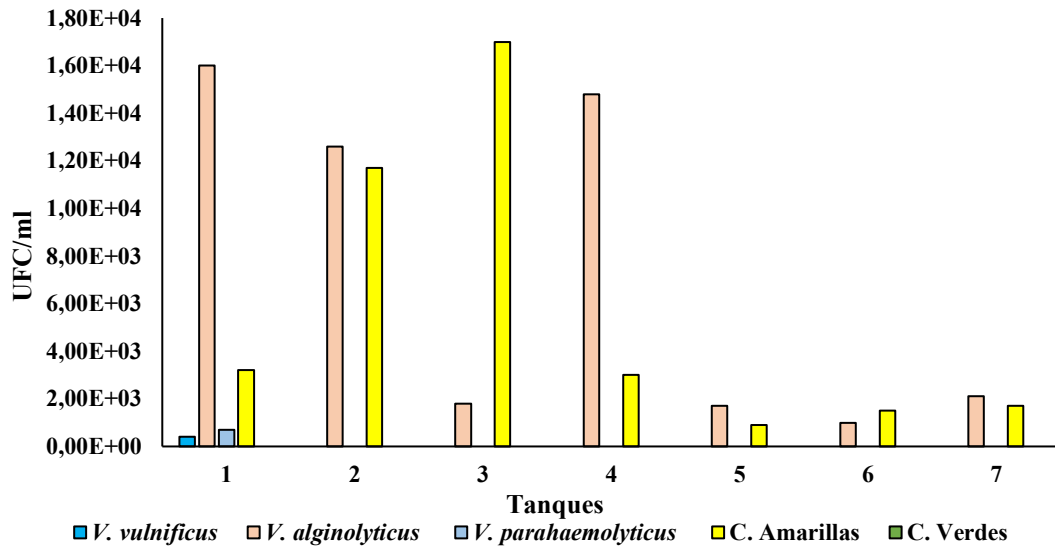


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Zoea 3 el tanque 1 (control) y en el tanque 4 presentaron los valores máximos en *V. alginolyticus* con $1,60 \text{ E}+04$ y $1,48 \text{ E}+04$ respectivamente. En colonias amarillas con valores altos de $1,17 \text{ E}+04$ para el tanque 2 del tratamiento 1. No obstante, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 24). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,196$).

Figura 24

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Zoea 3.

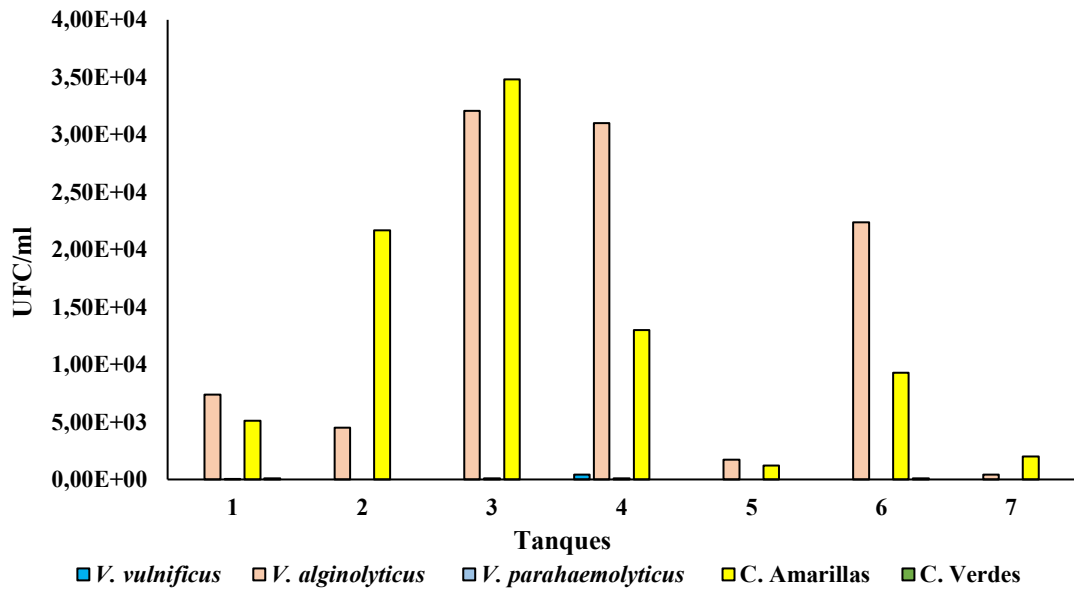


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Mysis 2 los tanques 3 y 4 del tratamiento 1 presentaron los valores máximos en *V. alginolyticus* con $3,21 \text{ E}+04$ y $3,10 \text{ E}+04$ respectivamente. El tanque 3 del mismo tratamiento resultó con valores altos de $3,48 \text{ E}+04$ para las colonias amarillas. No obstante, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 25). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,156$).

Figura 25

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Mysis 2.

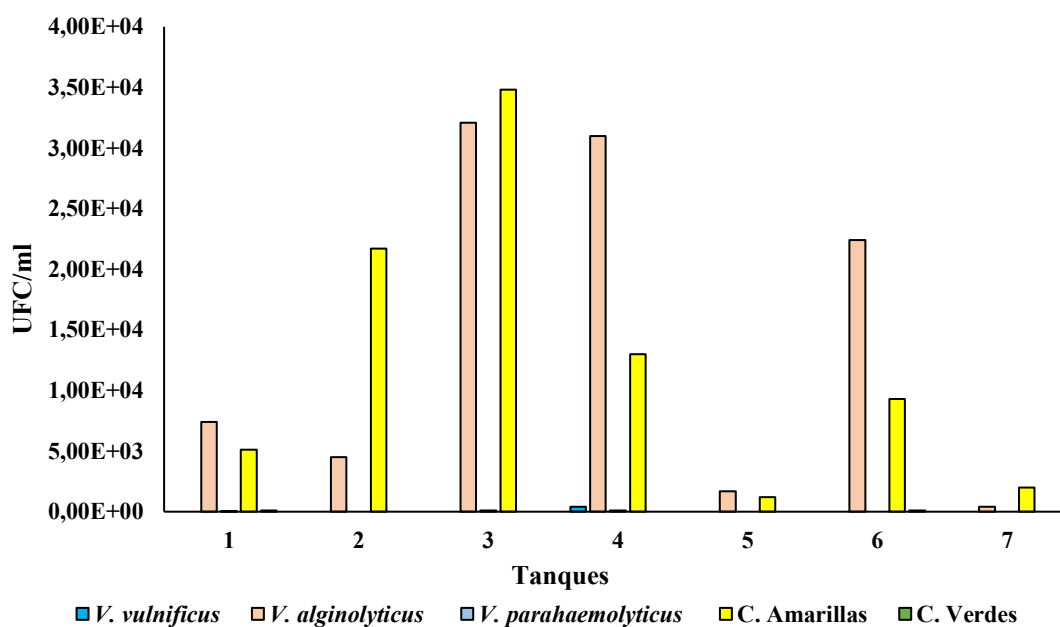


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Mysis 3 los tanques 1 (control) y 3 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* con 3,21 E+04 y 3,60 E+03 respectivamente. Así mismo, los tanques 1 y 3 para las colonias amarillas presentaron valores máximos de 1,13 E+04 y 1,80 E+03 respectivamente. Del mismo modo, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 26). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,142$).

Figura 26

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Mysis 3.

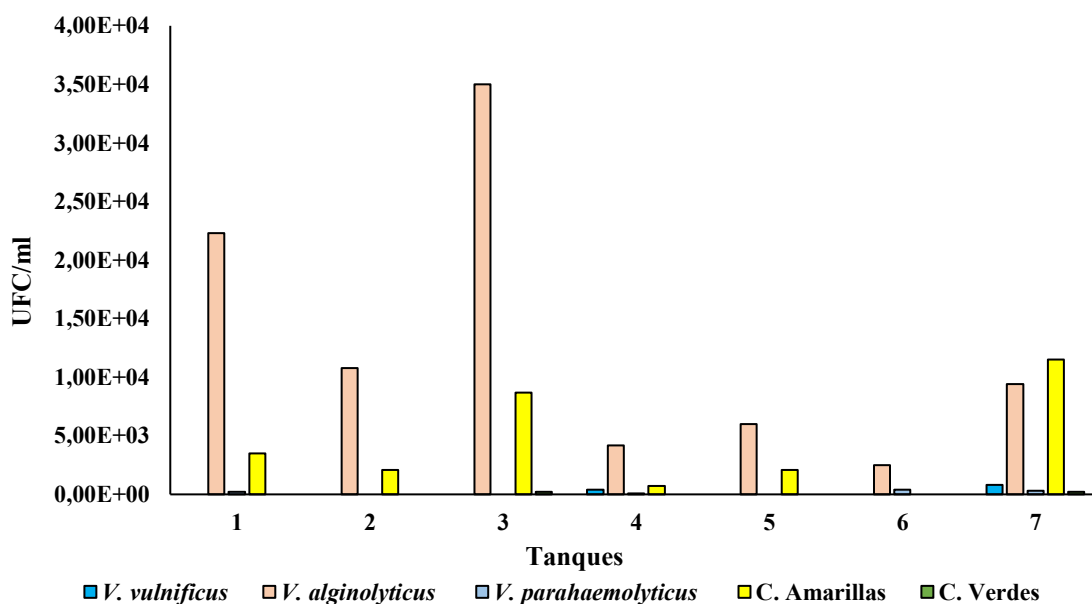


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Post larva 2 el tanque 4 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. alginolyticus* y colonias amarillas con $6,40 \text{ E}+04$ y $5,90 \text{ E}+04$ respectivamente. Así mismo, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 27). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,143$).

Figura 27

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 2.

