



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

**APLICACIÓN DE CÚRCUMA COMO MEDIDA PROFILÁCTICA EN LA
MEJORA DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LARVAS DE CAMARÓN**
(Litopenaeus vannamei)

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

OBANDO VELEZ DURGEL ELEONEL

TUTOR:

AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, PH.D.

LA LIBERTAD ECUADOR

2023

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

**APLICACIÓN DE CÚRCUMA COMO MEDIDA PROFILÁCTICA EN LA
MEJORA DE LA RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LARVAS DE CAMARÓN**

(*Litopenaeus vannamei*)

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

OBANDO VELEZ DURGEL ELEONEL

TUTOR:

AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, PH.D.

LA LIBERTAD -ECUADOR

2023

UPSE

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a principalmente a mi familia, mis padres Alba y Durgel que siempre estuvieron para apoyarme con sus consejos y dándome los ánimos para no abandonar mi preciada meta. Como no olvidar a mis docentes que a través de su enseñanza y su aprendizaje compartido he podido llegar a cumplir esta anhelada meta.

Mi dedicatoria en especial es para mi hija Albita quién forma una parte muy importante en mi vida y es mi motor diario para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a mi Dios, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, quien me forjó como el profesional que soy.

A la empresa Megalatina su gerente, personal técnico y compañeros que fueron claves en el desarrollo de mi trabajo práctico.

En especial un agradecimiento a la Acui. Sonnya Mendoza L, quién me acogió y me compartió sus conocimientos, ideas, sabiduría y sobre todo por la paciencia otorgada en mi desarrollo.

TRIBUNAL DE TITULACIÓN



Blgo. Richard Duque Marin Mgtr.

DECANO DE LA FACULTAD



Ing. Jimmy Villón Moreno Mgtr.

DIRECTOR DE CARRERA



Ac. Sonnya Mendoza Lombana PH.D

DOCENTE TUTOR



Blga.-Dennis Tomalá Solano Mgtr.

DOCENTE DE ÁREA



Abg. Maria Rivera Gonzalez, Mgtr.

SECRETARIO GENERAL

DECLARATORIA EXPRESA

La responsabilidad por las ideas, contenido y análisis de los resultados expuestos en este trabajo de integración curricular pertenece exclusivamente al autor, y el patrimonio intelectual de la misma, a la UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA (UPSE).



Obando Velez Durgel Eleonel
0929299238

RESUMEN

Durante los últimos años se ha intensificado la investigación relacionada a la búsqueda de buenas prácticas acuícolas que garanticen el buen aprovechamiento del alimento por parte de los animales y de esta manera pueda incrementar la producción de larvicultura. Por consiguiente, el enfoque de esta investigación se basa en demostrar la aplicación de la cúrcuma como profiláctico en larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) mediante la mejora en la salud, supervivencia y disminución de bacterias patógenas a través de ensayos experimentales basados en la aplicación directa de cúrcuma como medida profiláctica en cultivos de larvas de camarón.

Esta problemática se ha convertido en una alerta que han motivado a los laboratorios a incrementar los controles de bioseguridad y uso de profilácticos para su control, debido a que se ha visto que, en los primeros estadios, se presentan anomalías patológicas que hace que se vuelvan susceptibles frente a situaciones de estrés y enfermedades principalmente de origen bacteriano.

Por ello, se ha acudido a las opciones de origen vegetal ya que son amigables con el ambiente y el ser humano, con la *C. longa* en esta investigación tiene como objetivo demostrar la aplicación de la cúrcuma como profiláctico en larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) mediante la mejora en la salud, supervivencia y disminución de bacterias patógenas, las pruebas in vitro de la cúrcuma enfrentada a 5 bacterias patógenas *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *Pseudomonas Florescens* y *Pseudomonas hidrofília*, mostró concentración bactericida a los 9 gr por m^3 dando resultados bactericidas. La experimentación fue realizada en la zona de la Diablica mediante la experimentación de dos tanques control y dos experimentales durante 3 ciclos de

producción de duración 21 días, la cúrcuma fue empleada en dosificaciones acorde a la demanda de salud del animal, con un incremento de 2 hasta 16 gr por m^3 con una frecuencia de una vez al día, se pudo determinar que la dosis dependiente fluctúa de acuerdo a la carga bacteriana, la que empezó con concentraciones de 10^{-4} UFC/gr en los tanques control para los estadios 10^{-3} , reportándose una reducción de 50% de *Vibrios* y *pseudomonas* según esta experimentación.

Aunque los manejos del laboratorio no mostraron variación en la salud de las larvas por aplicación de otros profilácticos comerciales, se evidenció una supervivencia de los tanques con cúrcuma del 85%, superior para las larvas, aportando una nueva herramienta costo eficiente para el control bacteriano y mejora de la salud animal transmitida en supervivencias.

Palabras clave: profiláctico, anomalías, supervivencia, patologías

ABSTRACT

During the last few years, research related to the search for good aquaculture practices that guarantee the good use of food by the animals and in this way can increase the production of larviculture has been intensified. Therefore, the focus of this research is based on demonstrating the application of turmeric as a prophylactic in shrimp larvae (*Litopenaeus vannamei*) by improving health, survival and reduction of pathogenic bacteria through experimental trials based on direct application. of turmeric as a prophylactic measure in shrimp larval cultures.

This problem has become an alert that has motivated laboratories to increase biosafety controls and the use of prophylactics for its control, because it has been seen that, in the early stages, pathological abnormalities occur that cause them to become susceptible to stress situations and diseases mainly of bacterial origin.

For this reason, the options of plant origin have been used since they are friendly to the environment and the human being, with *C. longa* in this research, the objective is to demonstrate the application of turmeric as a prophylactic in shrimp larvae (*Litopenaeus vannamei*) by improving the health, survival and reduction of pathogenic bacteria, the in vitro tests of turmeric against 5 pathogenic bacteria *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *Pseudomonas Florescens* and *Pseudomonas hydrophilia*, showed bactericidal concentration at 9 gr per m³ giving bactericidal results. The experimentation was carried out in the Diablica area through the

experimentation of two control and two experimental tanks during 3 production cycles lasting 21 days, turmeric was used in dosages according to the animal's health demand, with an increase of 2 up to 16 gr per m³ with a frequency of once a day, it was possible to determine that the dependent dose fluctuates according to the bacterial load, which began with concentrations of 10⁽⁻⁴⁾ UFC/gr in the control tanks for stages 10⁽⁻³⁾, reporting a 50% reduction of Vibrios and pseudomonas according to this experimentation.

Although the laboratory handling did not show variation in the health of the larvae due to the application of other commercial prophylactics, an 85% survival of the tanks with turmeric was evidenced, higher for the larvae, providing a new cost-efficient tool for bacterial control and improvement of animal health transmitted in survivals.

Keywords: prophylactic, anomalies, survival, pathologies

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
3. JUSTIFICACIÓN.....	24
3. OBJETIVOS	27
3,1 Objetivo general.....	27
3.1 Objetivos específicos	27
4. HIPÓTESIS.....	28
5. MARCO TEÓRICO.....	29
5.1 Taxonomía.....	29
5.2 Enfermedades presentes en los sistemas de cultivo.....	30
5.2.1 Cultivo	30
5.3 Patologías.....	30
5.3.1. Vibriosis sistémica.....	30
5.3.2 Síndrome de Zoea II	31
5.3.3 Enfermedad de luminiscencia.....	32
5.3.5 Síndrome de mortalidad temprana (EMS)	33
5.3.6 Consecuencias de altas bacterias en los cultivos acuícolas	34
6. Estrategias profilácticas para el control de patologías bacterianas.....	35
6.1 Activación de la mejora en la salud de larvas	35
6.2 Betaglucanos.....	36

6.3 Ácidos Orgánicos.....	36
6.4 Probióticos	37
6.5 Prebióticos	39
6.6 Aceites esenciales	40
6.7 Inmunostimulantes	40
7. Condiciones que deterioran la salud de los animales.....	41
7.1 Estrés	41
7.2 Control de enfermedades	41
7.3 Capacidad bactericida de los extractos esenciales	42
7.4 Cúrcuma	44
7.6 Antioxidante	45
7.7 Antiinflamatorio.....	46
7.8 Inmunomodulador.....	46
7.9 Hepátoprotector	47
7.10 Activador del sistema inmune.....	48
7.11 Medios de cultivos.....	49
7.11.1. Agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS MEBIOTEC)	49
7.11.2 Agar cetrimide MEBIOTEC.....	50
7.12 Concentración Mínima Inhibitoria.....	51
8. MARCO METODOLÓGICO	53
8.1 Área de estudio	53
8.2 Diseño experimental	54

8.2.1 Unidades experimentales	54
8.2.2 Tamaño de la muestra.....	55
8.2.3 Aplicación de profiláctico.....	55
8.2.4. Muestreos.....	56
8.2.5. Revisión Macroscópica del estado de salud larvario.	56
8.2.6 Revisión microscópica.....	57
8.2.7 Recolección de las muestras	58
8.2.8 Muestreo	58
8.2.9 Preparación de muestras	58
8.2.10 Análisis microbiológicos y diluciones seriadas	59
8.2.10.1 Preparación de agar.....	59
8.2.10.2 Prepara una serie de diluciones.....	60
8.2.10.3 Siembra de muestras	60
8.2.10.4 Incubación:	60
8.3 Conteo de unidades formadoras de colonias (ufc)	61
9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	62
9.1 Identificación de anomalías patológicas en los diferentes estadios larvarios.....	62
10. Análisis bacteriológicos	67
10.4. Promedios por corrida.....	79
10.5 Porcentaje de supervivencia de la producción.	83
10.6 Concentración mínima inhibitoria	87
10.7 Correlación de resultados de corridas	88

11. DISCUSIÓN	89
12. CONCLUSIONES	92
13. RECOMENDACIONES	94
14. ANEXOS	95
15. BIBLIOGRAFÍA	109

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Litopenaeus vannamei.....	25
Figura 2. Síndrome de Zoea II.....	27
Figura 3. Enfermedad de luminiscencia.....	28
Figura 4. Necrosis de la hepatopáncreas bacteriana (NHP-B).....	29
Figura 5. Síndrome de mortalidad temprana (EMS).....	30
Figura 6. Laboratorio MEGALATINA Y NOVAGESTION.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosificación de cúrcuma por estadio.....	94
Tabla 2. Anomalía de larvas.....	95

ABREVIATURAS

TCBS: Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa

CE: Cetrimide Agar

UFC: Unidades formadoras de colonias

NHP-B: Necrosis de la hepatopáncreas bacteriana

EMS: Síndrome de mortalidad temprana

ml: Mililitro

GLOSARIO

Patología: Estudio de las enfermedades, incorporando una amplia gama de campos de investigación en biología y prácticas médicas.

Patógeno: Organismo que causa una enfermedad. También puede denominarse agente infeccioso o simplemente germen.

Ácidos orgánicos: Grupo de biomoléculas que generalmente no se disuelven en agua, sino en cloroformo, éter o benceno. Inhiben el crecimiento de determinados microorganismos digestivos patógenos, además poseen actividad bactericida y bacteriostática.

Calidad e agua: son las características físicas, químicas y biológicas, así como factores bióticos y abióticos que influyen en el agua.

Supervivencia: Cantidad de organismos que resisten diferentes fases en su ciclo de vida como cambios climáticos, patologías durante el tiempo de cultivo en medio acuático.

1. INTRODUCCIÓN

La tasa de crecimiento anual que ha experimentado la industria del camarón oscila en un 15% superando para el año 2021 una exportación de 1.855.634.851 libras, lo que permitió alcanzar \$5.078.825.249, situándose como el primer productor a nivel de Latino América y en la actualidad el primer exportador a nivel mundial, (Cámara Nacional de Acuicultura, 2021).

Han sido las enfermedades tanto bacterianas como virales las que han condicionado las producciones en engorde y en estadios larvarios, siendo estos últimos los que han sufrido las mayores pérdidas por problemas sanitarios. La enfermedad emergente del Síndrome de la Mortalidad temprana (EMS), en los últimos años se ha convertido en uno de los más altos desafíos de control (Otero, 2018), llevando a las diferentes larvicultura a la pérdida total de sus producciones, esto debido a los incrementos en las unidades formadoras de bacterias por gramo (ufc/g.), de las larvas analizadas o a protocolos de manejos fundamentados en la eliminación de bacterias patógenas de los sistemas, lo que ha ayudado a disminuir el impacto de esta patologías . Esta problemática se ha convertido en una alerta que han motivado a los laboratorios a incrementar los controles de bioseguridad y uso de profilácticos para su control, debido a que se ha visto que, en los primeros estadios, se presentan anomalías patológicas que hace que se vuelvan susceptibles frente a situaciones de estrés y enfermedades principalmente de origen bacteriano y se produzcan mortalidades (Cortez, 2021).

Una de las posibles causas de la presencia de estas enfermedades bacterianas, se da principalmente por las altas densidades de siembra en el cultivo, lo que ocasiona problemas de calidad de agua con sólidos en suspensión, material fecal, desperdicio de alimentos, fluctuaciones y toxicidad por químicos, que trae como consecuencia la proliferación de agentes patógenos oportunistas afectando la bioseguridad y sobre todo un impacto económico a los productores (Smith, 2022)

Durante los últimos años, se han intensificado las investigaciones relacionadas a la búsqueda de buenas prácticas acuícolas, que garanticen el buen aprovechamiento del alimento por parte de los animales asegurando un incremento de la producción, entre las medidas profilácticas principalmente empleadas se puede encontrar el uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, extractos naturales y algas, que han sido empleadas con la finalidad de minimizar los riesgos causados por agentes patógenos. (González, 2021)

Entre los profilácticos más empleados se encuentran los extractos vegetales, con dosificaciones empleadas ya en larvicultura con resultados de protección contra las bacterias de un sistema de producción. Entre los extractos vegetales más empleados en larvicultura se encuentran extractos procedentes del bulbo fresco de ajo (*Allium sativum*), extractos procedentes de la hoja fresca de las siguientes plantas: calistemo (*Callistemon citrinus*, Curtis), lavanda (*Lavandula angustifolia*), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), orégano francés (*Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng.), tomillo blanco (*Thymus mastichina* L.), salvia rosa (*Salvia grahamii* Benth), laurel

(*Laurus nobilis*) y mirto (*Myrtus communis*), etc. (Marquez, 2018). Estos productos a partir de la herbolaria se encuentran entre los más utilizados para el control de bacterias Gram negativas, de los géneros *Aeromonas* y *Vibrios* sp. respectivamente.

La cúrcuma, conocida científicamente como *Cúrcuma longa*, es una planta herbácea perenne originaria del sur de Asia. Se ha utilizado durante siglos en la medicina tradicional como especia y por sus propiedades medicinales. En los últimos años, también ha despertado interés en la acuicultura debido a sus posibles beneficios para los organismos acuáticos (Saíz de Cos, 2014).

La curcumina es el principal compuesto activo presente en la cúrcuma, responsable de su color amarillo intenso y muchas de sus propiedades medicinales. Esta molécula ha demostrado tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas, entre otras. Estos atributos han llevado a investigaciones sobre el uso de la cúrcuma y la curcumina en la acuicultura con el objetivo de mejorar la salud y el rendimiento de los organismos acuáticos (Saíz de Cos, 2014).

La cúrcuma es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia Zingiberaceae, nativa del sudeste asiático es utilizada principalmente en la industria alimenticia, medicina cosmética y en la industria de la salud, debido a su capacidad antiinflamatoria y antioxidante para aliviar problemas digestivos, su capacidad de cicatrización y efectos hepatoprotectores estas características se deben a la presencia de curcuminoides (Saíz de Cos, 2014).

La suplementación de la dieta de tilapia con 2 gramos de curcumina por kilogramo de alimento ejerce efecto inmunomodulatorio y actividad enzimática antibacteriana lo que resulta en una mayor ganancia de peso, siendo un método más efectivo para incrementar la resistencia natural de los peces a las enfermedades es a través del uso de estos inmunostimulantes. Estos incluyen un amplio rango de agentes químicos, compuestos bacterianos, polisacáridos, extractos animales o vegetales, entre otros. (Abdelrazek HMA, 2017)

Investigaciones en peces han documentado que la curcumina también posee propiedades biológicas como promotor del crecimiento, hepatoprotector, antioxidante, antiparasitario, inmunomodulador y bactericida; en esta ocasión enfrentaron a la *Aeromonas salmonicida* que fue obtenida de truchas sus resultados indicaron que el crecimiento estuvo significativamente influenciado por los niveles de curcumina en la dieta, donde el máximo de ganancia de peso (WG) y tasa de crecimiento específico (SGR). (SOTO, 2019)

Las propiedades medicinales de la cúrcuma se atribuyen a la bioactividad de los componentes producidos en las rutas del metabolismo secundario: compuestos fenólicos y aceites volátiles (Saíz de Cos, 2014). El tratamiento de cúrcuma tiene la capacidad de incitar algún tipo de efecto antiviral en células, dando como resultado un notable reducción en la replicación del virus VHSV (Kim et al., 2011), encontraron que un extracto acuoso de cúrcuma inhibe la replicación del virus de la hepatitis b, al poder aumentar los niveles de la proteína p53 (Chen et al., 2013).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De manera general, todos los sistemas de producción larvaria de camarones poseen desafíos ligados directamente a las enfermedades que se pueden presentar y que llegaba a causar grandes pérdidas económicas a los productores, situación que obliga a la industria a estar en constante innovación y a realizar investigaciones buscando alternativas que ayuden al buen desarrollo y crecimiento constante a los camarones principalmente en sus primeros estadios larvarios.