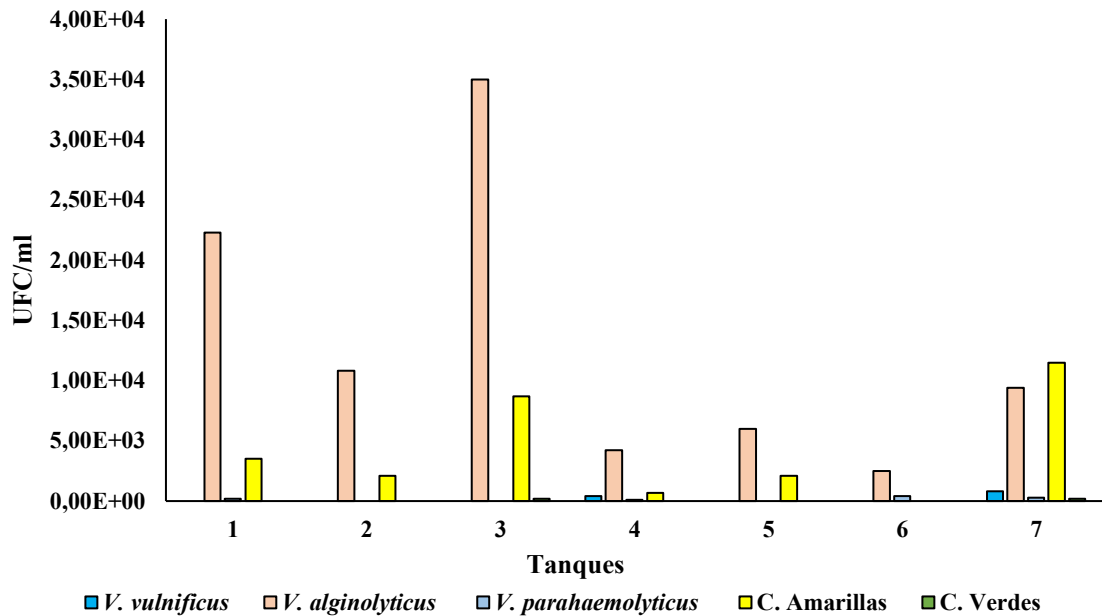


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En estadio de Post larva 6 el tanque 1 (control) y el tanque 3 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* en 2,23 E+04 y 3,50 E+04 respectivamente. Por otro lado, las colonias amarillas fueron abundantes en los tanques 3 (tratamiento 1) y 7 (tratamiento 2) con 8,70 E+03 y 1,15 E+04 respectivamente. Así mismo, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 28). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,113$).

Figura 28

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 6.

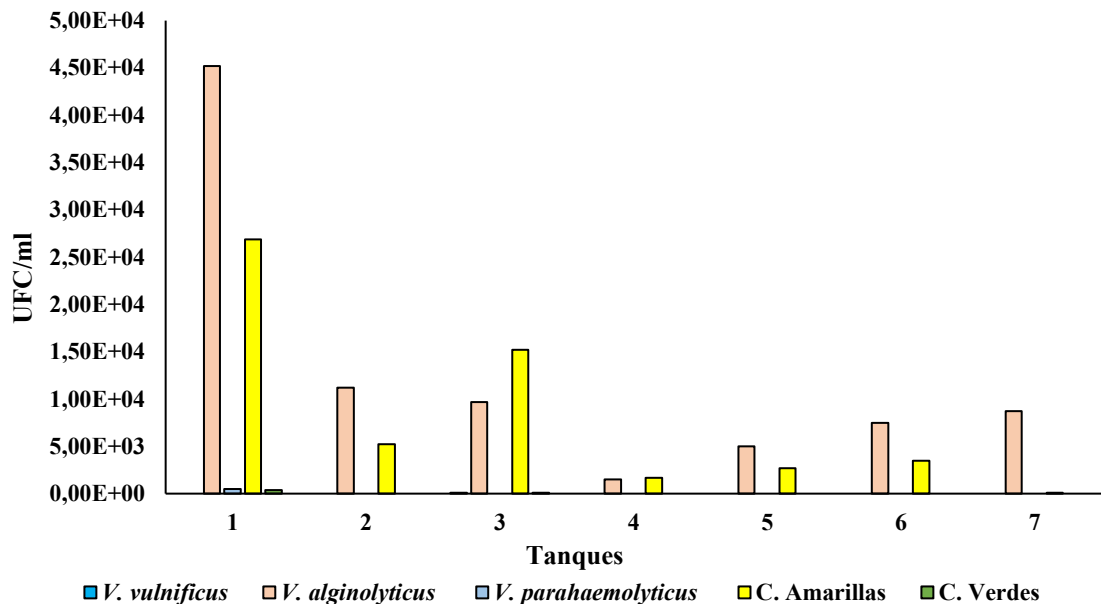


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En estadio de Post larva 10 el tanque 1 (control) y el tanque 2 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* en $4,52 \text{ E}+04$ y $1,12 \text{ E}+04$ respectivamente. En cambio, las colonias amarillas los valores máximos en los tanques 1 (control) y 3 (tratamiento 1) con $2,69 \text{ E}+04$ y $1,52 \text{ E}+04$ respectivamente. De igual manera, no hay presencia de colonias verdes, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* (Figura 29). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,193$).

Figura 29

Carga bacteriana en el ciclo de producción 2 del estadio Post larva 10.



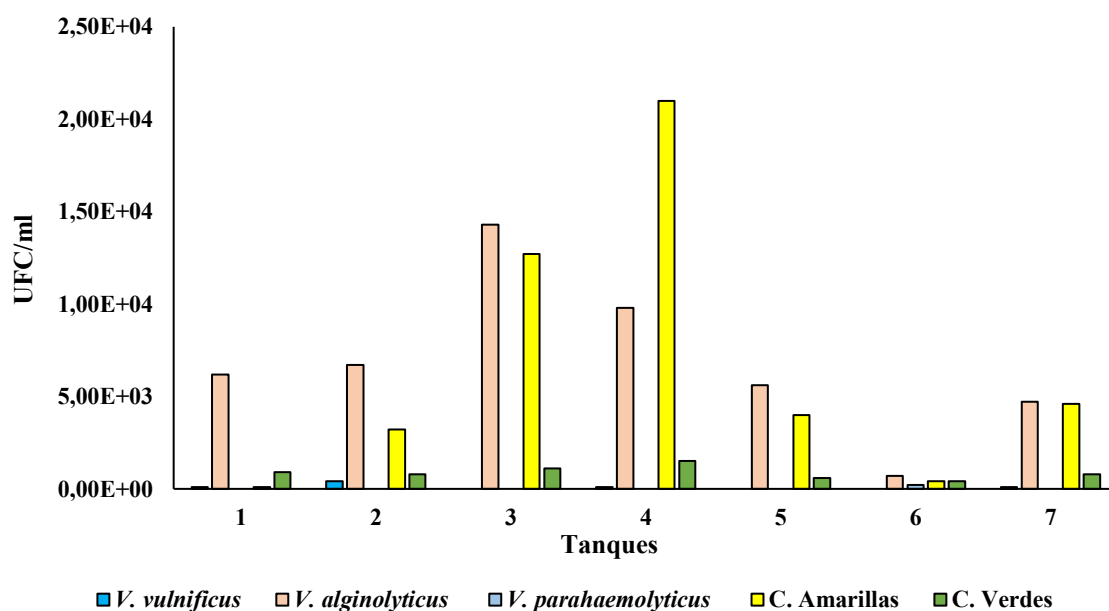
Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el ciclo de producción 3 se presentaron los siguientes resultados:

En estadio de Nauplio 5 el tanque 3 y 4 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* en $1,4 \text{ E}+04$ y $9,8 \text{ E}+04$ respectivamente. Así mismo, en colonias amarillas se obtuvieron $1,3 \text{ E}+04$ y $2,1 \text{ E}+04$ respectivamente. También, en el tanque 4 se determinó colonias verdes en $1,5 \text{ E}+03$ como valor máximo. Por otro lado, se hace necesario mencionar que no hay presencia de *V. parahaemolyticus* (Figura 30). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,113$).

Figura 30

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Nauplio 5

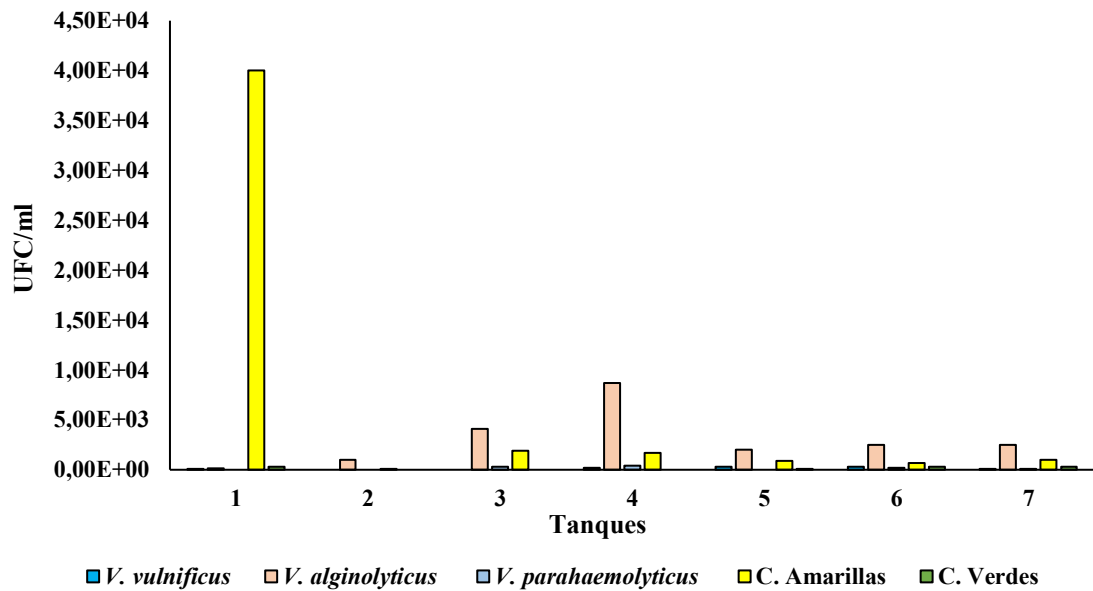


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Zoea 2 el tanque 4 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. alginolyticus* con 8,70 E+03. En cambio, se obtuvo en los tanques 1 (control), 3 y 4 (tratamiento 1) colonias amarillas en abundancia con 4,00 E+04, 1,90 E+03 y 1,70 E+03 respectivamente (Figura 31). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,148$).

Figura 31

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Zoea 2

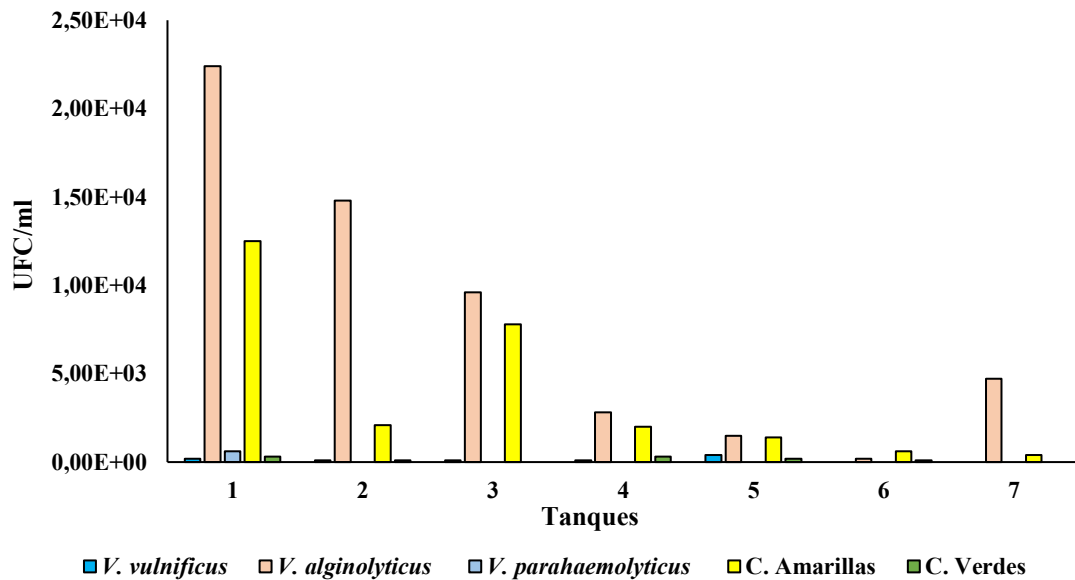


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

En el estadio de Zoea 3 los tanques 1 (control) y 2 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* con 2,24 E+04 y 1,48 E+04. Igualmente, se obtuvo en el tanque 1 (control) abundancia de colonias amarillas con 1,25 E+04 y en el tanque 3 7,80 E+03 (Figura 32). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,121$).

Figura 32

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Zoea 3

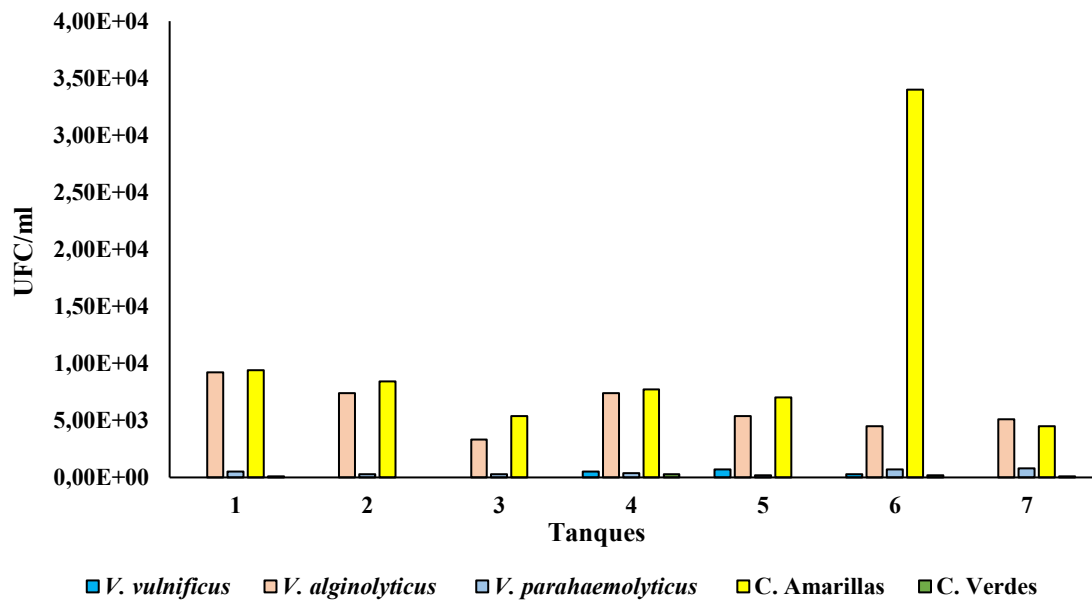


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Mysis 2 los tanques 1 (control), 2 y 4 (tratamiento 1) resultaron con valores máximos en *V. alginolyticus* con $9,20 \text{ E}+03$ y $7,40 \text{ E}+03$ (para ambos tanques 2 y 4). Por otro lado, se obtuvo en el tanque 6 (tratamiento 2) valores máximos de colonias amarillas con $3,40 \text{ E}+04$ (Figura 33). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,143$).

Figura 33

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Mysis 2

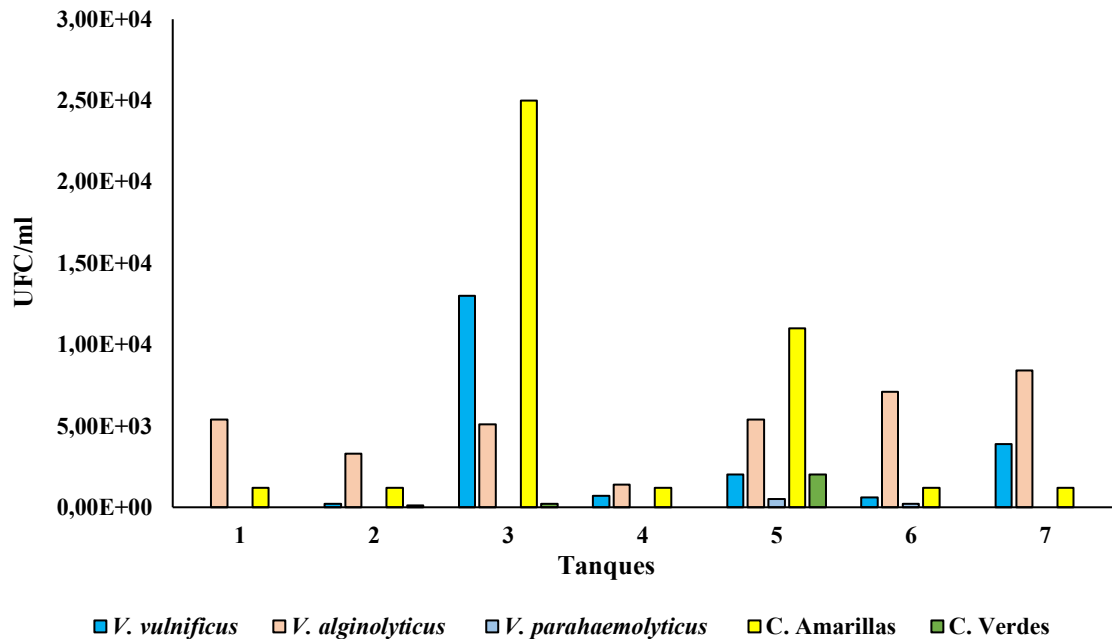


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Mysis 3 el tanque 3 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. vulnificus* y colonias amarillas con $1,30 \text{ E}+04$ y $2,50 \text{ E}+04$. En cambio, se obtuvo en el tanque 7 (tratamiento 2) valores máximos de *V. alginolyticus* con $8,40 \text{ E}+03$ (Figura 34). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,122$).

Figura 34

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Mysis 3

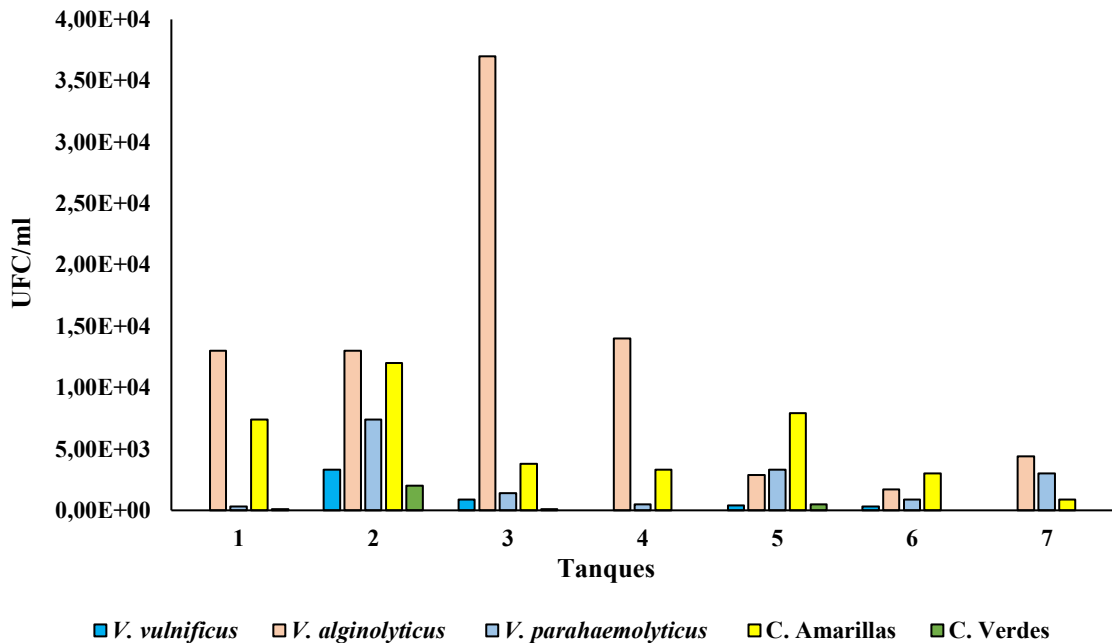


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Post larva 2 el tanque 2 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. vulnificus* ($3,30 \text{ E}+03$), *V. parahaemolyticus* ($7,40 \text{ E}+03$), colonias amarillas ($1,20 \text{ E}+04$) y colonias verdes ($2,00 \text{ E}+03$). En cambio, valores máximos se determinaron en *V. alginolyticus* con $3,70 \text{ E}+04$ para el tanque 3 (tratamiento1) (Figura 35). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,141$).