La presencia y brotes de enfermedades se da principalmente por la interacción entre los organismos y patógenos introducidos en los medios de cultivos ya sea por la transferencia accidental de organismos contaminados, uso de alimentos que se encuentren infectados, mal control de protocolos y barreras sanitarias lo que ocasiona una mala calidad de agua, altas densidades de siembra, nutrición inadecuadas entre otros, proliferan patologías como el síndrome de bolitas, síndrome de Zoea, hepatopancreatitis necrotizante (NHP) y el síndrome de mortalidad temprana (EMS). Entre los géneros responsables de estas patologías principalmente podremos encontrar: *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* los que han sido responsables de altas mortalidades hasta el 100% a las 24 horas de la propagación (Morales & Cuéllar, 2008).

Recientemente se siguen reportando perdidas de larvas por problemas netamente

bacterianos, a pesar de que se usan una gran variedad de productos para mejorar la salud en los diferentes protocolos aplicados en los laboratorios, es por eso por lo que se hace cada vez más importante contar con productos que puedan ser aplicados de otras líneas como la línea humana hacia la industria del camarón. Es importante entonces investigar productos como la cúrcuma, así como se han ensayados otros extractos vegetales que de alguna manera proporcionan una función enfáticamente relacionada con la salud, pensando en un trabajo amigable con el ambiente.

3. JUSTIFICACIÓN

Desde la prohibición del uso de antibióticos en la producción de camarones a nivel mundial y en el Ecuador, donde la última restricción de uso ha sido la prohibición de la enrofloxacin, ha dado paso al uso eminente de sustitutos y productos que sean más amigables con el camarón y con el medio ambiente. Dichos productos como los ácidos orgánicos y extractos de vegetales, cuyo uso frecuente viene del área humana, han dado resultados exitosos en la producción de camarones, tanto en la activación del sistema inmune, así como en el control de bacterias que provoquen patologías en los mismos.

Los camarones en todos sus estadios son susceptibles a todo tipo de infecciones por lo que es común la adopción de medidas estratégicas profilácticas, los cuales tienen como objetivo prevenir los brotes de enfermedades a través del mantenimiento de un proceso equilibrado, en ambiente en que se encuentra el organismo logrando mejorar el crecimiento, supervivencia control de enfermedades bacterianas, sin causar efectos perjudiciales y residuales en el medio ambiente.

(ACUACULTURA, 2021)

Se ha podido determinar que muchos compuestos antivirales, antifúngicos, antioxidantes y

antibacterianos han sido extraídos de las plantas, describiéndose una gran cantidad de compuestos experimentados en animales acuáticos principalmente en peces y crustáceos.

Es importante considerar que los productos naturales utilizados en la larvicultura además de brindar mejores características salud, no generan efectos residuales nocivos como si ocurre con los antibióticos, que terminan siendo contaminantes en los cultivos y el medio ambiente. En la actualidad se ha intensificado la investigación direccionada a la búsqueda de alternativas que permitan prevenir y controlar enfermedades y al mismo tiempo ayuden a alcanzar la sostenibilidad de los cultivos al ser amigables con el medio ambiente, en estos podemos encontrar aceites esenciales de plantas, compuestos orgánicos que tienen capacidad antifúngica, antibacteriana y no genere efectos secundarios.

El uso de profilácticos para el control de enfermedades en la larvicultura debe considerarse un tema de interés investigativo, debido al hallazgo de nuevos productos naturales que han sido empleados como alternativa y reemplazo de los antibióticos. Estos antibióticos por su residualidad metabólica han sido prohibidos su uso indiscriminado sin un debido control de la dosis requerida por el sistema productivo donde se lo emplee, muchos más sobre los posibles restos de metabolitos que pueden ser transferidos a los consumidores finales de productos cosechados en piscinas de engordes (Gracia et al., 2012).

La cúrcuma en peces se ha experimentado como actividad antiviral contra el virus de la

septicemia hemorrágica vírica (VHSV) por su posible capacidad al modificar la bicapa lipídica afectando la función de las proteínas de la membrana del virus, por otra parte en humanos tiene actividad antioxidantes, antiinflamatoria, anticancerígenos debido a su inhibición de la actividad de enzimas ADN metiltransferasas, acetiltransferasas y deacetilasas de histonas lo que permite la regulación de alteraciones epigenéticas, sin embargo no se ha demostrado que pueda utilizarse como medida profiláctica en los sistemas de cultivo de camarón.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Analizar el efecto de la cúrcuma como profiláctico en larvas de camarón(*Litopenaeus vannamei*), demostrando la supervivencia y disminución de bacterias patógenas.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar las anomalías patológicas en los diferentes estadios larvarios, mediante la observación macroscópica y microscópica durante toda la corrida larvaria.
- Comparar la carga bacteriana presentes en los organismos de control y tratamiento con cúrcuma mediante el conteo de las colonias y tomando en cuenta sus características morfológicas.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de la cúrcuma como profiláctico frente a bacterias patógenas (*Vibrios* y *pseudomonas*)
- Demostrar la eficiencia de la cúrcuma como profiláctico mediante la supervivencia de las larvas de camarón en los diferentes estadios larvarios.

4. HIPÓTESIS

H₀: El uso de la cúrcuma ayudará a reducir las cargas bacterianas producidas por los agentes patógenos presentes en los estadios larvarios dando como resultado una mejor producción.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Taxonomía

Como miembros de los crustáceos, los camarones son artrópodos mandibulados con apéndices birrameados articulados, con dos pares de antenas, caparazón y branquias. Los camarones del subgénero *Litopenaeus* son de tégulo abierto y receptáculos espermáticos. A este grupo pertenecen algunas especies americanas de gran importancia comercial, tales como *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* y *L. californiensis* (FAO, 2009).

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Suborden: Dendrobranchiata

Familia: Penaeidae

Género: *Litopenaeus*

Especie: *vannamei*

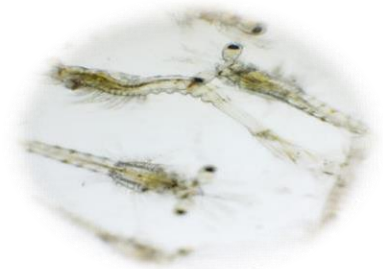


Figura 1. *Litopenaeus vannamei*.

5.2 Enfermedades presentes en los sistemas de cultivo

5.2.1 Cultivo

Se han considerado a las enfermedades bacterianas, como las responsables de pérdidas en producciones larvarias, siendo la de mayor impacto en la actualidad el Síndrome de la mortalidad temprana, sin embargo, es de primordial importancia conocer las diferentes enfermedades bacterianas.

5.3 Patologías

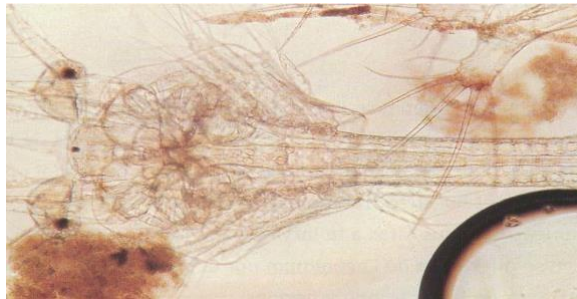
5.3.1. Vibriosis sistémica

Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en las instalaciones de cultivo alrededor del mundo. La vibriosis afecta a todas las especies de camarón usadas en acuicultura ya que estas pueden ser susceptibles a la infección cuando se encuentran en condiciones de estrés. Esta enfermedad se considera una infección generalizada, ya que involucra a la cutícula, hepatopáncreas, órgano linfático, glándula antenal, corazón, hemolinfa y músculo. Los agentes causales son *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *Photobacterium daunselae*, *V. campbellii*, *V. sp* y *V. Harvey*, pertenecientes al clado Harvey, organismos claves de búsqueda en los diagnósticos patológicos en la producción de camarones. (Lomeli & Martínez, 2014).

5.3.2 Síndrome de Zoea II

El síndrome de Zoea II ha sido reportado como una enfermedad que causa altas mortalidades en el estadio de Zoea II de camarones blancos y azules ataca la hepatopáncreas, intestino medio y posterior. En 1993 se reportó por primera vez en cultivos larvarios de *Litopenaeus vannamei* de Ecuador, México y Estados Unidos; pero fue hasta 1995 cuando se manifestó en todos los laboratorios de América Latina. Se reportó que en Ecuador el agente causal de estas enfermedades *Vibrio harveyi*, mientras que otros autores reportan la posible presencia de bacterias intracelulares. Esta enfermedad también se le conoce como el Síndrome de las bolitas blancas por el desprendimiento de las células de los túbulos de la hepatopáncreas (Lomeli & Martínez, 2014).

Figura 2. Síndrome de Zoea II.



Fuente: Smoes, 20

5.3.3 Enfermedad de luminiscencia

La enfermedad de luminiscencia, causada por bacterias luminiscentes ha sido responsable de altas mortalidades (80%), en los laboratorios de larvicultura de muchos países de América Latina. La bacteria más predominante que se ha aislado en estas enfermedades *Vibrio harveyi*. Los organismos infectados con esta bacteria se observan con luminiscencia, letargo (disminución de la actividad normal), nado errático, permanencia en el fondo del tanque y mortalidades masivas (Morales & Cuéllar, 2008).



Figura 3. Enfermedad de luminiscencia

Fuente: FAO, 2014

5.3.4. Necrosis de la hepatopáncreas bacteriana (NHP-B)

La necrosis de la hepatopáncreas de origen bacteriano (NHP-B), es una severa enfermedad provocada por bacterias intracelulares del tipo de las rickettsias.

La bacteria tipo rickettsia más predominante y patógena en esta enfermedad es un pequeño cocobacilo Gramnegativo con un diámetro en promedio de $0.36\mu\text{m}$, la cual infecta y se multiplica en el citoplasma de las células epiteliales de los túbulos de la hepatopáncreas, reproduciéndose por fisión primaria en la célula hospedera (Morales & Cuéllar, 2008).



Figura 3. Necrosis de la hepatopáncreas bacteriana (NHP-B)

Fuente: (Morales & Cuéllar, 2008).

5.3.5 Síndrome de mortalidad temprana (EMS)

Esta es una patología degenerativa de la hepatopáncreas, que sugiere una etiología tóxica, pero la información de los modelos de diseminación de la enfermedad puede ser consistente como un agente infeccioso. La causa primaria / patógeno no ha sido identificada. Considerando la amenaza de grandes pérdidas económicas que la EMS causará a la industria camaronera en la región,

se requiere de una acción concertada para cada país productor de camarón para prevenir la diseminación u ocurrencia de esta enfermedad. (OSPESCA, 2013).



Figura 4. Síndrome de mortalidad temprana (EMS)

Fuente: OSPESCA, 2013

5.3.6 Consecuencias de altas bacterias en los cultivos acuícolas

Algunas de las enfermedades de los Peneidos son consecuencia del sistema de cultivo empleado (intensivo, semi-intensivo y extensivo) (FAO, 2004). Una de las posibles causas de la proliferación bacteriana, es la alta densidad de camarones (sistema intensivo), lo que permite la adaptación y selección de cepas virulentas de bacterias oportunista asociadas al camarón y cepas patógenas que se encuentran normalmente en el medio acuático. Además, estas condiciones de cultivo pueden estresar a los animales, afectar su fisiología y su capacidad inmunitaria, trayendo como consecuencia la sensibilidad de los animales a bacterias oportunistas y normalmente poco patógenas (Guarnner, 2018).

6. Estrategias profilácticas para el control de patologías bacterianas

La profilaxis tuvo como objetivo la prevención de enfermedades a través de medidas y procesos para mantener un ambiente estable y equilibrado para el cultivo, por lo tanto, para lograr la profilaxis se pueden hacer uso de microorganismos benéficos como también productos que provienen de animales. Esto ayudó y mejoró el crecimiento como la supervivencia del organismo en cultivo, sin causar algún efecto perjudicial y residual en el medio ambiente haciendo de esta una actividad amigable con el ecosistema (Vega, 2019).

6.1 Activación de la mejora en la salud de larvas

La activación de la respuesta inmunológica de los aceites esenciales, en la aplicación en larvas de camarón en la acuicultura es un tema de investigación que ha despertado interés en los últimos años. Los aceites esenciales, obtenidos de plantas aromáticas, contienen compuestos bioactivos que poseen propiedades antimicrobianas y pueden tener efectos estimulantes en el sistema inmunológico de los organismos acuáticos (Vielka & Cuéllar, 2008).

La aplicación de aceites esenciales en larvas de camarón en la acuicultura se ha estudiado

con el objetivo de mejorar la salud, el crecimiento y la resistencia de estos organismos frente a enfermedades. Algunos aceites esenciales han demostrado tener efectos beneficiosos en la estimulación de respuestas inmunológicas y en la prevención de infecciones bacterianas y fúngicas en las larvas de camarón (Vielka & Cuéllar, 2008).

6.2 Betaglucanos

Los betaglucanos son polisacáridos naturales que se encuentran en diversas fuentes, como las paredes celulares de hongos y levaduras, así como en algunos cereales y algas. En la larvicultura, se ha investigado su uso como inmunoestimulante para mejorar la respuesta inmune y la salud de las larvas de diferentes especies acuáticas (Pizarro et al., 2014).

Los betaglucanos tienen la capacidad de activar el sistema inmunológico de los organismos acuáticos, estimulando la producción de citocinas y promoviendo la fagocitosis de patógenos. Además, se ha observado que pueden incrementar la resistencia a enfermedades y mejorar la supervivencia de las larvas en condiciones de estrés (Martin & Garicano, 2015).

6.3 Ácidos Orgánicos

Los ácidos orgánicos son sustancias naturales usadas con efecto antimicrobiano, como el

ácido láctico que permiten cuidar la salud del camarón ante diferentes tipos de enfermedades de forma natural sin usar componentes químicos abrasivos que contaminen la calidad del agua.

Los ácidos orgánicos son utilizados en la acuicultura como una herramienta eficiente para controlar patógenos en peces y como conservantes en los alimentos balanceados, disminuyendo el pH y reduciendo el crecimiento microbiano. Además, los ácidos orgánicos pueden actuar como sustitutos de los antibióticos en alimentos acuícolas y son generados en fermentos y alimentos pre-digeridos. Hay diversas opciones de ácidos orgánicos disponibles para su uso en la acuicultura, como el benzoico, fórmico, láctico y otros. A su vez, también se utilizan probióticos en la acuicultura para mejorar la salud y el bienestar de los peces, los cuales pueden contener ácidos orgánicos en su composición (Uña et al., 2017).

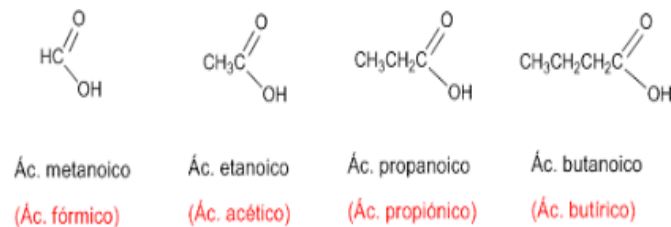


Figura 5. Estructura química de ácidos orgánicos utilizados en la acuicultura.

Fuente: Stevens, 2018

6.4 Probióticos

Los probióticos se los puede definir como microorganismos benéficos que pueden ser suministrados como suplementos en las dietas ayudando el microbiota también del camarón. Las bacterias probióticas en la acuicultura provocan compuestos contribuyentes a la inmunidad de sistema orgánico del huésped, es decir, ayudan y mejora a generar una digestión esperada que pueda

absorber nutrientes necesarios para el crecimiento del animal y la ayuda en la asimilación de proteínas beneficiosas (Terrones & Reyes, 2018)

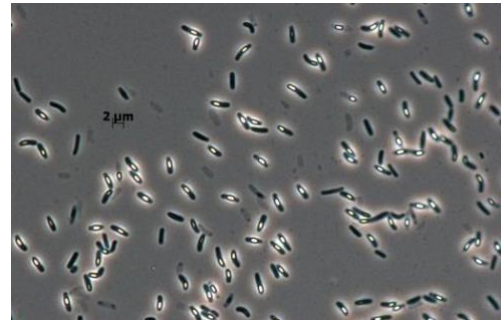
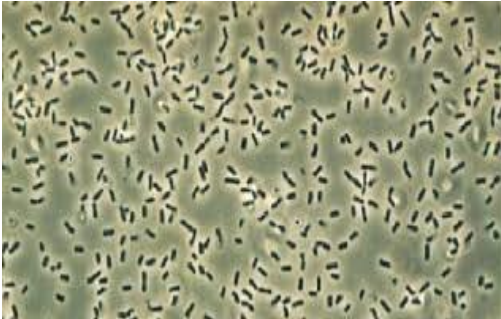


Figura 7

Fuente:

Figura 7. *Bacillus agnitytus*

Fuente: Adquia, 2019

6.5 Prebióticos

Los Prebióticos tienen la capacidad de optimizar la sostenibilidad de la explotación del cultivo, podemos decir que unos de los prebióticos más utilizados en la acuicultura son los mono oligosacáridos más conocidos como MOS, estos son carbohidratos complejos que provienen de la pared celular de levadura de la *Saccharomyces cerevisiae*. Tiene como función el bloqueo de la adhesión de patógenos bacterianos a través de la no adherencia de las lectinas de las bacterias con los carbohidratos que se encuentra en la capa superficial de las células intestinales de los crustáceos, por ende impide la colonización de los patógenos provocadores de infecciones y a la vez es una excelente alternativa a los antibióticos convencionales, por lo general los acuicultores incluyen también estos componentes en la dieta del camarón de manera indirecta que ayuda a la microbiota intestinal (Gainza & Romero, 2017).