Figura 35

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Post Larva 2

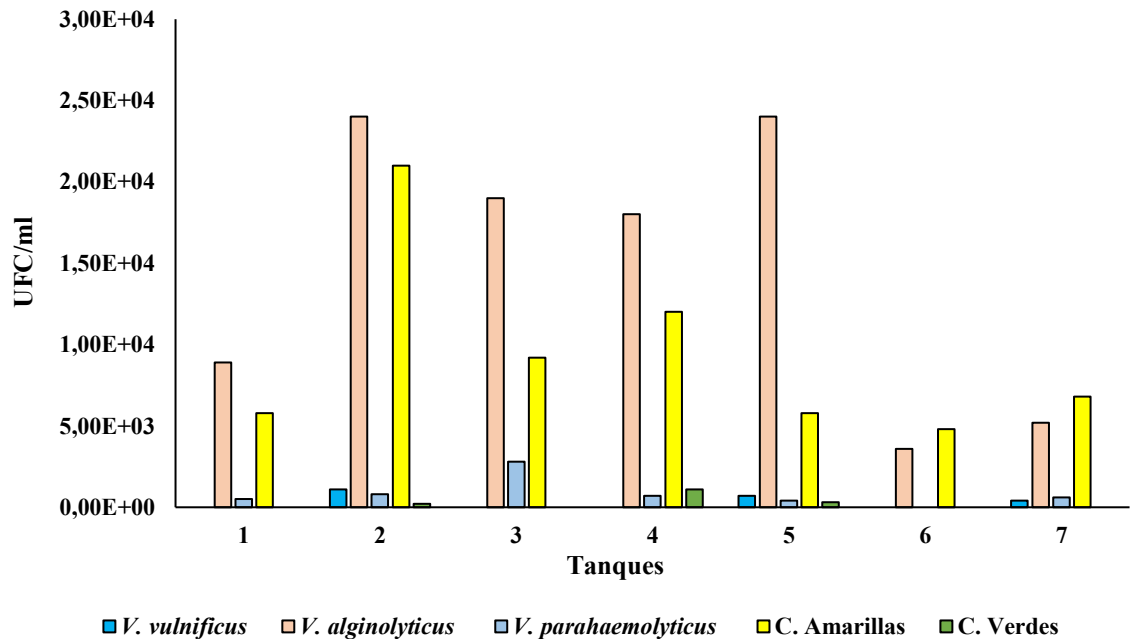


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Post Larva 6 el tanque 2 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y colonias amarillas con 1,10 E+04, 2,40 E+04 (también en tanque 5) y 2,10 E+04 respectivamente. En cambio, se obtuvo en el tanque 3 (tratamiento 1) valores máximos de *V. parahaemolyticus* con 2,80 E+03 (Figura 36). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,143$).

Figura 36

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Post Larva 6

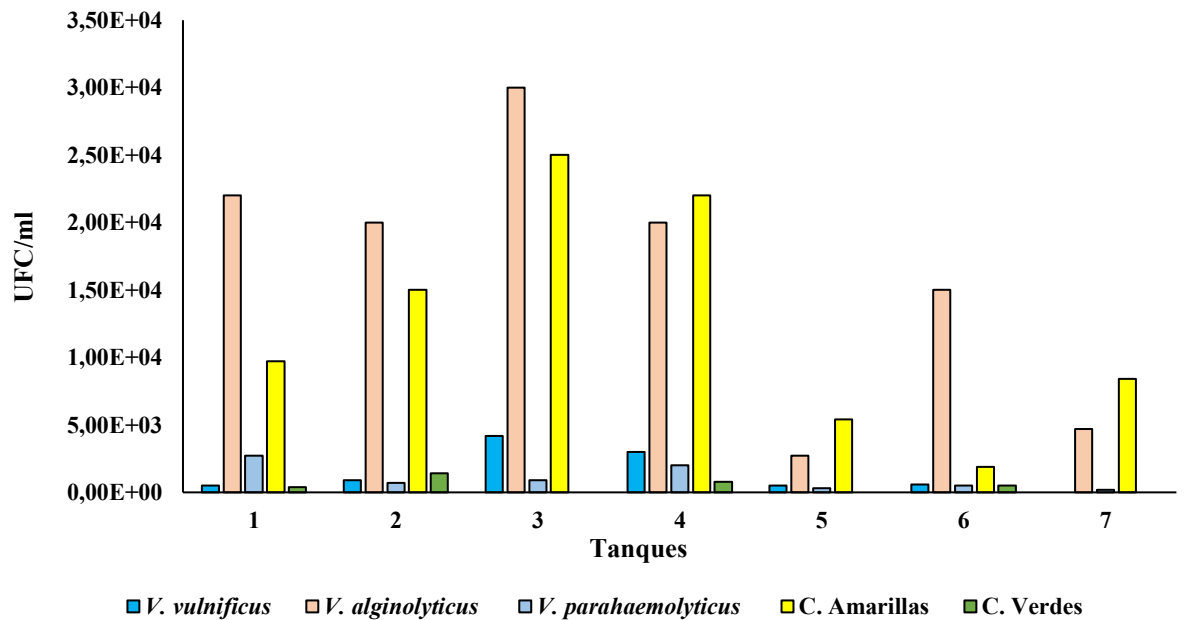


Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

Para el estadio de Post Larva 10 el tanque 3 (tratamiento 1) resultó con valores máximos en *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y colonias amarillas con 4,20 E+03, 3,00 E+04 y 2,50 E+04 respectivamente. En cambio, se obtuvo en el tanque 1 (control) valores máximos de *V. parahaemolyticus* con 2,70 E+03. Además, en colonias verdes se obtuvo valores máximos de 1,40 E+03 en el tanque 2 (tratamiento 1) (Figura 37). Cabe indicar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,171$).

Figura 37

Carga bacteriana en el ciclo de producción 3 del estadio Post Larva 10



Nota: Resultados de los valores de carga bacteriana representados por barra de cada tanque

8.4. Costos de producción

El uso de probióticos activados implicó una reducción en los costos de producción, debido al aumento en la supervivencia larval y la mejora en la eficiencia del cultivo, convirtiéndose en una estrategia viable, segura y sostenible en la siembra de camarones.

Por lo que, en la Tabla 4 se resume la presentación y el valor de los reactivos utilizados durante el presente trabajo.

Tabla 4.

Valor en dólares y presentación en el mercado de los reactivos usados

Reactivos	Presentación	Valor del producto
(P1)	4 L	\$ 29,00
(P2)	500 g	\$ 81,95
(P3)	4 K	\$ 145,00
(P4)	4 L	\$ 22,00
(P5)	500 g	\$ 40,00
(P6)	500 g	\$ 40,00
MELAZA	25 L	\$ 10,00
AGUA DESTILADA	4 L	\$ 5,00

Nota: Valor de los productos utilizados para los tratamientos.

Para conocer si existió un ahorro en los costos de producción se estableció un promedio de las cantidades de probióticos utilizadas por estadio larvario en los tres tanques de prueba (3, 4, 5) del tratamiento 1 dando como resultado que P2 (1944 Kg) resultó en menor uso y costo del producto (Tabla 5).

Tabla 5*Dosificación de probióticos empleada por estadio en el tratamiento 1*

TRATAMIENTO 1						
ESTADIO	P1 / g	P2 / g	P3 / g	P4 / g	P5 / g	P6 / g
NAUPLIO 5	9	9	9	9	9	9
ZOEA	121,5	81	81	121,5	81	81
MYSIS	324	108	216	324	162	162
POSTLARVA	2700	450	1350	1800	675	675
TOTAL	3155	648	1656	2255	927	927
TOTAL 3 CORRIDAS	9463,5	1944	4968	6763,5	2781	2781

Nota: Valores en gramos

Para el tratamiento 2 se estableció un promedio de las cantidades de probióticos utilizadas por estadio larvario en los tres tanques de prueba (6, 7, 8) del tratamiento dando como resultado (Tabla 12). Cabe mencionar, que para todos los tratamientos se utilizó 1000 ml de melaza y agua destilada.

Tabla 6*Dosificación de probióticos empleada por estadio en el tratamiento 2*

TRATAMIENTO 2						
ESTADIO	P1 g o ml	P2 g o ml	P3 g o ml	P4 g o ml	P5 g o ml	P6 g o ml
ZOEA	2,025	2,025	5,4	4,05	2,025	2,025
MYSIS	8,1	8,1	21,6	16,2	8,1	8,1
POSTLARVA	63	63	168	126	63	63
TOTAL	73	73	195	146	73	73
TOTAL 3 CORRIDAS	219,37	219,37	585	438,75	219,37	219,37

Nota: Valores en gramos

Al comparar el uso de reactivos entre los tratamientos 1 y 2, se observa una diferencia significativa en la cantidad total utilizada y en el costo proporcional de cada insumo. En el Tratamiento 1, el consumo de probióticos fue considerablemente más alto, con valores que superan los 9 kg en el caso de P1 y más de 6,7 kg en P4, lo que se traduce en un costo total estimado por 1306 toneladas totales del laboratorio (Tabla 7).

Tabla 7

Costos estimados por reactivos en tratamiento 1.

Reactivo	Cantidad en 3 ciclos (g o ml)	Presentación (g o ml)	Valor comercial	Costo estimado	Reactivo por toneladas (g o ml)	Estimación por la cap. Del laboratorio (g o ml)	Costo estimado por la cap. Del laboratorio
P1	9463,5	4000	\$29	\$68,61	1352	1765619	\$12.800,7
P2	1944	500	\$82	\$318,62	278	362695	\$59.445,7
P3	4968	4000	\$145	\$180,09	710	926887	\$33.599,6
P4	6763,5	4000	\$22	\$37,20	966	1261876	\$6.940,3
P5	2781	500	\$40	\$222,48	397	518855	\$41.508,4
P6	2781	500	\$40	\$222,48	397	518855	\$41.508,4

Nota: Los costos se calcularon según la cantidad de reactivo usada en tres corridas y se proyectaron para la capacidad total del laboratorio, tomando en cuenta la presentación comercial y su valor en el mercado.

Por otro lado, el Tratamiento 2 se caracterizó por una dosificación optimizada de los probióticos activados, logrando el objetivo productivo con cantidades que no superan los 600 g por reactivo (Tabla 8).

Tabla 8.

Costos estimados por reactivos en tratamiento 2.

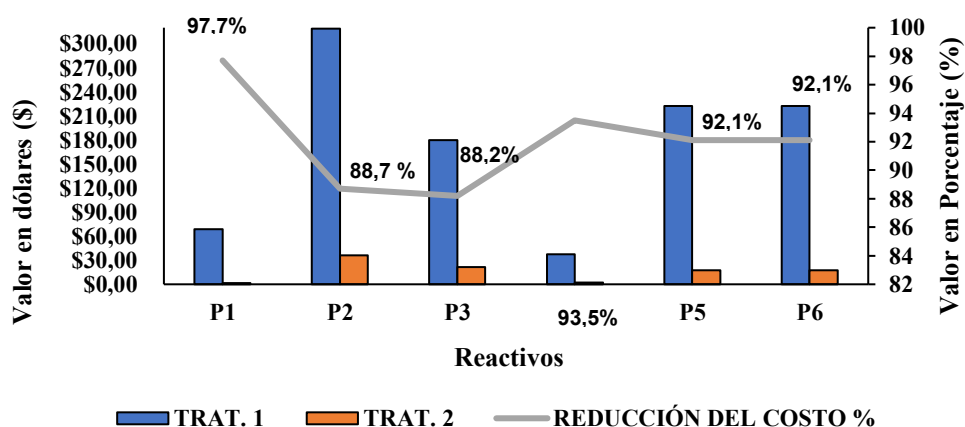
Reactivo	Cantidad en 3 ciclos (g o ml)	Presentación (g o ml)	Valor comercial	Costo estimado	Reactivo por toneladas (g o ml)	Estimación por la cap. Del laboratorio (g o ml)	Costo estimado por la cap. Del laboratorio
P1	219,37	4000	\$29	\$1,6	31,34	40928	\$296,7
P2	219,37	500	\$82	\$36,0	31,34	40928	\$6.708,1
P3	585	4000	\$145	\$21,2	83,57	109144	\$3.956,5
P4	438,75	4000	\$22	\$2,4	62,68	81858	\$450,2
P5	219,37	500	\$40	\$17,5	31,34	40928	\$3.274,3
P6	219,37	500	\$40	\$17,5	31,34	40928	\$3.274,3

Nota: Los costos se calcularon según la cantidad de reactivo usada en tres corridas y se proyectaron para la capacidad total del laboratorio, tomando en cuenta la presentación comercial y su valor en el mercado.

Finalmente, en la Figura 38 podemos observar las diferencias de costos:

Figura 38

Reducción de costos de los tratamientos utilizados



Nota: Comparación del costo estimado de los seis reactivos utilizados en dos tratamientos distintos, incluyendo el cálculo del porcentaje de reducción entre ambos.

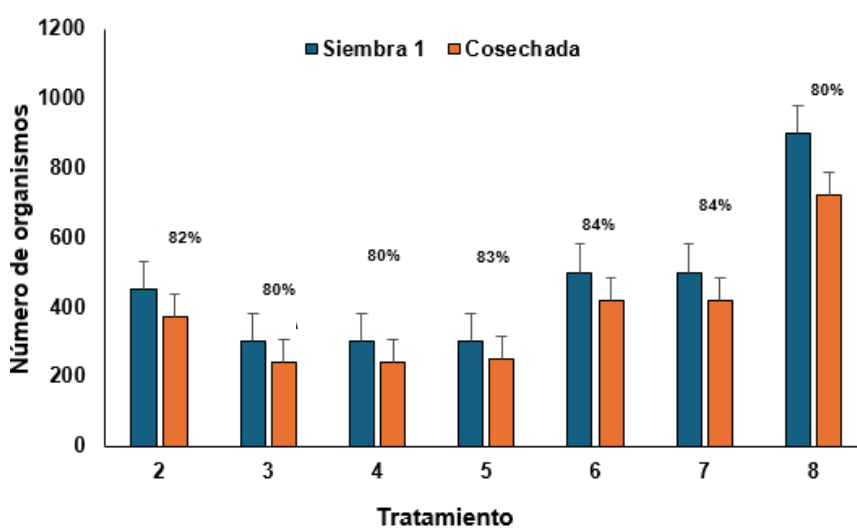
8.5. Supervivencia

Para conocer la efectividad de los productos utilizados durante las corridas se determinó la supervivencia de cada cosecha al final de la misma.

Para el ciclo de producción 1 se observó que existió mejor efectividad para el tratamiento 2 (T6, T7 y T8) al corresponder un máximo de 84 % cosechado en cuanto a supervivencia. Cabe mencionar, que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los datos ($p=0,302$) (Figura 39).

Figura 39

Número de organismos sembrados y cosechados durante el ciclo de producción 1

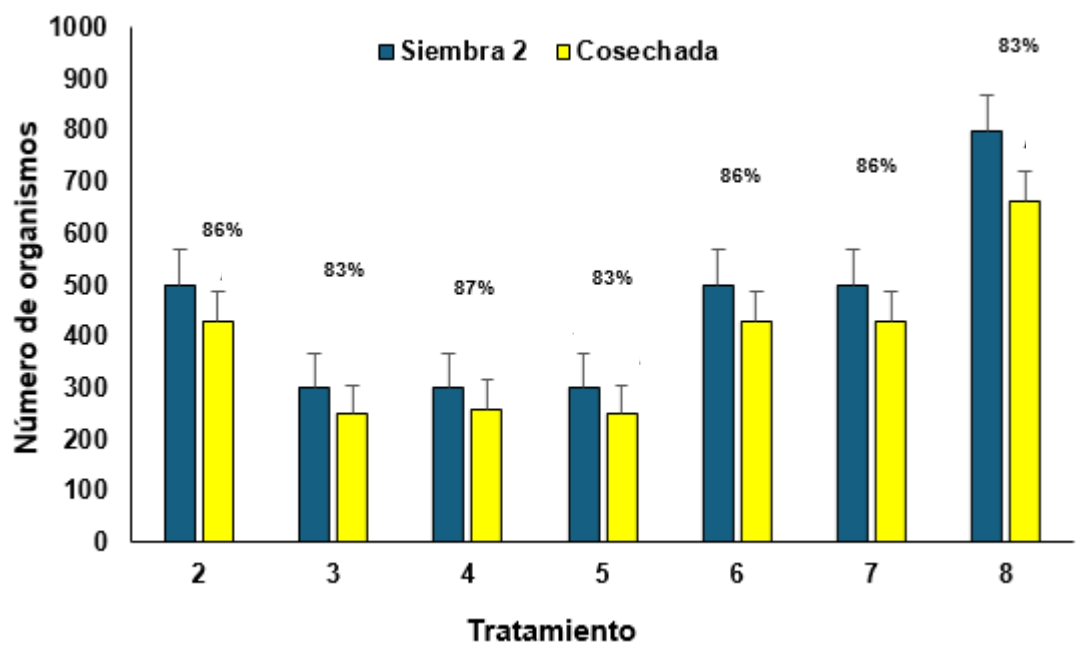


Nota: La efectividad de los productos usados se puede observar en los porcentajes de supervivencia localizados encima de las barras.

Para el ciclo de producción 2 se observó diferencias ya que tratamiento 1 (T3, T4 y T5) logró mayor efectividad de supervivencia hasta en un 87 % de los organismos sembrados. Cabe decir, que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los datos ($p = 0,306$) (Figura 40).

Figura 40

Número de organismos sembrados y cosechados durante el ciclo de producción 2

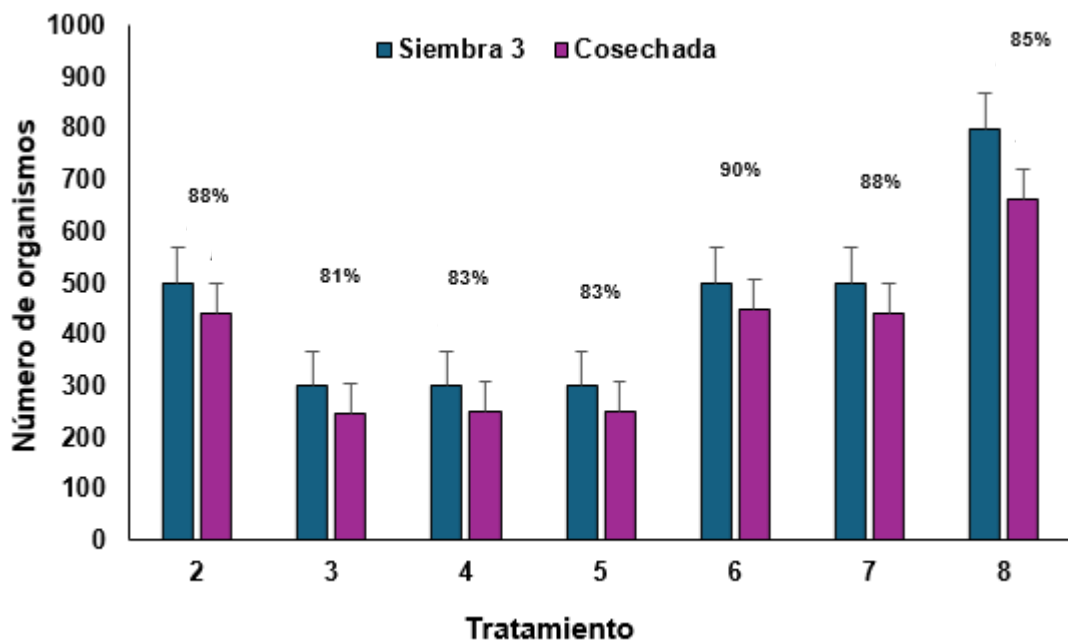


Nota: La efectividad de los productos usados se puede observar en los porcentajes de supervivencia localizados encima de las barras.

En ciclo de producción 3 se puede determinar otra vez que el tratamiento 2 (T6, T7 y T8) resulta ser el de mayor efectividad durante la cosecha ya que se contabilizó hasta un 90 % de supervivencia de los organismos que fueron sembrados (Figura 41). Del mismo modo, que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los datos ($p = 0,301$).

Figura 41

Número de organismos sembrados y cosechados durante el ciclo de producción 3



Nota: La efectividad de los productos usados se puede observar en los porcentajes de supervivencia localizados encima de las barras.

9. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación destacan la importancia fundamental de la activación previa de probióticos para maximizar su eficacia en la larvicultura de *Penaeus vannamei*. La cinética bacteriana observada demuestra que los probióticos activados exhiben un comportamiento más eficiente, alcanzando picos de crecimiento entre las 12 y 48 horas, lo que coincide con la fase exponencial descrita por Fernández et al. (2024). Esto ayuda a confirmar la viabilidad del uso de las bacterias tras activarlas con sustratos (melaza), además de evidenciar el potencial para establecerse en el tracto digestivo de las larvas y en el medio acuático de forma rápida, impactando positivamente desde las primeras etapas del cultivo.

Por otro lado, los medios de cultivo Chromagar Bacillus y Agar MRS permitieron visualizar el comportamiento general de estas cepas y sus diferencias. En el caso del Chromagar Bacillus, los probióticos P2, P3 y P5 mostraron los valores más altos de crecimiento, indicando una adaptabilidad superior, mientras que en Agar MRS, P2 y P5 también se destacaron con un crecimiento rápido a las 12 horas. Esta variabilidad entre cepas está alineada con lo propuesto por Abakari et al. (2021) y Kuebutornye et al. (2019), quienes sugieren que ciertas especies, particularmente del género *Bacillus* y *Lactobacillus*, poseen ventajas competitivas naturales en la colonización de ambientes acuáticos debido a su capacidad de

producir metabolitos antimicrobianos, resistir condiciones ambientales adversas y modular positivamente la microbiota intestinal del hospedador.