Figura 8. *Saccharomyces cerevisiae*

Fuente: Bionatura, 2020

6.6 Aceites esenciales

Son sustancias que tiene una variedad de componentes aromáticas de base lipídicas como son los alcoholes, acetona ester, cetona y aldehídos que se pueden encontrar en diferentes partes de las plantas (raíces, hojas, flores, tallos y frutos). También son utilizados como estimuladores del apetito aparte de sus propiedades antioxidante (Paredo et al., 2009).



Figura 2. Aceite esencial de romero

Fuente: (EcuRed, 2019)

6.7 Inmunoestimulantes

Las estrategias para la prevención y control de patógenos incluyen el mejoramiento de las condiciones ambientales, el almacenamiento de patógenos específicos (SPF) de postlarvas de camarón y la mejora de la resistencia a las enfermedades con el uso de inmuno estimulantes como los glucanos (Kolkovski, 2022).

7. Condiciones que deterioran la salud de los animales

7.1 Estrés

El estrés en las larvas de camarón puede estar asociado a diferentes factores, como cambios en el ambiente, manipulación, exposición a sustancias químicas y otros estímulos externos. En el caso de los aceites esenciales, es importante considerar su dosificación y forma de aplicación, ya que altas concentraciones o aplicaciones inadecuadas podrían aumentar el estrés en las larvas (Molina, C. & Pinargote, C., 2021).

El estrés que pueden causar los aceites esenciales en la aplicación en larvas de camarón en la acuicultura es un tema que ha sido objeto de investigación. Si bien los aceites esenciales pueden tener propiedades beneficiosas, como propiedades antimicrobianas y estimulantes del crecimiento, su aplicación también puede generar respuestas de estrés en los organismos acuáticos, incluidas las larvas de camarón.

7.2 Control de enfermedades

Los aceites esenciales han sido objeto de investigación en la acuicultura debido a sus

posibles propiedades anti-patológicas, es decir, su capacidad para prevenir y controlar enfermedades en las larvas de camarón y otros organismos acuáticos. Estos compuestos naturales pueden tener efectos antimicrobianos y antifúngicos, lo que los convierte en una alternativa potencial a los agentes antimicrobianos convencionales en la acuicultura (Molina, C. & Pinargote, C., 2021).

Algunos estudios han explorado los efectos de los aceites esenciales en la prevención y control de patologías en larvas de camarón en la acuicultura. Estos efectos pueden estar relacionados con la capacidad de los aceites esenciales para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas y hongos, reduciendo así el riesgo de infecciones.

7.3 Capacidad bactericida de los extractos esenciales

Los aceites esenciales han mostrado potencial para el control de bacterias en la acuicultura, incluyendo su aplicación en larvas de camarón. Varios estudios han investigado el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales y su capacidad para reducir la carga bacteriana en los cultivos acuícolas. (Antunes, 2012)

Por ejemplo, en un estudio realizado por Rodríguez-González et al. (2019), se evaluó el

efecto de la aplicación de aceites esenciales en larvas de camarón en relación con el control de bacterias. Se observó que ciertos aceites esenciales, como el aceite de orégano y el aceite de canela, exhibieron actividad antibacteriana significativa contra cepas bacterianas patógenas para el camarón. Estos aceites esenciales demostraron ser efectivos para reducir la carga bacteriana y mejorar la supervivencia de las larvas de camarón en comparación con el grupo de control (Gracia et al., 2012).

El uso de aceites esenciales en la acuicultura, incluyendo en las larvas de camarón, se ha investigado como una posible estrategia para promover la salud y el rendimiento de los organismos acuáticos. Algunos estudios han explorado la aplicación directa de aceites esenciales en las larvas de camarón para evaluar su efecto en el control de patógenos y mejorar la supervivencia (Domínguez, 2020). Estos aceites esenciales pueden ser extraídos de diversas plantas, como el eucalipto, el orégano, el tomillo, la menta y la canela, entre otros.

En este estudio, los investigadores evaluaron la actividad antibacteriana de varios aceites esenciales sobre las larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Se encontró que ciertos aceites esenciales mostraron efectos positivos al reducir la carga bacteriana y mejorar la supervivencia de las larvas.

En el caso de las larvas de camarón, se ha investigado el uso de aceites esenciales como agentes antimicrobianos y estimuladores del crecimiento. Algunos estudios sugieren que ciertos aceites esenciales pueden tener efectos positivos en la supervivencia y el desarrollo de las larvas, así como en la prevención de infecciones bacterianas y fúngicas.

7.4 Cúrcuma

La Cúrcuma, de la familia Zingiberaceae, conocida popularmente como yuquilla amarilla, jengibre amarillo o cúrcuma, es de origen índico-malayo (Huizen, 2022). La parte útil, el rizoma seco, es utilizada ampliamente en muchos países como colorante alimenticio y especia, y forma parte integrante de la mezcla conocida como curry (OCU, 2023).

La cúrcuma es valorada por la Medicina Ayurvédica como una planta energética, amarga, astringente, picante, calorífica, que resulta un excelente antibiótico natural, capaz de actuar en todos los elementos-tejidos del cuerpo con efectos notables en los sistemas digestivo, circulatorio y respiratorio (Español, 2020)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Zingiberidae

Orden: Zingiberales

Familia: Zingiberaceae

Género: Curcuma

Especie: longa



Figura 10. Cúrcuma

Fuente: (Aguilar, 2022)

7.5 Propiedades de la cúrcuma comprobadas científicamente

7.6 Antioxidante

La cúrcuma es una fuente de antioxidantes naturales, comparada, en sus efectos preventivos del daño por radicales libres, con las vitaminas C y E, así como también con la enzima superóxido dismutasa. Varios estudios confirman su propiedad antioxidante, citoprotectores, hepatoprotectora e inmunomoduladora, mediada por la fuerte capacidad antioxidante, de conjugación y de protección del ADN de los linfocitos contra el daño peroxidativo, tanto del *curcumin* como de los péptidos y residuos de metionina presentes en esta planta (Ramsewak et al., 2000).

Otro estudio concluyó que el curcumin redujo la producción de especies reactivas de oxígeno, los fragmentos de ADN, la formación de micronúcleos y la citotoxicidad en células Hep G2 inducidas por acrilamida (carcinógeno descubierto recientemente en comidas calentadas a altas temperaturas). El efecto protector de la catalasa observado en este caso sugiere que dicha citotoxicidad depende de la producción de peróxido de hidrógeno y que esta protección está mediada por un mecanismo antioxidante. Así, el consumo de curcumina puede ser una vía para prevenir o atenuar la citotoxicidad y genotoxicidad de la acrilamida (Cao et al., 2008).

También se observó que el curcumin induce respuesta al estrés celular en fibroblastos de piel humana normal, a través de la ruta del fosfatidil inositol-3-quinasa/Akt y señales redox, asociado a que este estimula las defensas antioxidantes celulares, lo cual puede ser un acercamiento a la terapia antienvjecimiento (Lima et al., 2011).

7.7 Antiinflamatorio

En animales de laboratorio ha mostrado como actividad antiinflamatoria de la cúrcuma, que puede ser beneficiosa para personas con osteoartritis y artritis reumatoidea (Deodhar et al., 1980). Al respecto, estudios internacionales demuestran el poder antiinflamatorio que posee el curcumin, las cetonas sesquiterpénicas (turmeronas) y los polisacáridos presentes en el rizoma de esta planta, lo que justifica sus indicaciones en procesos inflamatorios artríticos, particularmente en pacientes con tendencia a trombosis, arteriosclerosis y tromboembolismo (Kulkarni et al., 1991).

7.8 Inmunomodulador

Se demostró que los curcuminoides y polisacáridos presentes en la fracción de alta polaridad de un extracto acuoso caliente de *Cúrcuma longa Linn* producen efectos estimulantes sobre la proliferación de células mononucleares de sangre periférica y que la producción de citoquinas TGF- β , TNF- α , GM-CSF, IL-1 α , IL-5, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-13 fue modulada por la fracción del extracto de cúrcuma con mayor proporción de polisacáridos, aumentando también, por dicha fracción del extracto acuoso, la proporción de CD14 positivo.

Tales efectos inmunoestimulantes pueden ser de gran importancia para utilizar esta planta

como suplemento adyuvante en pacientes con cáncer, especialmente cuando la función inmune está deprimida como en el caso de la quimioterapia (Yue et al., 2010).

7.9 Hepatóprotector

Se reconoció la actividad hepato-protectora del rizoma de la planta (con dosis oral de 100 mg/kg) en un estudio preclínico con modelos experimentales *in vitro* e *in vivo* (Hassaninasab et al., 2011). Algunos investigadores demostraron recientemente el efecto quimiopreventivo de la *Curcuma longa* Linn sobre el tejido hepático, en ratones transgénicos con proteína X del virus de la hepatitis B, pues al administrarle un concentrado acuoso de esta planta se redujo la grasa visceral hepática, disminuyó la proporción peso hepático/peso corporal, aumentó el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), que indicó una regeneración del tejido hepático dañado, disminuyó la expresión de la proteína X del virus de hepatitis B y se incrementó la expresión p21 y ciclina D1, con el consiguiente aumento en la proteína p53. Esto sugiere que dicha planta puede resultar un agente hepatoprotector potencial en etapas tempranas o tardías de la enfermedad hepática, relativa al mencionado virus, específicamente de la hepato carcinogénesis (Kim et al., 2011).

7.10 Activador del sistema inmune

La cúrcuma (*Cúrcuma longa*) ha sido objeto de numerosos estudios científicos que han investigado sus propiedades medicinales y su capacidad para fortalecer el sistema inmunológico en diferentes especies, incluidos los organismos acuáticos en la acuicultura (OCU, 2023). A continuación, se presenta algunas de las propiedades de la cúrcuma que han sido respaldadas por evidencia científica en relación con su función como activador del sistema inmune en la acuicultura:

Actividad antioxidante: La cúrcuma contiene compuestos, como la curcumina, que tienen propiedades antioxidantes. Estos compuestos pueden ayudar a reducir el estrés oxidativo en los organismos acuáticos y, por lo tanto, mejorar su respuesta inmunitaria (Salus, 2021).

Efectos antiinflamatorios: La cúrcuma ha demostrado tener efectos antiinflamatorios en diversas especies. Esto es relevante en la acuicultura, ya que la inflamación es una respuesta común ante lesiones e infecciones, y la reducción de la inflamación puede ayudar a mejorar la salud y la respuesta inmunitaria de los organismos acuáticos (Salus, 2021).

Es importante tener en cuenta que la cúrcuma y sus compuestos activos, como la curcumina, pueden variar en su biodisponibilidad y efectividad dependiendo de diversos factores, como la forma de administración y las dosis utilizadas. Además, las respuestas inmunitarias pueden variar según la especie y las condiciones específicas del entorno acuícola.

7.11 Medios de cultivos

Los agares selectivos son empleados para la caracterización de géneros de las principales bacterias responsables de las patologías. Esta selectividad permite establecer una distinción de las bacterias durante la siembra sin requerir el empleo de pruebas bioquímicas o moleculares, para caracterizar las bacterias. Entre los principales agares empleados los siguientes:

7.11.1. Agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS MEBIOTEC)

Se caracteriza por ser un medio altamente selectivo, cumple con los requisitos nutritivos de las especies de *Vibrio* y permite que compitan con la flora intestinal. Todos los miembros del género tienen la capacidad de crecer en los medios con mayores concentraciones de sal y algunas especies son halofílicas (Dickinson, 2003).

En TCBS Agar, los *Vibrios* fermentadores de sacarosa (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) presentan un aspecto de colonias de tamaño mediano, lisas, opacas y amarillas. La mayoría de los demás *Vibrios* de importancia clínica, incluido *V. parahaemolyticus*, no fermentan sacarosa y presentan colonias de color verde. (IDDEX, 2022)

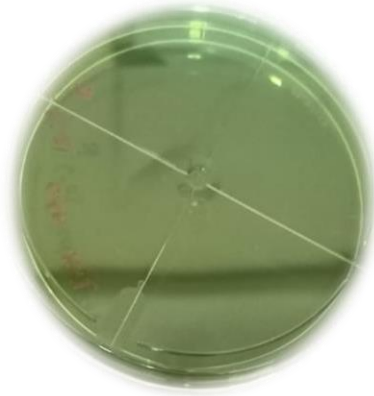


Figura 10 A. Placa de agar tcbs

7.11.2 Agar cetrimide MEBIOTEC

Medio utilizado para el aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* y de otras especies del género. Es éste un medio muy semejante al King A, en el cual la peptonade gelatina aporta los nutrientes para el desarrollo microbiano, el cloruro de magnesio y el sulfato de potasio promueven la formación de piocianina, pioverdina, piomelanina y fluoresceína de *P. aeruginosa* (Britania, 2022). Su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Fármaco Europea, japonesa y de los Estados Unidos de Norteamérica (EP, JP y USP respectivamente). (Santambrosio, 2022)

El proceso comienza con la preparación de una muestra de 0,5 g en los primeros estadios y 1 gr en estadios más grande, que se lava con agua destilada y se recolecta en un tubo eppendorf para su maceración. Luego, se toman 1000 µl de la muestra para la inoculación en una placa vacía. Posteriormente, se vierte el agar líquido a 45 °C en la placa hasta completar 12 ml y se homogeneiza mediante movimientos suaves hasta que se solidifique. (IDDEX, 2022)

Otra opción es realizar la siembra en superficie, donde se utilizan 100 μ l de la muestra macerada y se colocan sobre la placa de agar sólido, esparciéndola uniformemente hasta que se seque por completo. Después, se incuba la placa a 32 °C durante 24 horas.

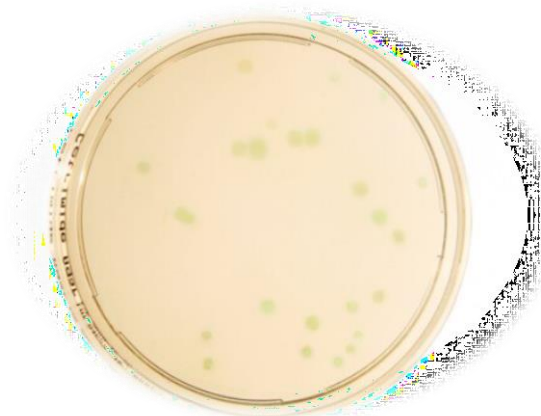


Figura 10 B: Placa de agar Cetrimide

Fuente: Samtanbrosio, 2022

7.12 Concentración Mínima Inhibitoria

Es la concentración más baja (en μ g/ml) de un producto que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana. Por lo general se utiliza un sistema comercial automatizado para determinar las CMI. Un método cuantitativo de prueba de sensibilidad, que ofrezca una CMI, ayuda a determinar qué clase de producto es más eficaz. Esta información puede conducir a la elección adecuada del tratamiento, lo que aumentará las probabilidades de éxito para resolver la infección

y además ayudará en la lucha para frenar la resistencia a antibióticos. (IDDEX, 2022)

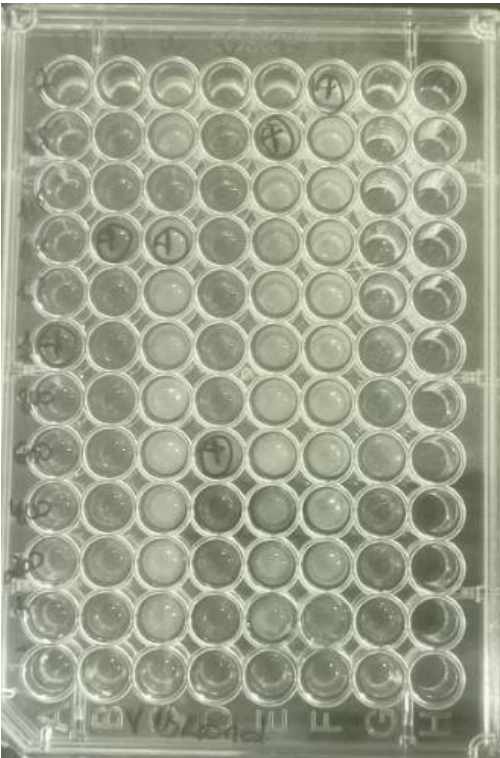


Figura 10: Placa de MIC

8. MARCO METODOLÓGICO

Esta investigación es de enfoque cuantitativo, experimental, exploratorio, será aplicado directamente en el área de producción larvaria mediante ensayos.

8.1 Área de estudio

La realización de esta investigación fue realizada en la provincia de Santa Elena, en el sector de Salinas, donde los ensayos se realizaron en la Empresa MEGALATINA, ubicada en el sector de Punta Carnero – Salinas (Fig. 11 A), con las coordenadas -2.301701, -80.9061101,15 y los análisis microbiológicos en el laboratorio NOVAGESTION localizada en el sector de Mar Bravo bajo las siguientes coordenadas -2.242767, -80.952161. (Figura 11 B).



Figura 11 A. Laboratorio MEGALATINA



Figura 11B. Laboratorio NOVAGESTION

Fuente: Google Maps, 2021.