El control efectivo del *Vibrio* spp. mediante el uso de probióticos activados también fue evidente en esta investigación. La aplicación de cepas seleccionadas resultó en una disminución de las colonias patógenas identificadas en medios como TCBS y CHROMAGAR VIBRIOS, validando lo reportado por Mandujano (2014) sobre la capacidad de los probióticos para modular el equilibrio bacteriano del ecosistema acuático y proteger al organismo hospedador. En este sentido, la integración de probióticos activados como estrategia preventiva refuerza las recomendaciones de Castañeda (2018), quien destaca su aplicación como una alternativa viable frente al uso excesivo de antibacterianos.

A nivel de salud larvaria, los resultados indican mejoras evidentes en los tanques donde se aplicaron probióticos activados. Las observaciones microscópicas mostraron un menor grado de necrosis branquial, apendicular y muscular, así como un mejor desarrollo de las branquias y mayor cantidad de lípidos hepatopancreáticos, factores que están estrechamente relacionados con una adecuada asimilación de nutrientes y con una microbiota intestinal saludable (Amoah et al., 2019; Akhter et al., 2015). Además, las mejoras biológicas mencionadas pueden atribuirse a los mecanismos de acción de los probióticos

usados, incluyendo la producción de sustancias antimicrobianas, respuesta inmune y exclusión competitiva de patógenos (Romero y Menchan, 2018; Guarner et al., 2017).

Por otra parte, se constató una mejor significativa en la calidad del agua de los sistemas que fueron usados para la activación del probiótico. Los parámetros principales como alcalinidad, pH, etc., se mantuvieron en rangos ideales para las larvas, indicando así una reducción en la acumulación de compuestos tóxicos nitrogenados.

Esto está en línea con las observaciones de Yao, Zhang y Juventus (2020), quienes señalan que los probióticos pueden reducir la carga orgánica y mejorar los parámetros fisicoquímicos del agua mediante procesos de desnitrificación heterótrofa y competencia ecológica.

Además, la estabilización de la microbiota en el agua del cultivo disminuye el riesgo de proliferación de bacterias patógenas, como las del género *Vibrio*, identificadas como las principales responsables de patologías en sistemas de larvicultura (RAO, 2024; Abdel – Latif et al., 2022).

Desde una perspectiva nutricional, la eficacia y eficiencia de los probióticos está probablemente más ligada a la fisiología del sistema digestivo de las larvas, es decir, que una nutrición temprana y adecuada permitirá una mejor interacción entre el microbioma intestinal de las mismas y los probióticos, favoreciendo su colonización y acción sinérgica (Garibay et al., 2020; Villaseñor, 2015). Así mismo, se podría mencionar que se genera un ciclo positivo ya que las larvas digieren mejor los nutrientes, fortaleciendo a su vez el sistema inmunológico y reduciendo la susceptibilidad a enfermedades, contribuyendo a una mayor supervivencia larval.

El uso de probióticos activados represento una estrategia rentable en el plano económico del cultivo realizado en el presente trabajo, y que a pesar, del requerimiento inicial de activación y tiempo (melaza), demostró ser excelente para el aumento significativo de la supervivencia larvaria, derivando así un ahorro considerable de los costos de producción, aparte de la menor necesidad de intervención sanitaria y antibióticos o tratamiento químicos. Esto hace referencia a lo mencionado por Prentu (2016) y Toral (2015), quienes ya proponían el uso de estrategias biotecnológicas como una solución sostenible y económica en acuicultura.

Finalmente, se acepta la hipótesis nula, es decir que la aplicación de probióticos activados convencionalmente actúan en la eficiencia del control de

calidad de agua y control biológico que se evidencian en la sobrevivencia obtenida. Además, esta investigación subraya la relevancia de implementar protocolos de bioseguridad que incluyan el uso de probióticos activados como parte integral del manejo sanitario. Al ser capaces de reducir la incidencia de enfermedades, mejorar la calidad del agua y fortalecer la salud larval, los probióticos se presentan como una herramienta esencial para garantizar una producción más eficiente, rentable y sostenible.

Esto se alinea con los principios de la acuicultura moderna, que busca minimizar el impacto ambiental y optimizar el bienestar de los organismos cultivados (Pérez et al., 2021; Verschuere et al., 2000).

10. CONCLUSIONES

La activación previa de probióticos comerciales mejoró significativamente la cinética bacteriana, alcanzando concentraciones máximas entre las 12 y 48 horas. Por ejemplo, en medio Chromagar Bacillus, P3 alcanzó hasta 360 UFC/ml, y en MRS, P5 mostró un crecimiento de 294 UFC/ml a las 12 horas, reflejando un comportamiento óptimo para su aplicación en sistemas larvarios.

El uso de probióticos activados demostró una mejora clara en la salud larvaria, reduciendo necrosis muscular y branquial, y promoviendo mayor acumulación de lípidos hepatopancreáticos. En términos de supervivencia, se registraron tasas de hasta 90% en el tratamiento 2, frente a un 84% y 87% en las otras corridas, reflejando la eficacia del protocolo implementado.

En la calidad del agua, el tratamiento con probióticos activados logró reducir los niveles promedio de amonio de 1,44 mg/L (control) a 0,94 mg/L en el tratamiento 2. Así mismo, se observaron reducciones en el NH_3 de 0,12 mg/L a 0,08 mg/L, indicando condiciones más estables y saludables para el desarrollo larvario.

La estrategia de activación previa permitió optimizar recursos productivos. Por ejemplo, el uso de probiótico P2 en el tratamiento 1 pasó de 9.463,5 ppm a tan

solo 1.944 ppm por corrida, y en el tratamiento 2 bajó hasta 219,375 ppm, generando una disminución de uso del producto de más del 75%, lo que se traduce en un ahorro económico significativo en los costos de producción

11. RECOMENDACIONES

Implementar de manera rutinaria la activación de probióticos antes de su aplicación en sistemas de larvicultura, utilizando sustratos como la melaza para potenciar su crecimiento y eficacia.

Realizar monitoreos continuos de la cinética bacteriana y de la calidad del agua para ajustar las dosis y frecuencias de aplicación de los probióticos según las condiciones del sistema de cultivo.

Integrar el uso de probióticos activados dentro de las estrategias de bioseguridad y manejo sanitario, como alternativa sostenible para la prevención de enfermedades y la mejora del rendimiento larvario.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Latif, H.; Yilmaz, E.; Dawood, A.; Ringø, E.; Ahmadifar, E.; Yilmaz, E. (2022). Vibriosis del camarón y posibles medidas de control mediante probióticos, postbióticos, prebióticos y simbióticos: una revisión. *ELSEVIER*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737951>
- Abakari, G., Luo, G., & Kombat. (2021). Dinámica de compuestos nitrogenados y su control en sistemas de tecnología biofloc (BFT). *Aquaculture and Fisheries*, 6: 441-447.
- Acuña, A. (2015). *Evaluación de dos sustratos en la dinámica del biofloc en la cría de post – larvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei, Boone 1931) EN TANQUES RACEWAYS*. Pasto, Colombia.
- Akhter, N.; Wu, B., Mahmood, A., Mohsin, M. (2015). Probióticos y prebióticos asociados a la acuicultura: una revisión. *ELSERVIER*, Vol. 45(2), 733-741. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>
- Amoah, K., Cheng, Q., Pin, B., Zhang, S., Chi, S., Hui, Q., Yu, H., Hui, X. (2019). La suplementación dietética del probiótico Bacillus coagulans ATCC 7050 mejora el crecimiento, la morfología intestinal, la microflora, la respuesta inmune y el enfrentamiento de enfermedades del camarón blanco del Pacífico, Litopenaeus vannamei. *ELSERVIER*, 796-808. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029>

- American aquarium (2024). Líderes en True UVc, Alimentos para Peces, Tratamientos y Química (AAP TM). API Test Kit y Manual. <https://www.americanaquariumproducts.com/downloads.html>
- Arana , I., Orruño, M., & Barcina , I. (2011). *Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología*. Universidad del País Vasco, Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología. Obtenido de https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf
- Bassler, B. (2002). Charla Informal: Comunicación entre células en bacterias. *CELLPRESS*, 109(4), 421-424. doi:[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00749-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00749-3)
- Bondad-Reantaso, M., et al. (2001). *Asia diagnostic guide to aquatic animal diseases* (Vol. No. 402). ROME: FAO Fisheries Technical Paper . Obtenido de <https://www.fao.org/4/y1679e/y1679e04.pdf>
- Bores, E., Civera, R., Andrade, K y Cadena, M. (2023). *Manual para la identificación de estadios larvales del camarón blanco del pacífico Litopenaeus vannamei*. Ciudad de Mexico. Obtenido de <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/2743>
- Boschi , E. y Scelzo, M. (1997). Desarrollo larval y cultivo del camaron comercial de argentina.

BRF. (2022). *Brf Ingredients*. Obtenido de <https://www.brfindredients.com/es/blog/posts/como-la-nutricion-puede-combatir-y-controlar-la-vibriosis/>

C; Lee; S; Kim y at. (2021). Los suplementos dietéticos del probiótico *Bacillus* mejoran la digestibilidad, el rendimiento del crecimiento, la inmunidad innata y el nivel de amoníaco en el agua del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult.*, int. 29.

Campa, A., y Morales, Y. (2020). Evaluación de la respuesta productiva e inmune en juveniles de camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con mezclas probióticas. *Revista de biología marina y oceanografía*, 55(1), 7-78. doi:<http://dx.doi.org/10.22370/rbmo.2020.55.1.2394>

Cappuccino, J. (2017). *Microbiology. A Laboratory Manual*. Editorial Pearson. 155 pp.

Castañeda Guillot, C. (2018). Probióticos, puesta al día. *Revista Cubana de Pediatría*, 90, 286-298.

Chireno. (2018). *Piscicultura Eco Sostenible Chireno - Uso de probióticos en acuicultura*. Obtenido de [Pisciculturaecososteniblechireno.com](https://www.pisciculturaecososteniblechireno.com): <https://www.pisciculturaecososteniblechireno.com/blog/entradas/uso-de-probi%C3%B3ticos-en-acuicultura>

Crespi, V. (2009). *Aquaculture in Desert and Arid Lands: Development Constraints and Opportunities*. FAO Technical Workshop. 6–9 July 2010, Hermosillo,

Mexico. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 20. FAO; 2011: 159-185.