8.2 Diseño experimental

8.2.1 Unidades experimentales

Para el ensayo se utilizaron 4 tanques, de los cuales 2 tanques serán unidades de control y 2 tanques restantes para la aplicación de cúrcuma. El desarrollo de la investigación se dio en las instalaciones del laboratorio MEGALATINA, en las tres corridas se mantuvo una cantidad de siembra de 1'800.000 larvas por tanque. Se realizaron tres corridas de producción, en la que se mantendrán los mismos tanques controles y experimentales, en fechas diferentes y de manera continua.

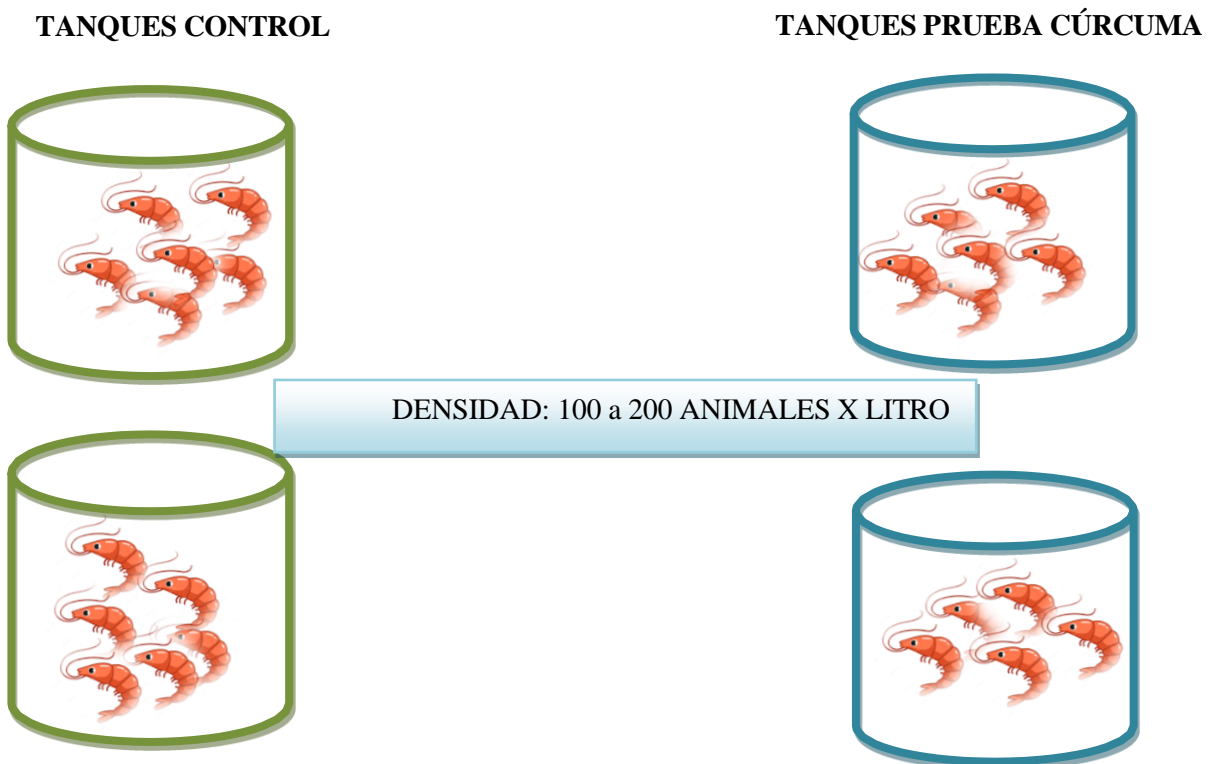


Figura 12. Unidades experimentales.

8.2.2 Tamaño de la muestra

Las muestras fueron tomadas del laboratorio MEGALATINA, donde se recolectaron 4 muestra tanto en el control y tratamiento durante los estadios Nauplio, Zoea, Mysis y Postlarvas durante 3 corridas, se procedió a la observación macroscópica de la larva que permitió a determinar las posibles anomalías patológicas en fresco, posteriormente fueron llevadas al laboratorio NOVAGESTION donde se realizó el proceso microbiológico.

8.2.3 Aplicación de profiláctico

Los 2 tanques de control siguieron el protocolo normal del laboratorio, mientras que para la aplicación de la cúrcuma en su dosificación se estableció dependiendo del estadio en el que se encuentre el organismo como se detalla en la tabla guía. En la cual se fija que para los estadios de N5 se usó 2ppm (gramos/ taque), Z1 se aumentó a 4ppm, Z2 6 ppm, Z3 7ppm, a partir de Mysis se llevó un incremento de 1 a 2 gramos, M1 8 ppm, M2 y M3 con 9ppm y finalmente de PL1 a PL4 se terminó con una dosificación de 10 ppm. (Anexos, Tabla 1.1).

8.2.4. Muestreos

Los muestreos se efectuaron en periodos semanales, tomando los estadios de seguimiento en las corridas, como Nauplios, Zoea, Mysis y Postlarvas, durante cada estadio se realizó una revisión macroscópica, microscópica y microbiológica.

Los animales fueron tomados empleando un recipiente de vidrio, donde se tomó la larva de los tanques separadas de acuerdo con el análisis a realizar y se detalló los requerimientos considerados para cada uno de los análisis, así como los procedimientos realizados.

8.2.5. Revisión macroscópica del estado de salud larvario.

Las consideraciones de los animales fueron monitoreadas, mediante la revisión macroscópica, donde se determinaron características bajo-indicadas, que nos permitieron evaluar el desarrollo de la salud de las larvas. Estas fueron consideradas de la siguiente manera:

- Actividad natatoria.
- Fototaxis
- Presencia de hilos fecales
- Luminiscencia
- Homogeneidad de estadio

8.2.6 Revisión microscópica

Esta revisión consistió en separar alrededor de 10 larvas a zar, colocadas en un porta objetos se observó mediante el microscopio con el fin de encontrar posibles anomalías patológicas, tales fueran estas como:

- Expansión de cromatóforos
- Color de antenas, apéndices y branquias
- Presencia de edemas, manchas, laceraciones
- Zonas oscuras u opacas (necrosis)
- Transparencia de musculo del abdomen y cefalotórax.
- Porcentaje de llenura del intestino
- Deformidades.

Estas características nos permitieron la toma de decisiones durante la evaluación del producto de estudio.

En cuanto al registro de la salud de animal que se llevó al cabo durante los muestreos se lo cualifico en base a una tabla de grado de severidad, donde 0 representa a sin anomalía, 1 presencia

baja de anomalías, 2 presencia moderada de anomalías, 3 presencia alta de anomalías y 4 gran cantidad de anomalías. (Cuéllar, 2018)

8.2.7 Recolección de las muestras

Se realizó con la ayuda de una red de captura de larvas posteriormente las muestras se colocaron en recipientes de vidrio para su respectivo análisis.

8.2.8 Muestreo:

Se procedió a colectar las larvas de camarón en un recipiente estéril utilizando técnicas adecuadas. Toma muestras representativas de un gramo aproximadamente por tanque de las larvas de diferentes áreas del criadero o estanque.

8.2.9 Preparación de muestras:

Se empleó la cámara de flujo laminar (Air Tech Japan, Ltd. Mod. BCM-1002W), empleando la metodología estándar Los análisis y siembras de las muestras se realizarán siguiendo la metodología tradicional según lo indicado en el método estándar, empleando diluciones sucesivas seriadas en una relación 1:10, con inclusión de agar al 2% para agar selectivo TCBS, y

al 5% (v/v) para TSA, TCBS efectuando el conteo total de Unidades Formadoras de colonias UFC.ml.

La siembra de las muestras fue realizada por la metodología de siembra en profundidad empleando un ml. por cada dilución trabajada. Las muestras fueron trabajadas en las diluciones para obtener colonias puras de cuantificación bajo el estándar de 30 a 300 colonias por placa siguiendo metodología según (Urmeneta et al., 2000; Moreno, 2002 B.A.M.,1998).

8.2.10 Análisis microbiológicos y diluciones seriadas:

8.2.10.1 Preparación de agar

Agar TCBS

Se coloca 88g de agar en un litro de agua destilada esterilizada que se debe llevar al fuego hasta punto de ebullición, lo cual dejamos de enfriar y procedemos a verter en cada placa, no necesita autoclavarse. (Kobayashi, 2019).

Agar CETRIMIDE

Este medio de cultivo necesita de ser esterilizado el cual se usa 45,3 gramos para un litro, al igual que los otros anteriores se los lleva a calentar hasta punto de ebullición y se lo deja auto clavar por un período de 1 hora y 45 minutos. Verter en placas. (Kobayashi, 2019)

8.2.10.2 Prepara una serie de diluciones

Para la dilución se usa tubos eppendorf con agua salina en un volumen de 9 ml, que a partir de un gramo de muestra ya macerado se efectuaron las respectivas diluciones tomando 1 ml para siembra, donde se vierte el sobrenadante en el agar ya solidificado y se extiende con un asa de platina.

8.2.10.3 Siembra de muestras:

Para la siembra de las muestras de larvas, como primer punto se macero un gramo de larva previamente desinfectada de la cual se utilizó 1 ml para empezar hacer las diluciones en los diferentes medios de cultivos, siendo el caso de CETRIMIDE se usó 10^{-1} y TCBS Y CHROMOAGAR 10^{-2} y 10^{-3} , la muestra que se colocó en la placa se extendió por medio de un asa como método de expansión de las colonias, finalmente obtener el resultado.

8.2.10.4 Incubación:

En este proceso final, se llevan las placas previamente con la muestra depositada a incubar por un lapso de 24 horas a una temperatura de 32°C , tiempo en el cual se obtuvo resultados de las colonias presentes en cada siembra.

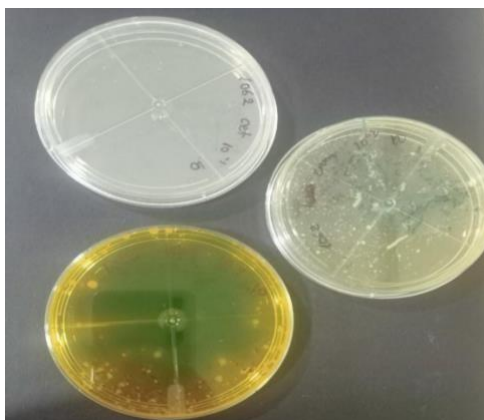


Figura 13. Medios de cultivo para análisis microbiológicos

Después de la incubación, observa las placas de agar y registra el número, tamaño, forma y color de las colonias microbianas presentes.

8.3 Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Se realizó el conteo de las colonias presentes en la caja Petri posterior se divide esta cantidad por el total de ml que se colocaron en la caja y se multiplica por la dilución como se indica posteriormente:

Fórmulas para determinar el número de colonias

$$\text{UFC/mL} = \text{Número de colonias} \times \text{dilución/ml}$$

9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

9.1 Identificación de anomalías patológicas en los diferentes estadios larvarios

Al paso de la corrida se no observó afectaciones patológicas que se relacionen con enfermedades tales como síndrome de bolitas, luminiscencia, NHP o EMS. Sin embargo, en los tanques control se detalló que el intestino estuvo inflamado, células dispersas y músculo disminuido, además, que se presentó fue un retraso de 8% correspondiente a la segunda corrida para lo cual fue tratado con carbonato calcio para ayudar la muda. (Tabla 3).

9.1.2 Corrida 1

En la Figura 14, se observa de forma microscópica las muestras larvarias con tratamiento de cúrcuma correspondientes a los estadios Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida1, en los que no se muestran anomalías patológicas por presencia bacteriana en ningún estadio larvario analizado.

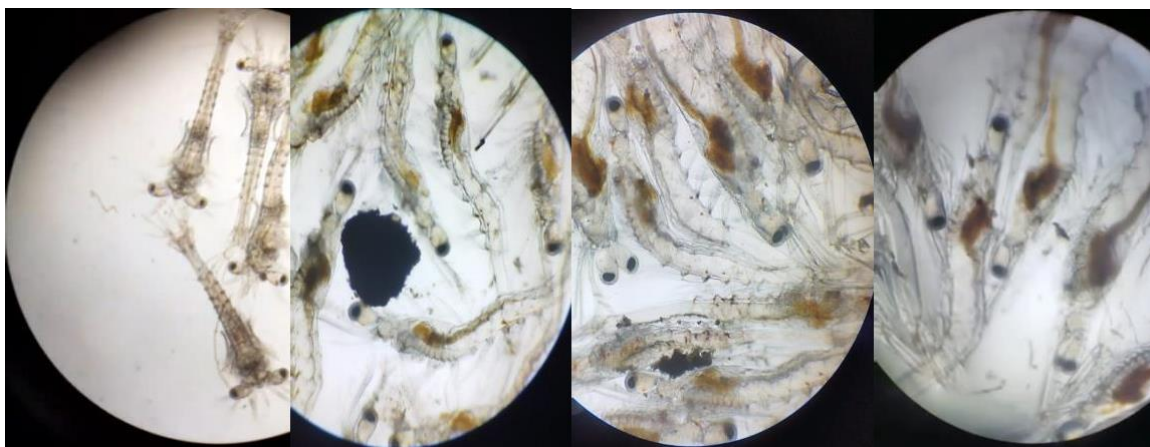


Figura 14. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes a los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 1.

En la Figura 15 se exhiben las observaciones microscópicas de las muestras larvares correspondientes al grupo control en los estadios Z3, M3, PL4, PL8 en los que no se muestran anomalías patológicas por presencia bacteriana en ningún estadio larvario analizado.

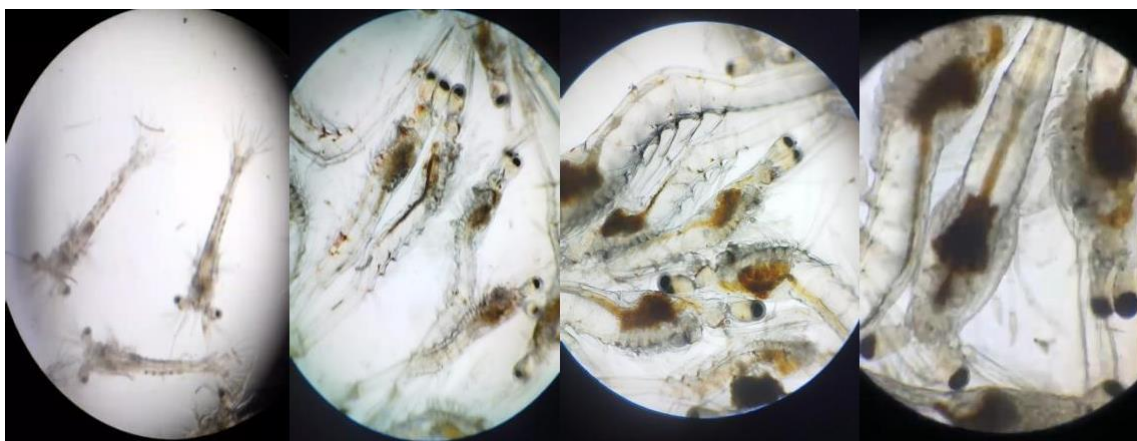


Figura 15. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes al grupo control en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 1.

9.1.3 Corrida 2

En la Figura 16, muestra las observaciones microscópicas de las muestras larvianas correspondientes al grupo control en los estadios Z3, M3, PL4, PL8 en los que no se muestran anomalías patológicas por presencia bacteriana en ningún estadio larvario analizado.

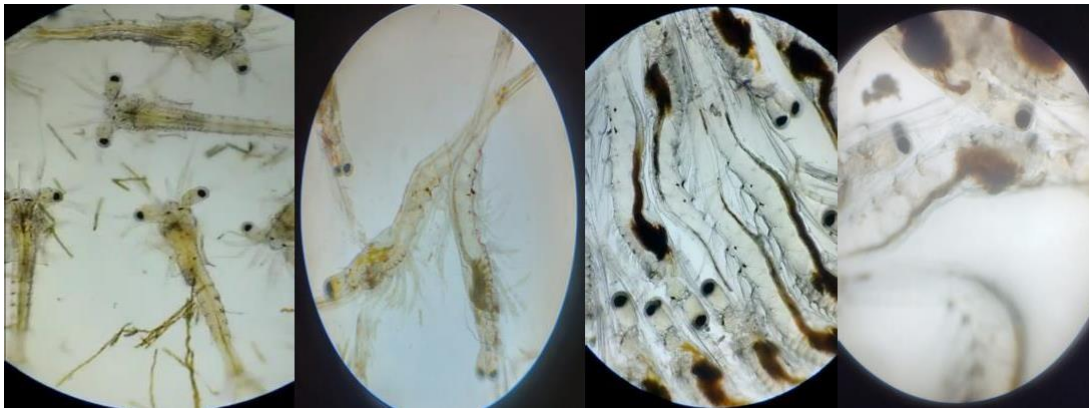


Figura 16. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes al grupo control en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 2.

En la Figura 17, se presenta las observaciones microscópicas de las muestras larvianas correspondientes al grupo con tratamiento en los estadios Z3, M3, PL4, PL8 en los que no se muestran anomalías patológicas por presencia bacteriana en ningún estadio larvario analizado.