CSA, S. A. (1 de junio de 2021). Obtenido de ¿Qué es la cinética microbiana?: <https://csaconsultores.com/que-es-la-cinetica-microbiana/>

Cobo, R., L. Pérez. (2018). *Aspectos generales del cultivo y la genética del camarón blanco del Pacífico Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 35 (1): 18 – 23.

Cuellar, J. (2013). *Vibriosis*. The center of Food Security & Public Health - Iowa State University. Obtenido de <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/vibriosis-in-shrimp-es.pdf>

Danial Haris; Jasmin Yaminudin & at. (2024). Utilización de piensos comerciales y microdietas con probióticos en el cultivo de camarones peneidos. *Latin American Journal of Aquatic Research formerly Investigaciones Marinas*, 52 (3): 350-367.

Esther, C. B.-G. (9 de 2013). *Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón Litopenaeus vannamei (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intenso*. Obtenido de *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215–1228.: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400018

- Fernández, L., Javelle, A. y Hoskisson, P. (2024). Introducción microbiana: cinética del crecimiento bacteriano. *Nacional Library of Medicine, 170*(2). doi: doi: 10.1099/mic.0.001428
- Garibay, E., Martínez, M., Calderón, K., Gollas – Galván, T., Martínez – Córdova, L., Vargas – Alborés, F. y Arvayo, M. (2020). La microbiota del tracto digestivo de camarones peneidos: una perspectiva histórica y estado del arte. *SciELO, 22*(1). doi:<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1119>
- Guarner, F., Sanders, M. Szajewska, H., Cohen, H., Eliakim, R., Herrera, C., Karakan, T., Merenstein, D., Piscocoy, A., Ramakrishna, B. y Salminen(2017). Probióticos y Prebióticos. *Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología.*, 35. Obtenido de <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
- Hong , H. (04 de SEPTIEMBRE de 2005). *El uso de formadores de esporas bacterianas como probióticos.* Obtenido de <https://academic.oup.com/femsre/article/29/4/813/493366?login=false>
- Jahangiri, L., y Esteban, M. (2018). Administración de probióticos en el agua en sistemas de acuicultura. *Fishes, 3*, 33.
- Kaktcham, P., Temgoua, J., Zambou, N., Díaz-Ruíz, G., Wachter, C. y Pérez – Chabela, L.(2017). Análisis cuantitativo de la microbiota bacteriana del ambiente de crianza de tilapia y carpa común cultivadas en estanques de tierra y actividad inhibitoria de sus bacterias ácido lácticas sobre el deterioro

del pescado y bacterias patógenas. *World J Microbiol Biotechnol*, 33.
doi:<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2197-y>

Kuebutornye, F., Abarike, E. & Lu, Y. (2019). A review on the application of Bacillus as probiotics in aquaculture. *Fish & shellfish immunology*, 87, 820-828. doi:DOI:10.1016/j.fsi.2019.02.010

Loza, V. (2023). *Evaluación de la eficiencia de 3 probióticos comerciales como controladores de bacterias patógenas en tanques de larvas de camarón blanco (Litopenaeus vanammei) en un laboratorio de producción de larvas de camarón en Mar Bravo – Ecuador.*

Maibunkaew, S., Rungrassamee, W., Klanchiui, A., & Chaiyapechara, S. (05 de Abril de 2013). *Población bacteriana en intestinos del camarón.* Obtenido de <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0060802>

Mandujano, M. (2014). Efecto de diferentes niveles dietéticos de proteína y lípidos en el crecimiento .

Martin, R. (Mayo de 2025). *ECUAQUIMICA.* Obtenido de Foro de Acuicultura: Amoniaco en estanques de produccion camaronera: <https://ecuanoticias.com.ec/acuacultura1.html>

Matlock, B., Beringer, R., Ash, D. L., Allen, M. W., & Page, A. (2007). Analyzing Differences in Bacterial Optical Density Measurements between Spectrophotometers. *Thermo SCIENTIFIC*, 1-2.

Melgar, C., y Barba, E. (2013). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215-1228. Obtenido de <http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400018&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0034-7744

Moriarty, D. (15 de Mayo de 1997). *El papel de los microorganismos en los estanques de acuicultura*.

Ortega, G. (2024). “*Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y fitoplancton en la salud de las larvas Litopenaeus vannamei*”. Tesis de Grado, Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad.

Pavone, D. (2 de 2020). *Contando colonias en placas de agar*. Obtenido de TECNOVITA: <https://tecnovitaca.com/wp-content/uploads/2021/06/Colonias-agar.pdf>

Peñalosa, D., y Araneda, M. (2020). The use of probiotics in larval whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production: A marginal analysis of bioeconomic feasibility. *Aquaculture Research*. doi: <https://doi.org/10.1111/are.14949>

Pérez, M., Alvarez, Y., Soriano, J., Pérez, M. (2021). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *SciELO*. doi:<https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/perez>

- Prentu, B. I. (16 de 12 de 2016). *Aplicación de un probiotico compuesto por Bacillus amyloliquefaciens para mejorar el sistema de cultivo*. Obtenido de Riunet.upv.es.: <https://riunet.upv.es/entities/publication/59c533a8-e9d5-4d37-8ffb-5135bdf53f5e>
- RAO, A. (2024). Vibriosis en la producción de camarón. *AQUACULTURA ED. 159*, 29.
- Romero, M. y L. Menchan. (2018). Probióticos: nuevas líneas de investigación y aplicaciones terapéuticas en patología digestiva. *Nutrición Hospitalaria. SciELO*, 46-48.
- Rungrassamee, W., Klanchui, A., Maibunkaew, S. y Karoonuthaisiri, N. (2016). Bacterial dynamics in intestines of the black tiger shrimp and the Pacific white shrimp during *Vibrio harveyi* exposure. *Journal of invertebrate pathology*, 133, 12-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.11.004>
- Tan, L., Chan, K., Lee, L. y Goh, B. (2016). Streptomyces bacteria as potential probiotics in aquaculture. *Frontiers in microbiology*, 1-8. doi:DOI:10.3389/fmicb.2016.00079
- Thompson , F., y Swings, J. (2004). Biodiversidad de los vibrios. *Reseñas de Microbiología y Biología Molecular*, 68 (3). <https://journals.asm.org/doi/10.1128/membr.68.3.403-431.2004>

- Toledo, A., y Castillo, N. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. *Revista de Producción Animal*, 30(2), 57-71. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200009&lng=es&tlng=es.
- Toral, C. (6 de 1 de 2015). *Mecanismos de acción de probióticos - Clásico y Élite. Clásico Y Élite*. . Obtenido de Clásico y Élite: <https://www.balnova.com/mecanismos-de-accion-de-probioticos/>
- Tovilla, C., y Alvarez, A. (2012). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215-1228.
- Valle, C. (2020). *Evaluación de dos concentraciones de salinidad para la producción del camarón blanco (Litopenaeus vannamei) en piscinas de agua dulce, cantón Arenillas, provincia de El Oro*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil - Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/15500/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-173.pdf>
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., y Verstraete, W. *Bacterias probióticas como agentes de control biológico en la acuicultura*. Obtenido de <https://journals.asm.org/doi/10.1128/membr.64.4.655-671.2000>

- Villaseñor, L., et al. (2015). Probiotic modulation of the gut bacterial community of juvenile *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43, 766-775.
- Wee, W., Abdul, N., Mat, K., Raja, R., Rusli, N., Rahman, M., Kabir, M. y Wei, L. (2024). Los efectos de los prebióticos mixtos en la acuicultura: una revisión. *ScienceDirect*, 28-34. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.02.005>
- Yao, D., Zhang, Y., y Juventus, J. (2020). Efectos del amoníaco en la fisiología e inmunidad del camarón: una revisión. *ReserarchGate*, 8-19. doi:DOI: 10.1111/raq.12429

ANEXOS

Anexo 1

Siembra de Nauplios 5



Nota: Proceso de sembrado de larvas de *Pennaus vanamei* en su estadio de Nauplio

Anexo 2.

Preparación del fermento de los probióticos



Nota: Matrices con fermento de probióticos listos para su activación posterior

Anexo 3.

Preparación de los medios de cultivos



Nota: La figura ilustra la preparación de los medios de cultivo en condiciones asépticas.

Anexo 4

Toma de pH en los tanques experimentales y control.



Nota: La figura muestra la toma de parámetros físico químicos de cada tanque

Anexo 5

Análisis de calidad de agua por reactivos API



Nota: Se observa en la figura el análisis correspondiente de los parámetros químicos en el agua.

Anexo 6

Conteo de colonias en el contador digital



Nota: Se observa en la figura el análisis correspondiente de los parámetros químicos en el agua.

Anexo 7.

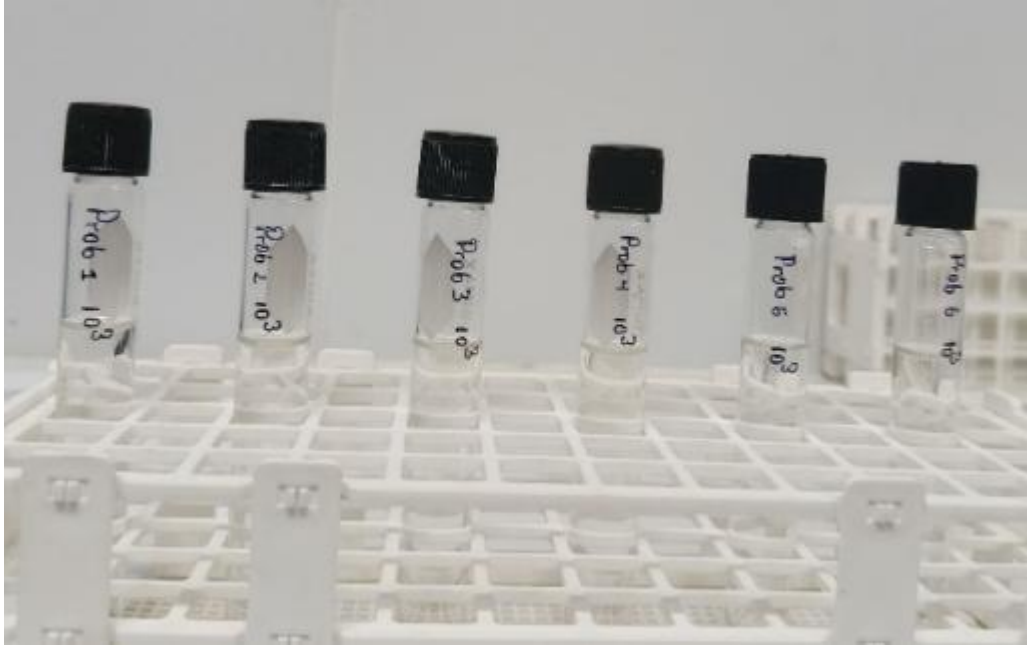
Siembra den superficie de las muestras para su respectivo análisis



Nota: Se observa en la figura la siembra de las muestras de bacterias para su posterior análisis

Anexo 8

Aplicación de diluciones seriadas



Nota: Preparación de diluciones seriadas de probióticos para su posterior uso.