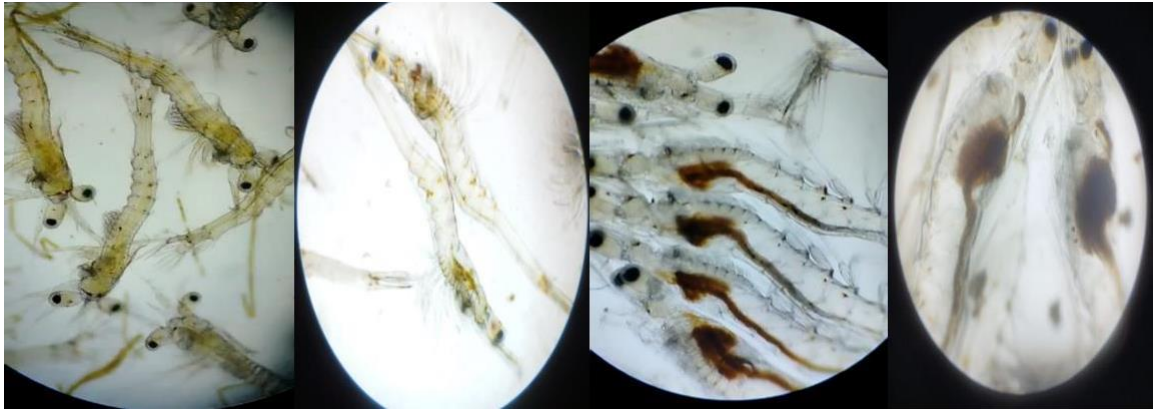


Figura 17. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes al grupo con tratamiento en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 2.

9.1.4. Corrida 3

La Figura 18, presenta las observaciones microscópicas de las muestras larvianas correspondientes al grupo control en los estadios Z3, M3, PL4, PL8, en los que se muestran ciertas anomalías patológicas por presencia bacteriana en los estadios larvario analizado. En estas imágenes se manifestó un retaso en la muda. (Tabla 2.1)

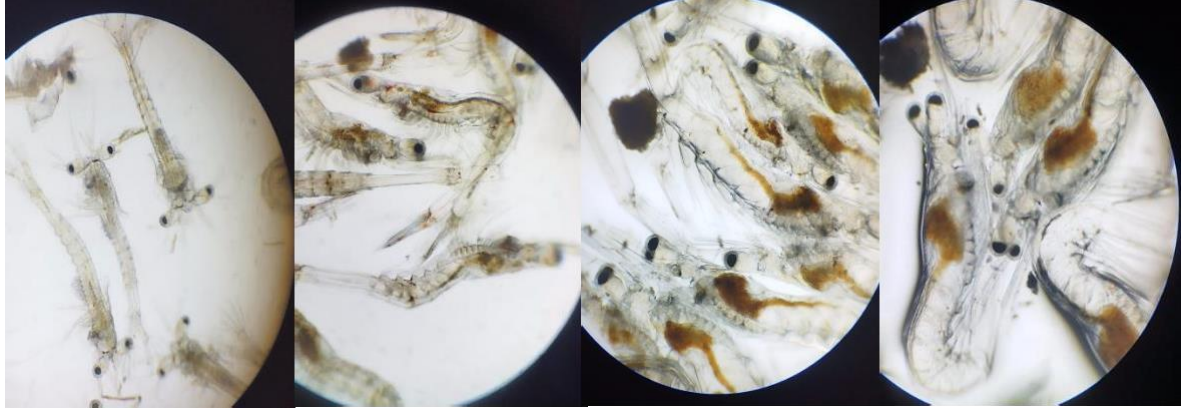


Figura 18. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes al grupo control en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 3.

En la Figura 19, se presenta las observaciones microscópicas de las muestras larvarias correspondientes al grupo con tratamiento en los estadios Z3, M3, PL4, PL8, en los que se muestran cero anomalías patológicas por presencia bacteriana en los estadios larvario analizado.

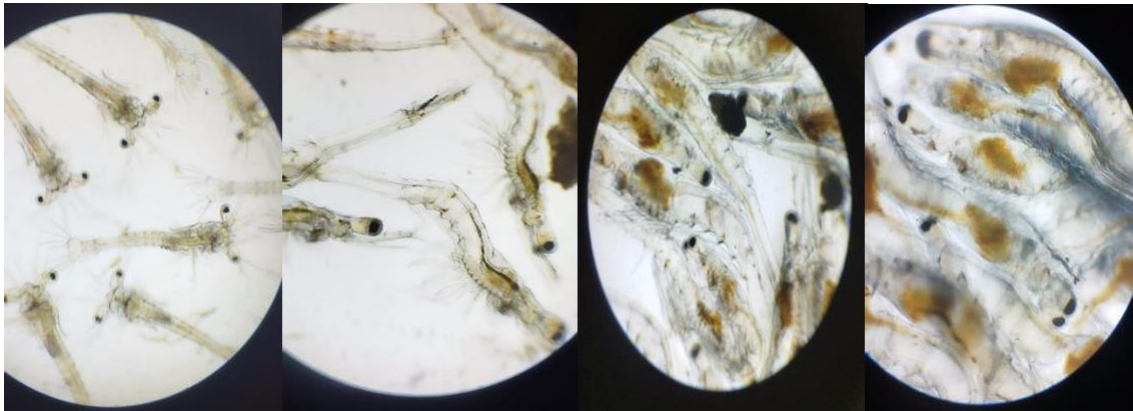


Figura 19. Observación microscópica para identificación de anomalías patológicas correspondientes al grupo con tratamiento en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8 de la corrida 3.

10. Análisis bacteriológicos

Los análisis microbiológicos se realizaron en 4 estadios los cuales son en Z3, M3, PL4 Y PL8.

10.1 Corrida 1

En el estadio Z3 se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 1, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas con una concentración de 7.2×10^4 en el TQ control 1, Así también, se observa presencia de *v. vulnificus* en el TQ 17 con una concentración de 9.6×10^3 respectivamente.

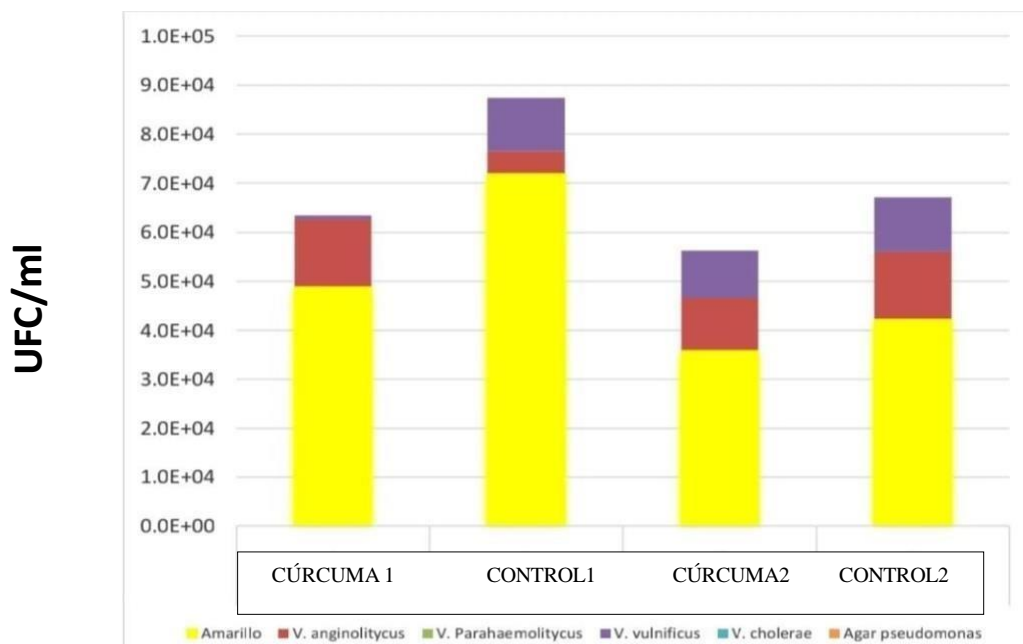


Gráfico 1. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1,

Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 1 en el estadio larvario Z3.

En el estadio M3 se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 2, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas con una concentración de 7.2×10^4 en el TQ Control 1. De igual manera, se observa presencia de *v. vulnificus* en el cúrcuma 2 con una concentración de 9.6×10^3 respectivamente.

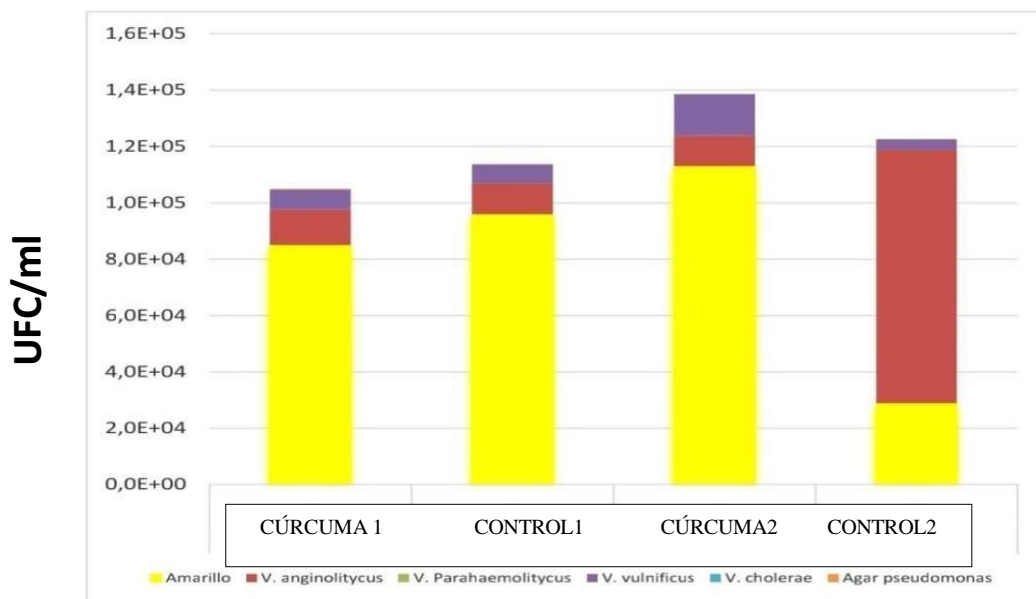


Gráfico 2. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 1 en el estadio larvario M3

En el estadio PL4 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 3, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas en cúrcuma 1 con una concentración de 6.2×10^2 y cúrcuma 2 con una concentración de 1.0×10^4 . Así también, se observa no hubo mayor presencia de bacterias patógenas en los demás tanques

analizados respectivamente.

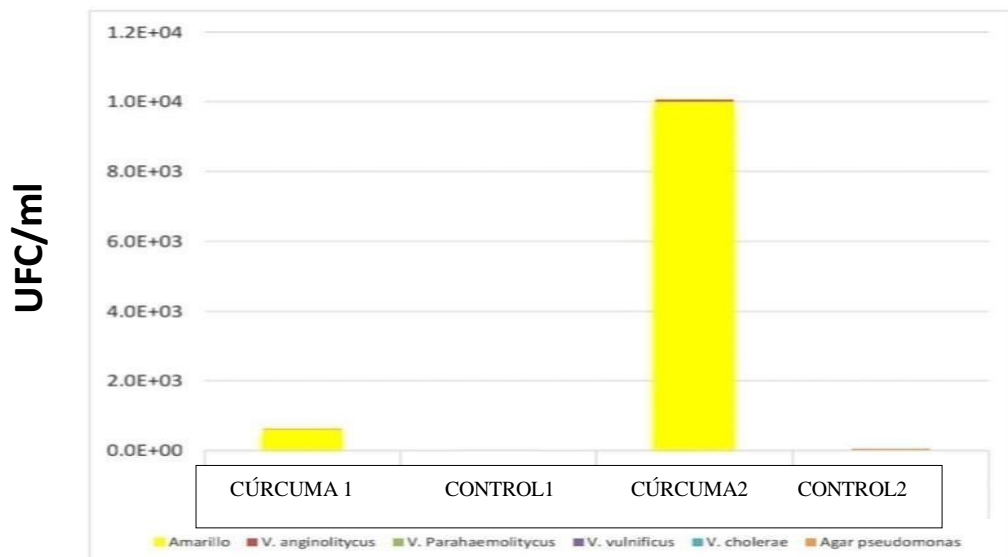


Gráfico 3. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 1 en el estadio larvario PL4.

En el estadio PL8 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 4, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas en los tanques control 2 con una concentración de 9.3×10^4 y tanque control 1 con una concentración de 7.5×10^4 . De igual forma, se observa que no hubo mayor presencia de bacterias patógenas en los tanques analizados respectivamente.

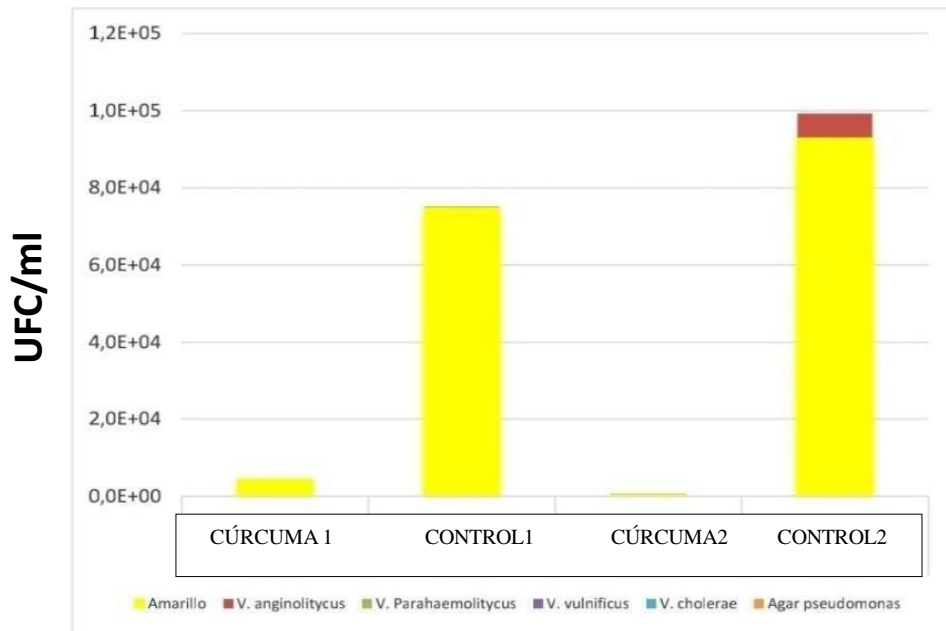


Gráfico 4. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 1 en el estadio larvario PL8.

10.2 Corrida 2

En la gráfica 5 se muestra el estadio Z3 en el que se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico, se obtuvo como resultado mayor presencia de bacterias amarillas con una concentración de 8.7×10^4 en el Control 1. Así también, se observa presencia de *v. vulnificus* en el Cúrcuma 2 con una concentración de 8.8×10^3 respectivamente.

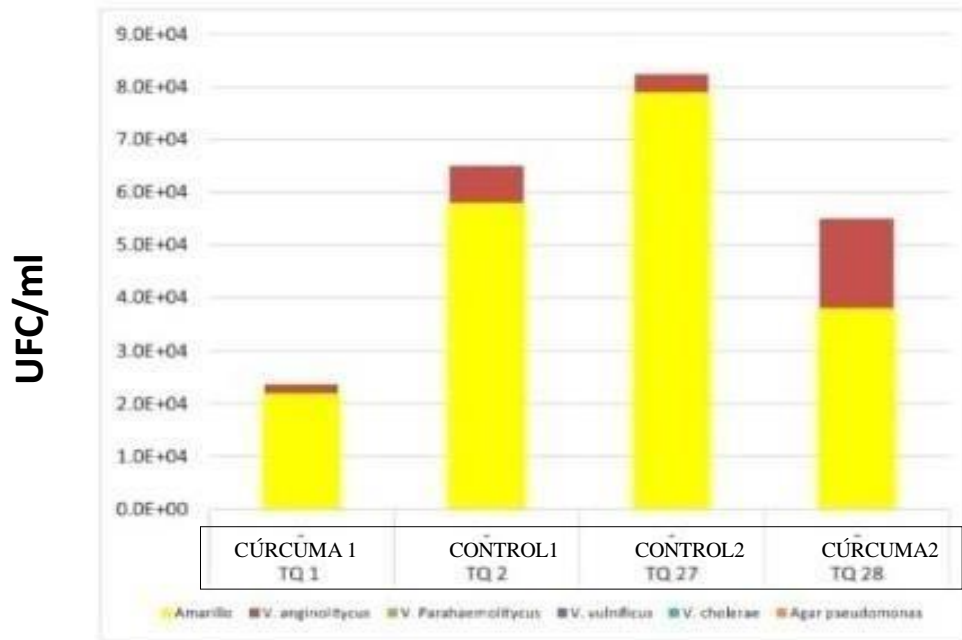


Gráfico 5. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Control 2 y Cúrcuma 2 correspondiente a la corrida 2 en el estadio larvario Z3.

En el estadio M3 se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 6, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas con una concentración de 7.8×10^3 en el Control 2. De igual forma, se observa presencia de *Vibrio alginolyticus* en el Cúrcuma 2 con una concentración de 1.2×10^2 respectivamente.

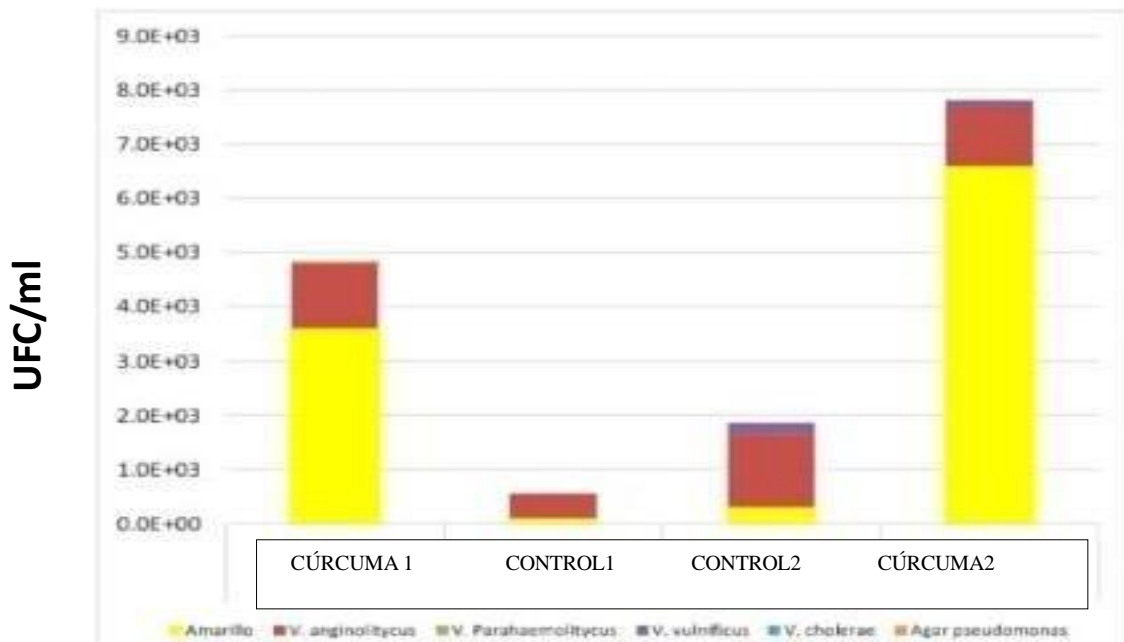


Gráfico 6. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Control 2 y Cúrcuma 2 correspondiente a la corrida 1 en el estadio larvario M3.

En el estadio PL4 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico representado en la gráfica 7, en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas en los tanques Cúrcuma 2 con una concentración de 6.6×10^3 y Cúrcuma 1 con una concentración de 3.6×10^3 . Así también, se observa que hubo ligera presencia de *v. alginolyticus* en el tanque Control 1.



CÚRCUMA 1	CONTROL1	CONTROL2	CÚRCUMA2
-----------	----------	----------	----------

Gráfico 7. Representación de la presencia de patógenos en los tanques tanques Cúrcuma 1, Control 1, Control 2 y Cúrcuma 2 correspondiente a la corrida 2 en el estadio larvario PL4

En el estadio PL8 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 8, presentando mayor presencia de bacterias amarillas en todos los tanques, destacando el TQ 1 con una concentración de 2.2×10^4 y tanque 11 con una concentración de 7.9×10^4 . De igual forma, se observa que no hubo mayor presencia de bacterias patógenas en los tanques analizados respectivamente

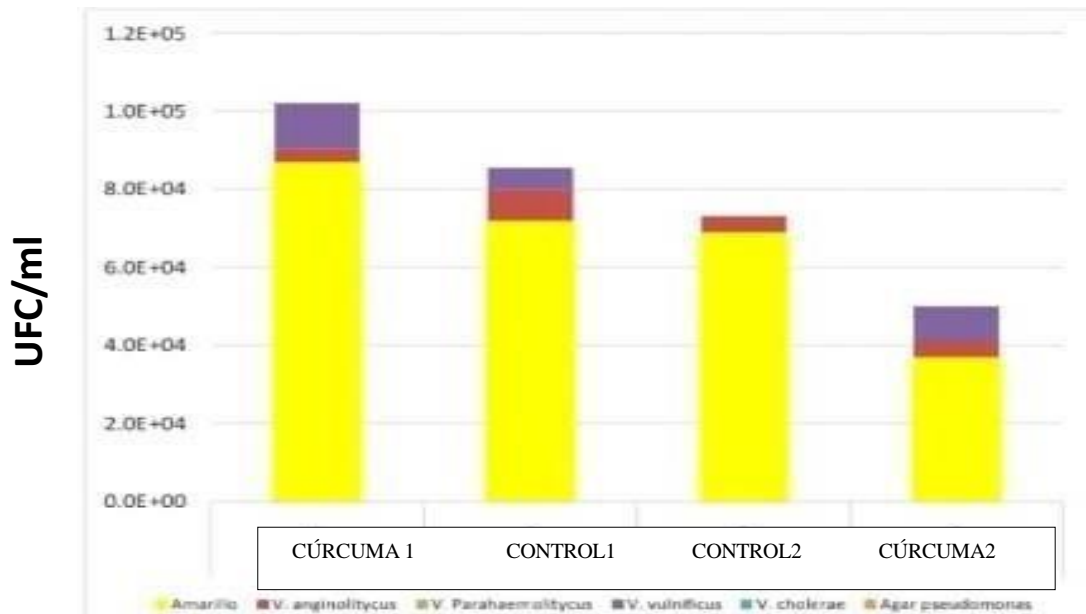


Gráfico 8. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Control 2 y Cúrcuma 2 correspondiente a la corrida 2 en el estadio larvario PL8

10.3 Corrida 3

En la gráfica 9 se muestra el estadio Z3 en el que se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico, se obtuvo como resultado mayor presencia de bacterias patógenas con una concentración de 7.9×10^2 en el tanque Cúrcuma 1 y Control 1 se muestra una concentración de 7.9×10^2 .

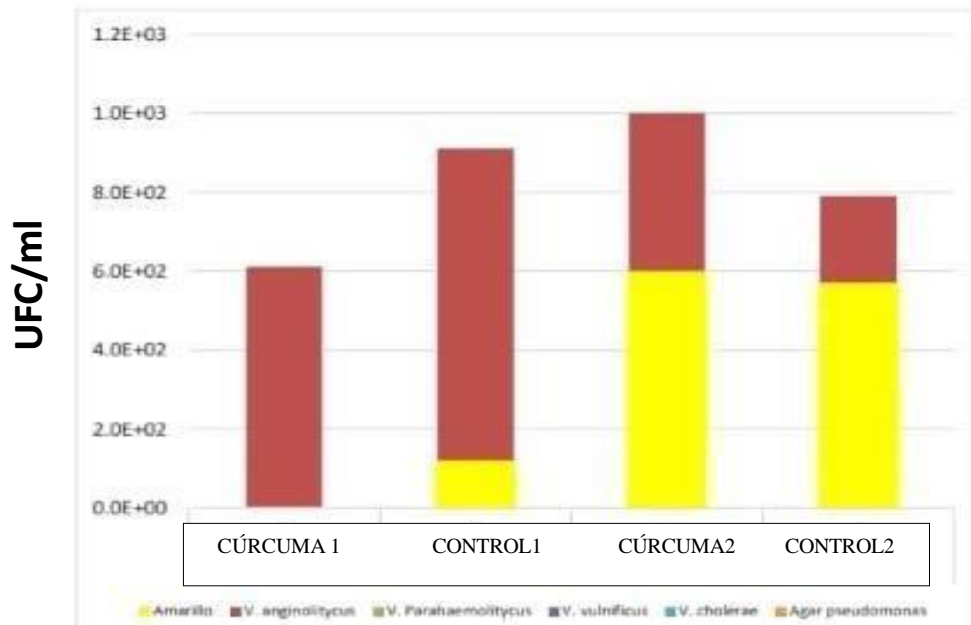


Gráfico 9. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 3 en el estadio larvario Z3

En la gráfica 10 se muestra el estadio M3 en el que se colectaron 0,5 gr de muestra para proceder al respectivo análisis bacteriológico, se obtuvo como resultado mayor presencia de bacterias amarillas con una concentración de 1.9×10^4 en el Control 2, así como en todos los tanques analizados.

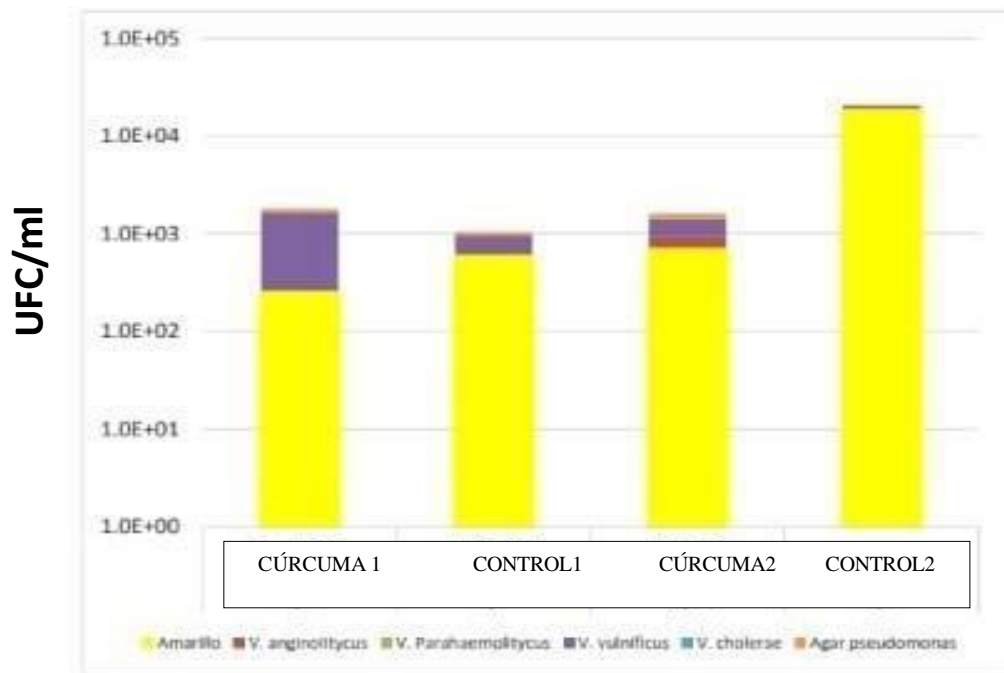


Gráfico 10. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 3 en el estadio larvario M3.

En el estadio PL4 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico representado en la gráfica 11 en la que se muestran mayor presencia de bacterias amarillas en los tanques Control 2 con una concentración de 3.9×10^3 , así como en los demás tanques. De igual forma, no se evidencio concentraciones de UFC elevadas en las muestras utilizadas.

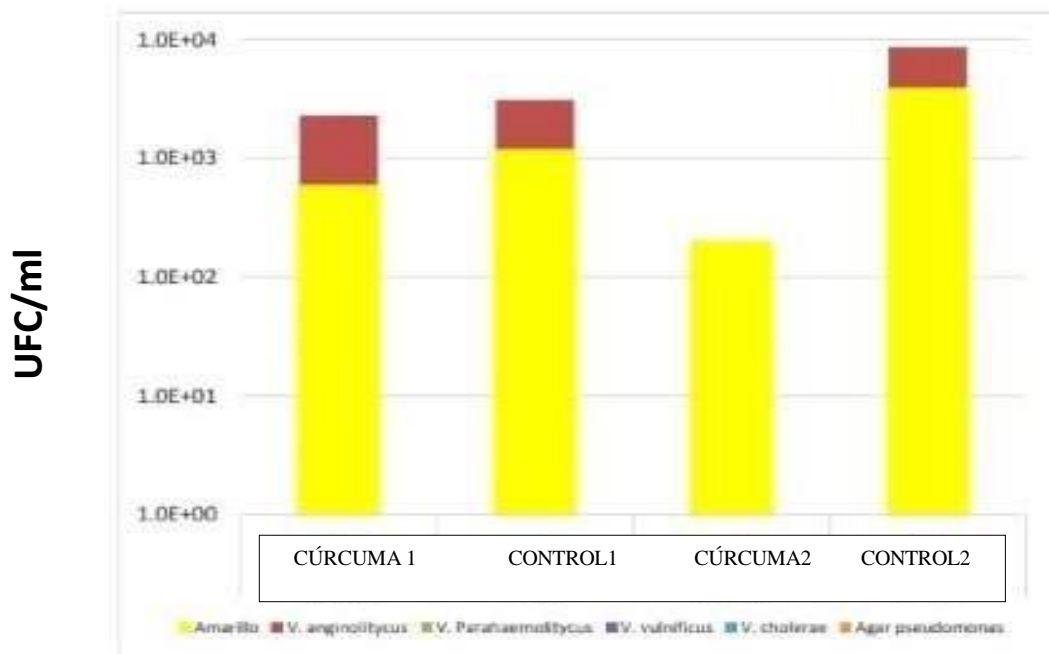


Gráfico 11. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 3 en el estadio larvario PL4

En el estadio PL8 se colectaron 1 gr de muestra para proceder al análisis bacteriológico como se puede observar en la gráfica 12, presentando mayor presencia de bacterias amarillas en todos los tanques, destacando el Control 1 con una concentración de 7.9×10^4 y tanque Control 2 con una concentración de 1.6×10^2 . De igual forma, se observa que no hubo mayor presencia de bacterias patógenas en los tanques analizados respectivamente.

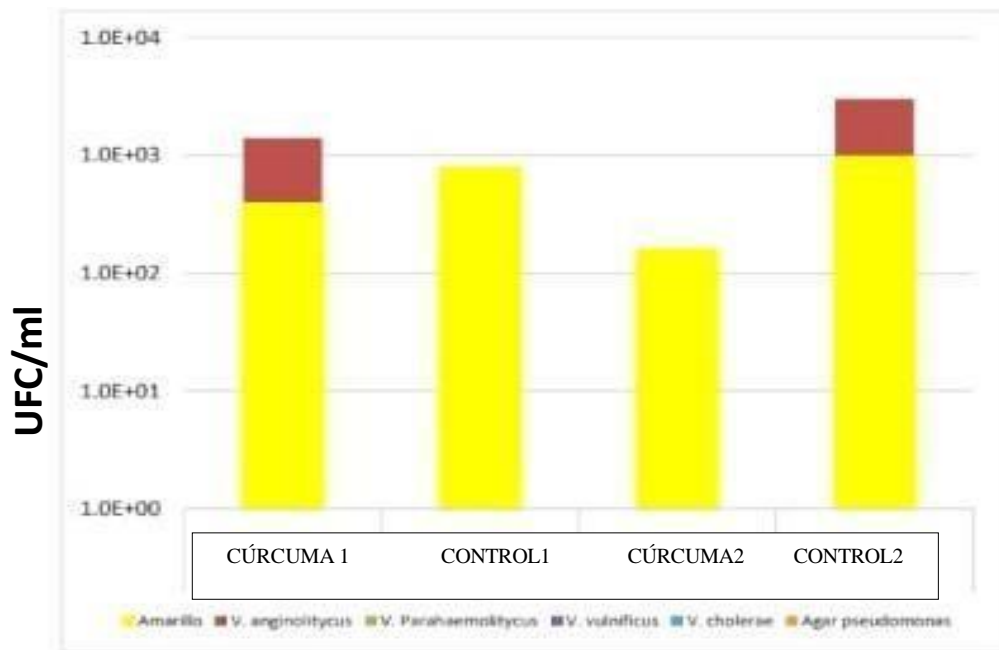


Gráfico 12. Representación de la presencia de patógenos en los tanques Cúrcuma 1, Control 1, Cúrcuma 2 y Control 2 correspondiente a la corrida 3 en el estadio larvario PL8.

10.4. Promedios por corrida

Corrida 1

La gráfica 1, muestra la representación del comportamiento de patógenos correspondiente al promedio de la corrida 1. Se observa de manera general la presencia de bacterias amarillas, que durante todo el proceso de cultivo fueron registrados en un número elevado 6.08×10^4 UFC para los estadios Z3, M3, PL4, PL8 del Control 1 respectivamente. Así mismo, para el tanque Control 2 hubo presencia de *V. alginolyticus* con una concentración de 8.28×10^2 UFC en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8.

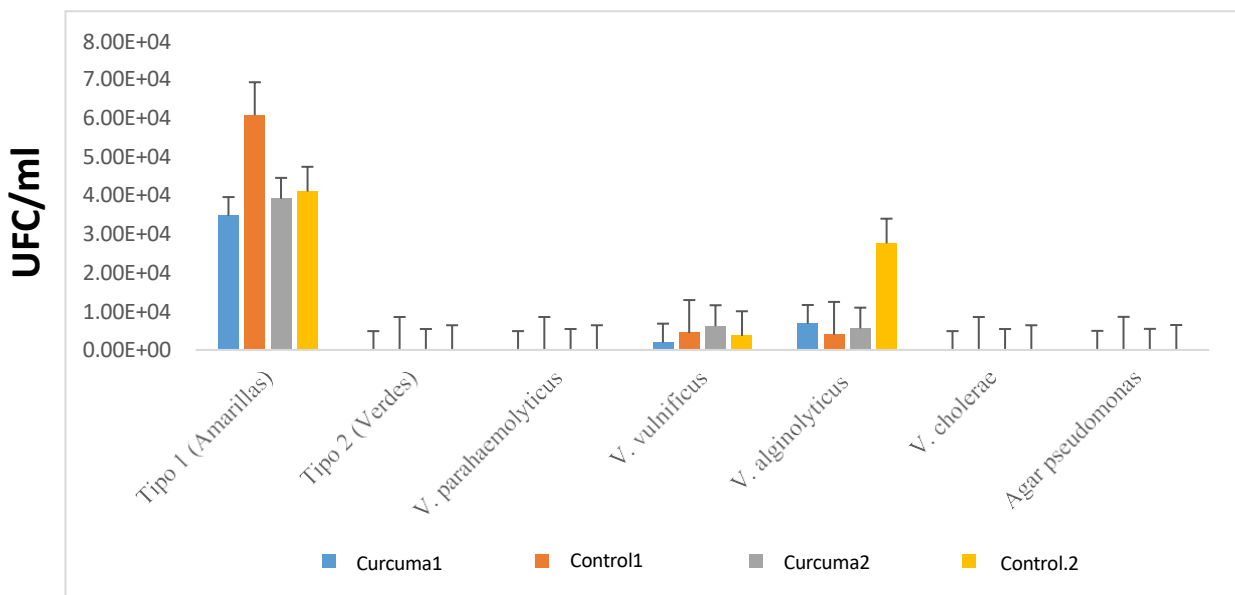


Gráfico 13. Promedios de la corrida 1.