Anexo 9

Cosecha de tanques experimentales y control



Nota: Cosecha de especímenes para análisis posteriores

Anexo 10

Revisión al microscopio



Nota: Observación de patologías al microscopio

Anexo 11

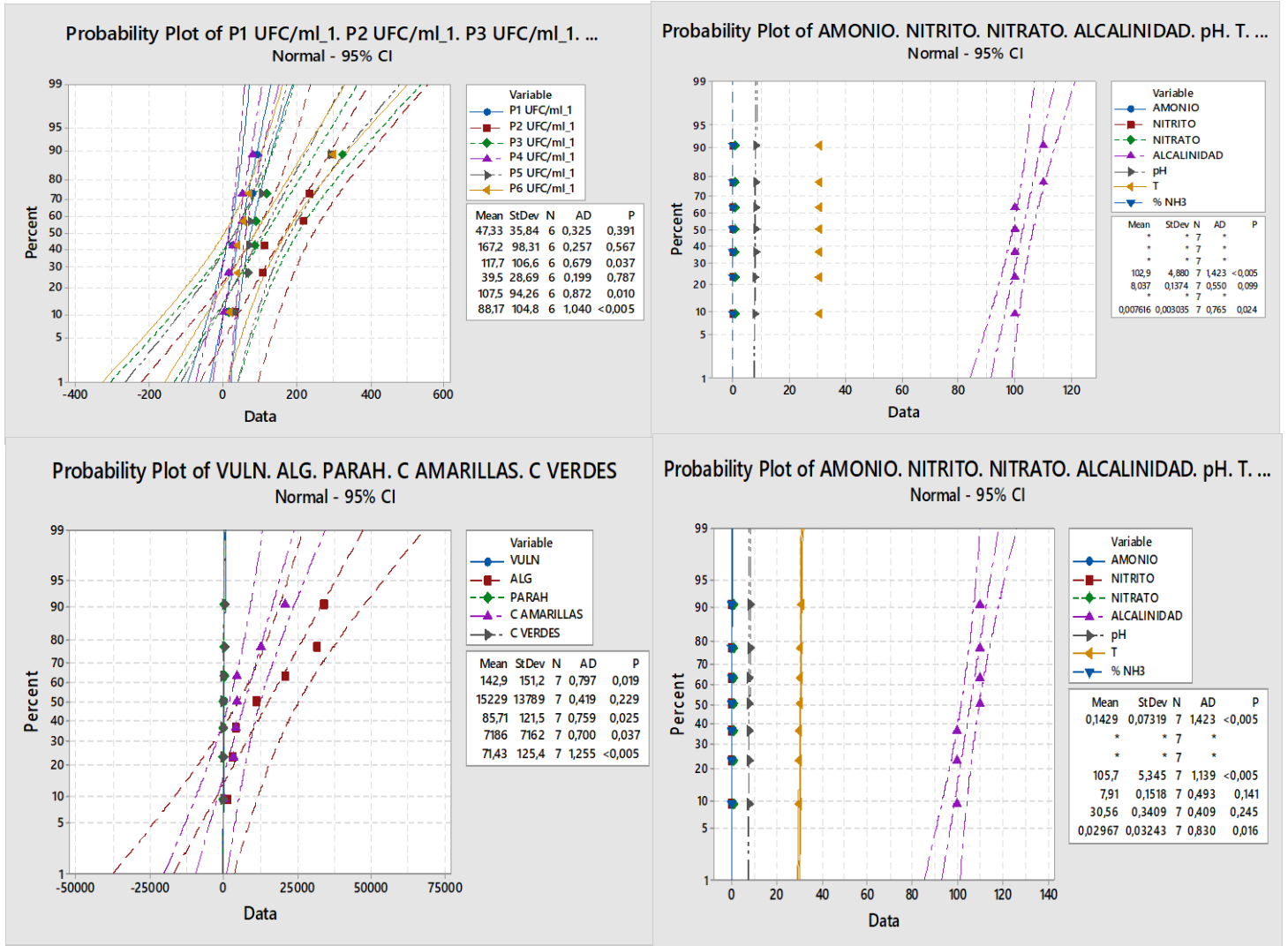
Incubación del fermento



Nota: Fermento en incubación para posteriores diluciones

Anexo 12.

Análisis Estadístico de normalidad y homocedasticidad de cada estación realizado con el programa Minitab 19.0



Anexo 13.

ANOVA de 1 vía y test a posteriori de Tukey realizado con el programa MINITAB

19.0.

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
ALG	6	5517	A
PARAH	6	1567	B
VULN	6	0,000000	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means

Difference of Levels	Difference of Means	SE of Difference	95% CI	T-Value	Adjusted P-Value
ALG - VULN	5517	441	(4373. 6660)	12,52	0,000
PARAH - VULN	1567	441	(423. 2710)	3,55	0,008
PARAH - ALG	-3950	441	(-5094. -2806)	-8,96	0,000

Anexo 14

Preparación de Probiótico Activado.

PREPARACIÓN DEL PROBIÓTICO ACTIVADO

ZOEA						
PROB	GRAMOS	TN	FRECUENCIA	#DIAS	TQ	TOTAL
P1	5	3	3	3	3	405
P2	5	3	3	3	3	405
P3	5	3	3	3	3	405
P4	5	3	3	3	3	405
P5	5	3	3	3	3	405
P6	5	3	3	3	3	405

MYSIS						
PROB	GRAMOS	TN	FRECUENCIA	#DIAS	TQ	TOTAL
P1	10	6	3	3	3	1620
P2	10	6	3	3	3	1620
P3	10	6	3	3	3	1620
P4	10	6	3	3	3	1620
P5	10	6	3	3	3	1620
P6	10	6	3	3	3	1620

POSTLARVA						
PROB	GRAMOS	TN	FRECUENCIA	#DIAS	TQ	TOTAL
P1	20	7	3	10	3	12600
P2	20	7	3	10	3	12600
P3	20	7	3	10	3	12600
P4	20	7	3	10	3	12600
P5	20	7	3	10	3	12600
P6	20	7	3	10	3	12600

Anexo 15

Preparación - Relación melaza, agua destilada y probiótico

RELACIÓN ZOEAE					
Probiótico	Vol. Agua	ml Melaza	ml/g prob	Total prob	Total melaza
P1	20000	1000	100	2,025	20,25
P2	20000	1000	100	2,025	20,25
P3	15000	1000	200	5,4	27
P4	15000	1000	150	4,05	27
P5	20000	1000	100	2,025	20,25
P6	20000	1000	100	2,025	20,25
TOTAL				17,55	135

RELACIÓN MYISIS					
Probiótico	Vol. Agua	ml Melaza	ml/g prob	Total prob	Total melaza
P1	20000	1000	100	8,1	81
P2	20000	1000	100	8,1	81
P3	15000	1000	200	21,6	108
P4	15000	1000	150	16,2	108
P5	20000	1000	100	8,1	81
P6	20000	1000	100	8,1	81
TOTAL				70,2	540

RELACIÓN POSTLARVA					
---------------------------	--	--	--	--	--

Probiótico	Vol. Agua	ml Melaza	ml/g prob	Total prob	Total melaza
P1	20000	1000	100	63	630
P2	20000	1000	100	63	630
P3	15000	1000	200	168	840
P4	15000	1000	150	126	840
P5	20000	1000	100	63	630
P6	20000	1000	100	63	630
TOTAL				546	4200

Anexo 16

Tratamiento 1 en tanques de producción

N5		ZOEIA 1 - 3		MYSIS 1 – 3		POSTLARVA 1 – 10	
TANQUE	PPM	TANQUE	PPM	TANQUE	PPM	TANQUE	PPM
P1	1	P1	1,5	P1	3	P1	6
P2	1	P2	1	P2	1	P2	1
P3	1	P3	1	P3	3	P3	5
P4	1	P4	1,5	P4	3	P4	6
P5	1	P5	1	P5	1,5	P5	2
P6	1	P6	1	P6	1,5	P6	2

Anexo 17

Tratamiento 2 en tanques de producción

N5		ZOEIA 1 - 3		MYSIS 1 – 3		POSTLARVA 1 – 10	
TANQUE	PPM	TANQUE	PPM	TANQUE	PPM	TANQUE	PPM
P1	5	P1	5	P1	10	P1	10
P2	5	P2	5	P2	10	P2	10
P3	5	P3	5	P3	10	P3	10
P4	5	P4	5	P4	10	P4	10
P5	5	P5	5	P5	10	P5	10
P6	5	P6	5	P6	10	P6	10

Anexo 18

Tratamientos y los probióticos propuestos.

Tratamiento	Probióticos
Tratamiento 1 (TQ3, TQ4, TQ5)	<i>L acidophilus, L plantarum, B megaterium, Saccharomyces cerevisiae (P1), B subtilis, B licheniformis, B pumilus(P2), B subtilis, B licheniformis (P3); B cereus, L, Saccharomyces cerevisiae(P4), L acidophilus, L rhamnosus, L bulgaricus, L helveticus, L casei, L cellobiosus, L fermentum (P5), Mix de B(P6).</i>
Tratamiento 2 (TQ6, TQ7, TQ8)	<i>L acidophilus, L plantarum, B megaterium, Saccharomyces cerevisiae (P1), B subtilis, B licheniformis, B pumilus(P2), B subtilis, B licheniformis (P3); B cereus, L, Saccharomyces cerevisiae(P4), L acidophilus, L rhamnosus, L bulgaricus, L helveticus, L casei, L cellobiosus, L fermentum (P5), Mix de B(P6).</i>

Anexo 19.

Criterio para el control de calidad de larvas.

Criterio	Observaciones	Puntuación
Desarrollo branquial	Nulo, bajo, medio, moderado y severo	0-4
Necrosis branquial	Nulo, bajo, medio, moderado y severo	0-4
Necrosis apéndices	Nulo, bajo, medio, moderado y severo	0-4
Necrosis muscular	Nulo, bajo, medio, moderado y severo	0-4
Lípidos	Malo, bajo, medio, bueno y excelente	0-4