Corrida 2

La gráfica 2, se observa la representación del comportamiento de patógenos correspondiente al promedio de la corrida 2. Se presenta de manera general la presencia de bacterias amarillas, que durante todo el proceso de cultivo fueron registrados en un número elevado 4.61×10^4 UFC para los estadios Z3, M3, PL4, PL8 del Control 2 respectivamente. De igual manera, para el tanque Cúrcuma 1 hubo elevada presencia de *V. alginolyticus* con una concentración de 4.92×10^3 UFC en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8.

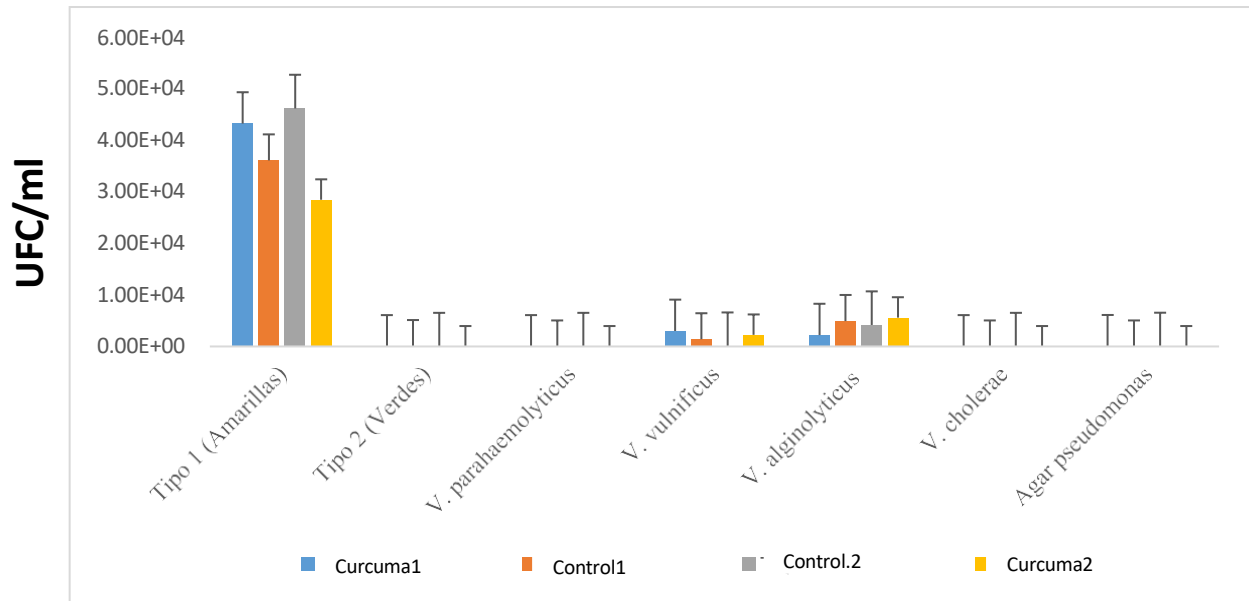
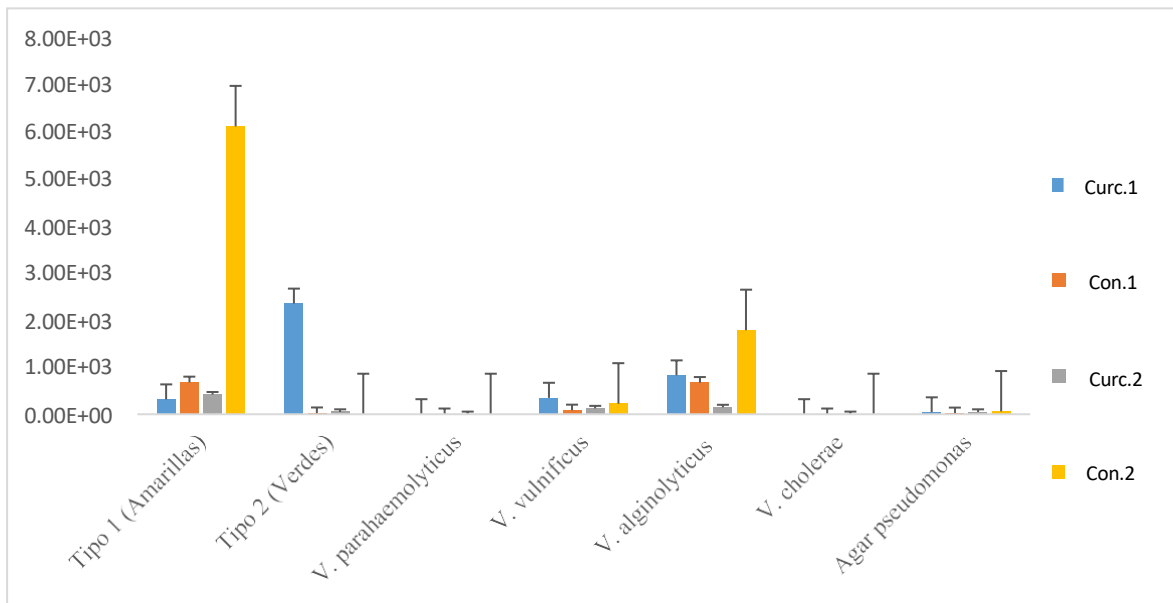


Gráfico 14. Promedios de la corrida 2.

Corrida 3

La gráfica 3, se presenta el comportamiento de patógenos correspondiente al promedio de la corrida 3. El cual, refleja de manera general que la presencia de bacterias amarillas durante todo el proceso de cultivo fue elevada con un número 6.12×10^3 UFC para los estadios Z3, M3, PL4, PL8 del tanque Control 2 respectivamente. Así también, para el tanque Cúrcuma 1 hubo elevada presencia de bacterias verdes con una concentración de 2.35×10^3 UFC en los estadios de Z3, M3, PL4, PL8.



UFC/ml

Gráfico 15. Promedios de la corrida 3.

En resumen, durante las corridas y en comparación del grupo control se registraron niveles más altos de bacterias como un resultado promedio de UFC/ml en un exponente de 10^{-4} en colonias amarillas, 10^{-3} colonias verdes y para *Pseudomonas* la cantidad de UFC/ml se mantuvo en 10^{-2} ; por el contrario, para el grupo de tratamiento de cúrcuma se reportó las UFC/ml en colonias amarillas 10^{-2} , para verdes negativos y *pseudomonas* en los primeros estadios (N5 y Zoea I) 10^{-1} y en el resto de análisis no hubo presencia.

10.5 Porcentaje de supervivencia de la producción.

Para el tanque Cúrcuma 1 se obtuvo un 85% de supervivencia, dado que la presencia de patógenos durante todo el ciclo de producción no fue representativa teniendo solo dos picos de UFC con 10^5 en *Vibrios* verdes en pocos estadios.

Lo que corresponde al tanque Control1 se obtuvo un 54% de supervivencia, menos que el tanque Cúrcuma 1, lo que resulta de la elevada presencia de *Vibrios* verdes con dos picos de UFC con 10^4 , en varios estadios de postlarvas como se observa en el gráfico 16.

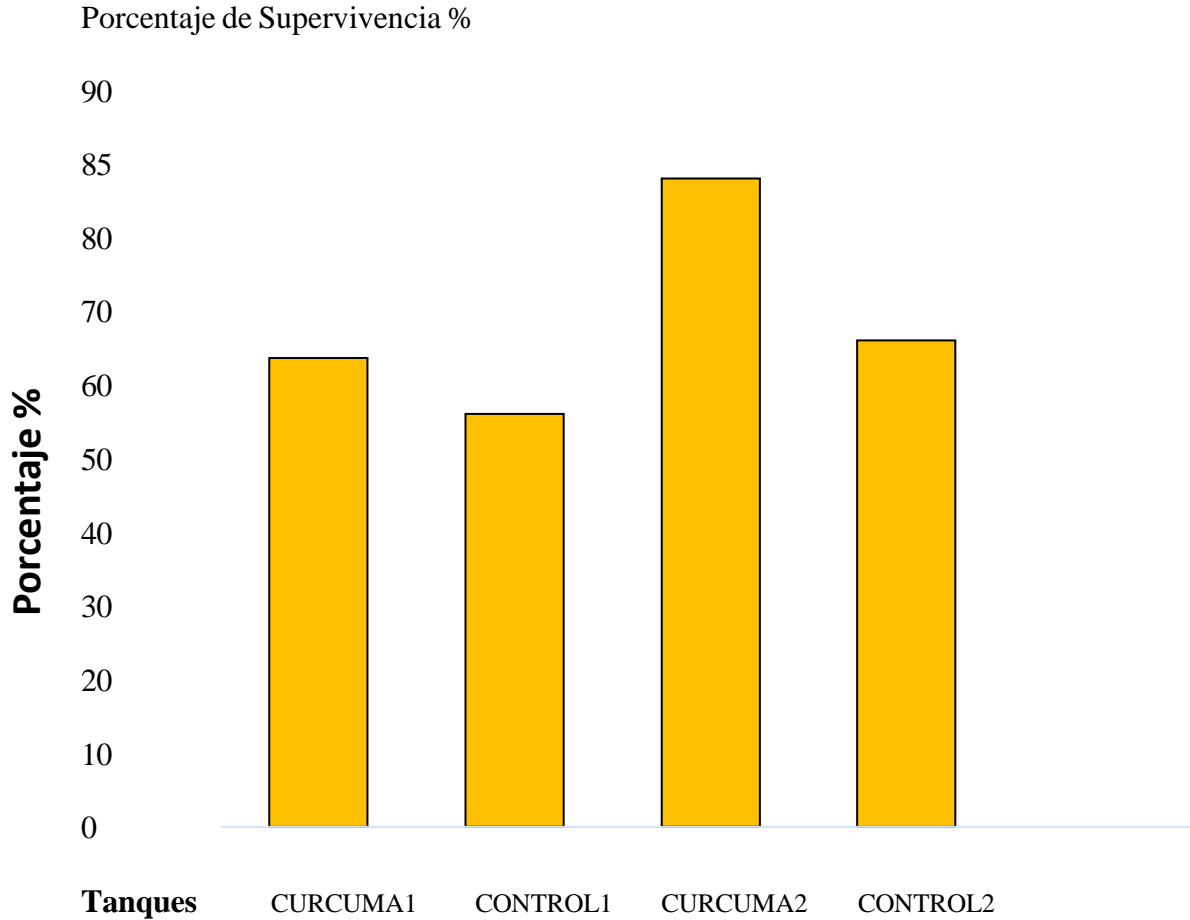


Gráfico 17. Porcentaje de supervivencia por tanques analizados de la corrida 1

Corrida 2

Para la corrida dos se obtuvo los siguientes resultados:

Para el tanque Cúrcuma 2 se obtuvo un 85% de supervivencia, dado que la presencia de patógenos durante todo el ciclo de producción no fue representativa teniendo solo dospicos de UFC con 10^2 y 10^3 en *Vibrios* verdes en pocos estadios. Correspondiente al tanque Control 1 del gráfico

17, se obtuvo un 54% de supervivencia, menos que el tanque Cúrcuma 2, lo que resulta de la elevada presencia de *Vibrios* verdes con dos picos de UFC con 10^4 , en varios estadios de postlarvas.

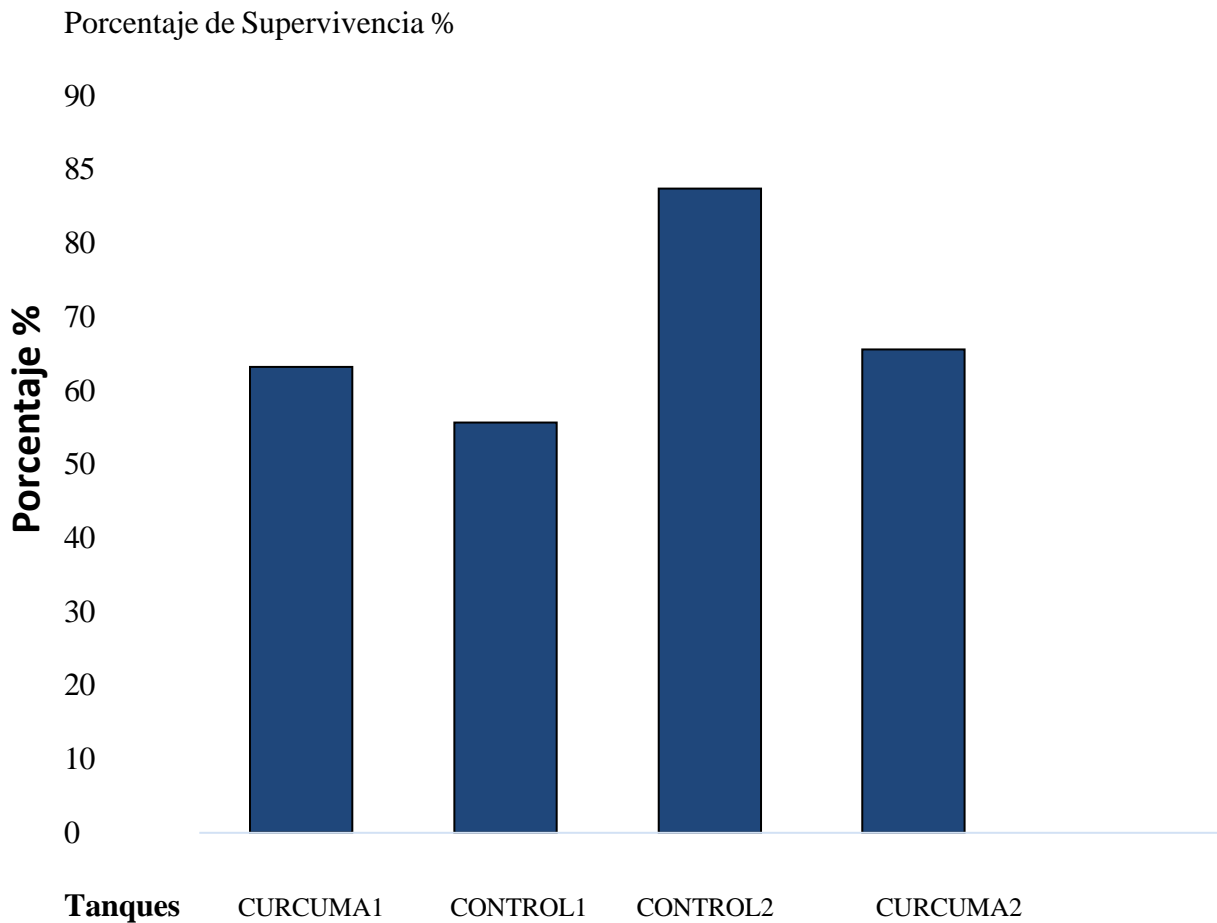


Gráfico 18. Porcentaje de supervivencia por tanques analizados de la corrida 2

Corrida 3

Para el tanque 36 se obtuvo un 80% de supervivencia, dado que la presencia de patógenos durante todo el ciclo de producción de la corrida no fue representativa teniendo solo un pico de UFC con 10^2 en *Vibrios* verdes en pocos estadios. En los tanques Cúrcuma 1 y Control 1 se obtuvo un 65% de supervivencia, menos que el tanque Cúrcuma 2, lo que resulta de la elevada presencia

de *Vibrios* verdes con dos picos de UFC con 10^2 y 10^3 en varios estadios de postlarvas como se observa en el tanque Control 2.

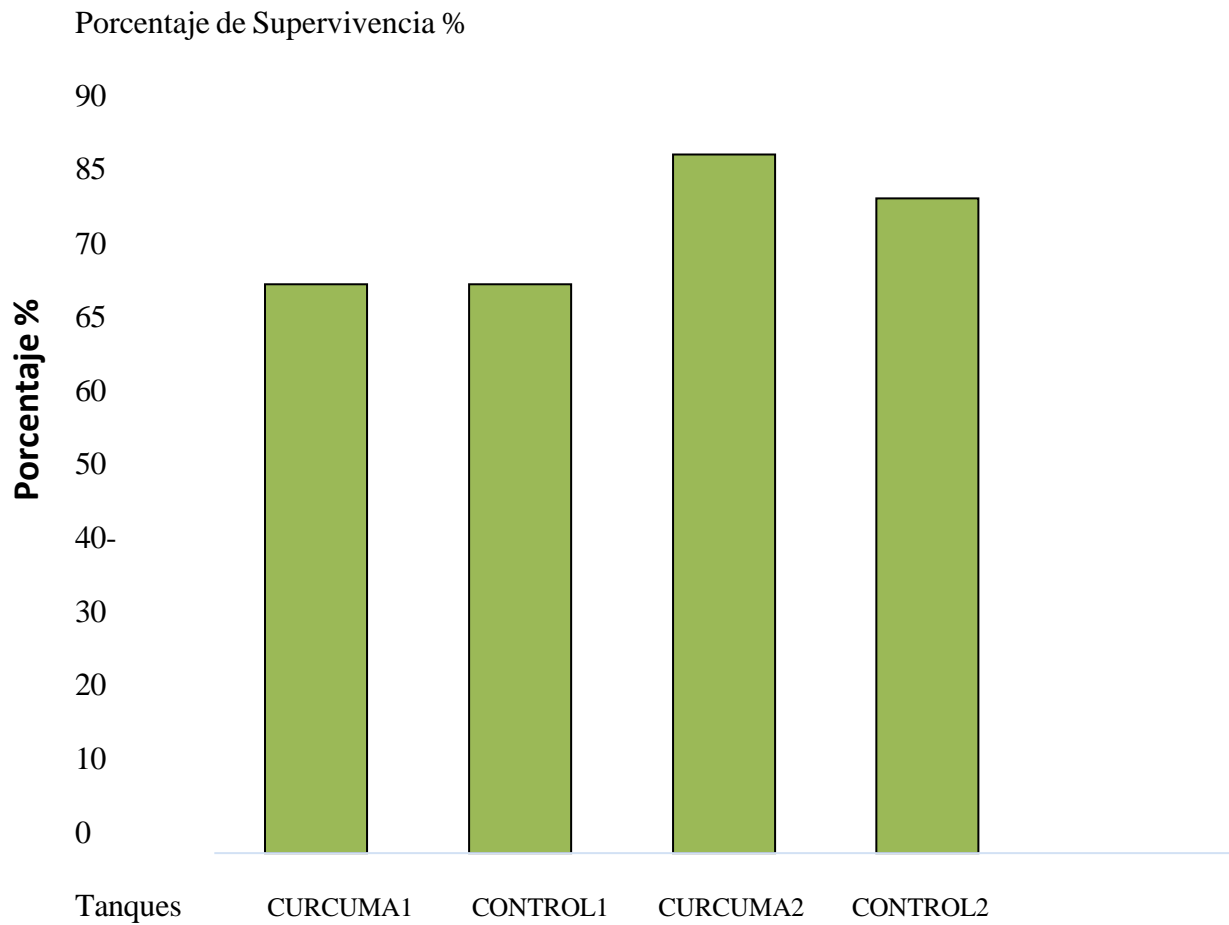


Gráfico 19. Porcentaje de supervivencia por tanques analizados de la corrida 3

10.6 Concentración Mínima Inhibitoria

La Concentración Mínima Inhibitoria mostró como resultado a las 24 horas un color amarillo en medio líquido durante las primeras dosis donde se hace presente un alto a la bacteria y la segunda definitiva concentración (color rojo) en medio sólido después de las 48 horas nos indica la dosis exacta donde la cúrcuma fue capaz de contrarrestar con la bacteria patógena.

Después de enfrentar a la cúrcuma en 10 dosificaciones, siendo éstas de mil en mil con el fin de encontrar la dosis más baja en la cual radicaría las bacterias, teniendo como resultado: *V.*

parahaemolyticus 5.000 ppm, *V harveyi* 5,000 ppm, *Vibrio vulnificus* 3, 000 ppm, *Vibrio alginolyticus* 4,000 ppm, *Pseudomonas* 7,000 ppm.

CEPAS BACTERIANAS	10.000 ppm	9.000 ppm	8,000 ppm	7.000 ppm	6,000 ppm	5,000 ppm	4,000 ppm	3,000 ppm	2,000 ppm	1,000 ppm
<i>V. parahemolyticus</i>	N	N	N	N	N	N	P	P	P	P
<i>V. harvery</i>	N	N	N	N	N	N	P	P	P	P
<i>V. vulnificus</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	P	P
<i>V. algynoliticus</i>	N	N	N	N	N	N	N	P	P	P
<i>Pseudomona</i>	N	N	N	N	N	P	P	P	P	P

Figura 20. Resultados del MIC

10.7 Correlación de resultados de corridas

En el análisis de componentes principales se observa correlación moderada entre las componentes *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* y *cholerae* ($r=0,549$) y ($r=0,506$) de las corridas analizadas en los distintos grupos de control y estadios estudiados (Z3, M3, PL4, PL8). Dando lugar a que no existe diferencias significativas, es decir, son proporcionales al tratamiento usado durante el presente estudio (Gráfico 20).

Además, eso hace referencia que debe aplicarse cúrcuma como medida profiláctica dado los resultados observados en la presente investigación.

Para el análisis estadístico de la investigación se usó el método de Tukey con un resultado del 95% de confianza.

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
Tipo 1 (Amarillas)	0,150	0,563	-0,441	-0,534	0,385	-0,032	-0,025	-0,177
Tipo 2 (Verdes)	0,366	-0,431	-0,198	0,023	0,134	-0,077	-0,752	-0,226
<i>V. parahaemolyticus</i>	0,449	0,052	-0,227	-0,003	-0,622	-0,519	0,242	-0,171
<i>V. vulnificus</i>	0,434	0,164	0,245	0,549	0,506	-0,107	0,260	-0,295
<i>V. alginolyticus</i>	0,076	-0,626	-0,401	-0,149	0,343	-0,067	0,502	0,211
<i>V. cholerae</i>	0,450	0,055	-0,223	0,110	-0,248	0,810	0,099	0,079
Agar pseudomonas	-0,432	-0,136	-0,273	0,135	-0,101	0,184	0,147	-0,798
% Supervivencia	0,242	-0,232	0,608	-0,600	-0,024	0,136	0,156	-0,338

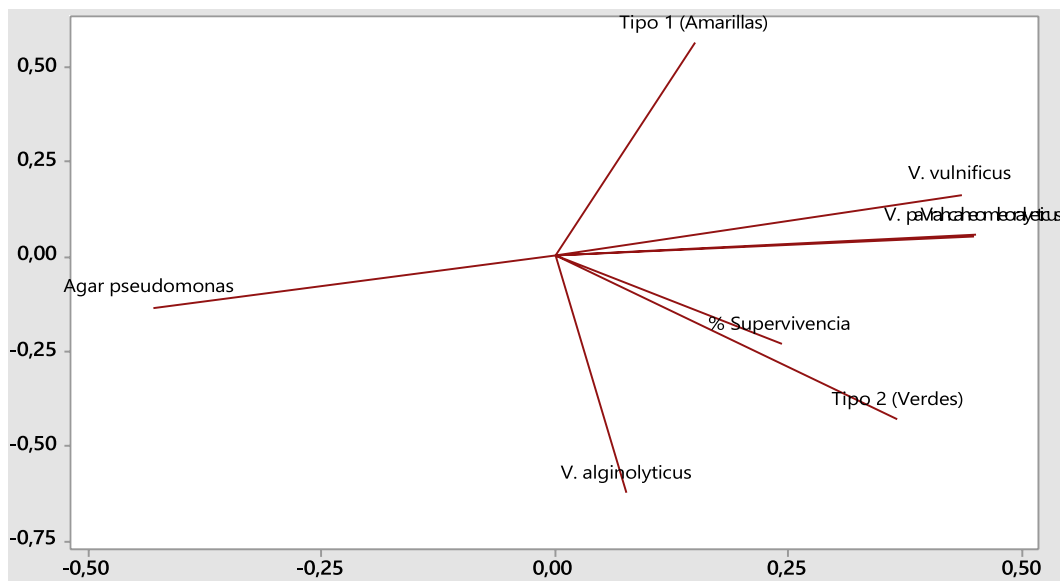


Gráfico 20. Análisis de componentes principales

11. DISCUSIÓN

En la presente investigación se demostró que la *C. longa*, ayudó a: Reducir las cargas bacterianas en los principales estadios, Mejorar la producción en base a la supervivencia con un promedio del 80% durante las tres corridas, con esto podemos afirmar que este producto de origen orgánico además de que en varios estudios han demostrado las propiedades antimicrobianas y antioxidantes ampliamente utilizadas en la industria alimentaria como colorantes, entre otras funciones, por lo que en sus aceites esenciales ayudan contra bacterias patógenas y la afluencia de la adición de ácidos ascórbico en la prevención de la oxidación de los polifenoles, (Antunes, 2012).

Conociendo este antecedente, el presente estudio utilizó *Curcuma longa* como antimicrobiano en diversos tanques que contenían distintos estadios larvarios de *Litopenaeus vannamei* (desde Zoea hasta post larva), la cual se administró a diferentes tanques, observándose que las mismas no poseían anomalías patológicas por presencia de bacterias. Dicho esto, si comparamos con Supamattaya et al (2005), que también obtuvieron excelentes resultados en cuanto a la nula actividad antimicrobiana en especímenes estudiados, en el presente estudio, sin embargo, ellos extrajeron los aceites esenciales con alcohol étlico produciendo un mayor nivel de principio activo y de funcionalidad de sustancia. En el estudio realizado Salazar, 2015 menciona que en base a los resultados obtenidos en su experimentación de peces adicionando la cúrcuma en su dieta, lograron mantener coliformes dentro de los límites permisibles para la crianza de esta especie

determinando que no incidieron en su investigación.

Por otro lado, Supamattaya et al (2014), menciona que la fuente de la planta de cúrcuma y el proceso de extracción son factores claves que determinan el contenido de curcuminoides. La cantidad de curcuminoides indica el grado de actividad bactericida y los efectos inmunoestimulantes en los animales analizados.

En estudios recientes menciona que la actividad antimicrobiana de *C. longa* frente a bacterias Gram negativas se registró en *E. coli* en la concentración de 30mg/dl, se tiene documentado desde 1987 información sobre la toxicidad de la curcumina en diversas enterobacterias, uno de los posibles mecanismos es por la capacidad que tiene de alterar el DNA en presencia de luz visible (Mordukhova Y, 2020).

La cúrcuma puede ser un agente antimicrobiano alternativo contra las infecciones bacterianas mortales. Probablemente, la curcumina tiene una acción antibacteriana al romper completamente la pared celular, lo que lleva a la muerte celular. La curcumina dificulta el crecimiento de algunas enterobacterias al restringir el ensamblaje del mutante Z (proteína citoesquelética) mediante la represión de la polimerización de FtsZ (Ahnmad et al., 2020).

En base a la actividad antifúngica de *C. longa* encontrando un potente efecto antifúngico el cual se puede explicar con la alteración de la membrana celular y la capacidad de inhibir la síntesis de componentes importantes (Di Mario, 2007). El mecanismo antifúngico de *C. longa* no ha sido explicado sistemáticamente, en la actualidad los fármacos antimicóticos se pueden

clasificar en tres tipos según sus mecanismos funcionales de la siguiente manera: actúan sobre la síntesis de la pared celular, actúan sobre la síntesis de colesterol en las membranas celulares de hongos y actúan sobre la síntesis de ácidos nucleicos fúngicos. Un posible mecanismo por el cual *C. longa* posee una actividad antifúngica es que *C. longa* puede potencialmente interrumpir la síntesis de proteínas y enzimas críticas que, en última instancia, pueden inhibir el crecimiento de hongos (Chen, 2018).

En un estudio realizado por Mariappan Senthilkumar 2018, utilizó el etanol al igual que en el presente estudio, encontraron que usando este solvente hubo un rendimiento máximo de compuestos bioactivos en comparación con otros solventes (metanol, agua, entre otros); la actividad inhibidora máxima se observó en extractos de etanol; los autores concluyen que se necesitan más estudios para determinar la identidad química de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antifúngica, los amplios programas de cribado de plantas utilizadas principalmente en la medicina tradicional han dado como resultado el descubrimiento de miles de fitoquímicos con efectos inhibidores sobre diferentes tipos de microorganismos *in vitro* (Idris, y Mohd, 2021).

12. CONCLUSIONES

- En comparación durante las tres corridas los tanques de control en supervivencia de obtuvo el 65% y los del tratamiento un 85%, en el caso de bacterias encontradas para el tratamiento se observó una reducción terminando con UFC/ml 10^{-2} en colonias amarillas y sin presencia de pseudomonas, para el caso de los tanques control su bacteriología tuvo como resultado UFC/ml 10^{-4} colonias amarillas, 10^{-2} colonias verdes y pseudomonas 10^{-2} y finalmente en el caso de salud animal las anomalías que se presentaron solo fueron observadas en los tanques control, tales fueron estas células disipadas, músculo disminuido e intestino inflamado.
- Durante el muestreo realizado en base a la aplicación de la cúrcuma en los tanques concluimos que, existió una mejora en cuanto a salud del animal ya que no se presentaron anomalías patológicas durante su desarrollo, la supervivencia fue arriba del 80% y las cargas de bacterias patógenas redujeron considerablemente desde nauplio hasta post larva.
- La revisión macroscópica a través de la observación directa y microscópica fueron las herramientas que se emplearon para identificar las patologías, que durante el desarrollo de la investigación no fueron encontradas.

- Con respecto a las cargas bacterianas en los tanques control, el promedio de *Vibrios* en UFC fue de 10^{-4} colonias amarillas, en *Pseudomonas* el conteo de colonias fue de UFC 10^{-3} , por otro lado, en los tanques de prueba las colonias fueron más bajas siendo estas para colonias amarillas 10^{-2} y para *Pseudomona* 10^{-1} .
- Para la concertación mínima inhibitoria se enfrentó la cúrcuma a *Vibrios* y *Pseudomonas* existentes en el medio teniendo como resultado que se entre un rango de 3,000ppm a 5,000ppm controlan las cargas altas en *Vibrios* y 6,000ppm a 7,000ppm es lo ideal bajar las cargas bacterianas en *Pseudomonas*.

13. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que, para la aplicación del producto en base a cúrcuma, se pase primero a tamizar y mantener por 30 minutos, tiempo de espera de dilución del producto.
- Revisión del animal durante los diferentes estadios para asegurarnos que no exista ninguna alteración patológica, respaldar los estudios de observación directa con microbiología para asegurar la calidad de las larvas.
- Fijar un protocolo de bioseguridad donde se incluya productos de origen vegetal y sean amigables con el ambiente que tengan como función ser antimicrobianos que ayudan a controlar bacterias patógenas en los tanques larvarios,
- Implementar un plan de manejo a base de cúrcuma y dosificación empezando en 2 ppm, desde nauplio como alternativa para contrarrestar infecciones producidas por bacterias que se encuentran en el medio.
- Incentivar a las investigaciones en base a plantas que nos ayuden a controlar patologías en los sistemas de producción llevando al cabo pruebas de estudio, con esto fortalecemos el sector ayudando a la que con un menor costo se obtenga una mejor larva.

14. ANEXOS

Tabla 1. Dosificación de cúrcuma por estadio. Tabla guía

Estadio	Volumen m^3	Gramos de cúrcuma/ m^3	Gramo por tanque	Gramos Total por 3 tanques	Aplicación
N5		2			C/ 24H
Z1		4			C/ 24H
Z2		6			C/ 24H
Z3		7			C/ 24H
M1		8			C/ 24H
M2		9			C/ 24H
M3		9			C/ 24H
PL1		9			C/ 24H
PL2		9			C/ 24H
PL3		9			C/ 24H
PL4		9			C/ 24H
PL5		10			C/ 24H
PL6		10			C/ 24H
PL7		10			C/ 24H
PL8		10			C/ 24H
PL9		10			C/ 24H
PL10		10			C/ 24H
TOTAL, gr					

Tabla 1.1 Dosificación de la aplicación de cúrcuma de la primera corrida tanque 10

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m ³	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	7	2	14	C/24H
Z1	8	4	32	C/24H
Z2	9	6	54	C/24H
Z3	10	7	70	C/24H
M1	11	8	88	C/24H
M2	13	9	117	C/24H
M3	13	9	117	C/24H
PL1	13	9	117	C/24H
PL2	13	9	117	C/24H
PL3	13	9	117	C/24H
PL4	13	9	117	C/24H
PL5	13	10	130	C/24H
PL6	13	10	130	C/24H
PL7	13	10	130	C/24H
PL8	13	10	130	C/24H
PL9	13	10	130	C/24H
PL10	13	10	130	C/24H

Tabla 1.1 Dosificación de la aplicación de cúrcuma de la primera corrida tanque 17

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m/3	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	12	2	24	C/24H
Z1	13	4	52	C/24H
Z2	15	6	90	C/24H
Z3	16	7	112	C/24H
M1	18	8	144	C/24H
M2	18	9	162	C/24H
M3	18	9	162	C/24H
PL1	18	9	162	C/24H
PL2	18	9	162	C/24H
PL3	18	9	162	C/24H
PL4	18	9	162	C/24H
PL5	18	10	180	C/24H
PL6	18	10	180	C/24H
PL7	18	10	180	C/24H
PL8	18	10	180	C/24H
PL9	18	10	180	C/24H
PL10	18	10	180	C/24H

Tabla 1.2 Dosificación de la aplicación de cúrcuma segunda corrida tanque 1

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m/3	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	10	2	20	C/12H
Z1	12	4	48	C/12H
Z2	14	6	84	C/12H
Z3	16	7	112	C/12H
M1	18	8	144	C/12H
M2	17	9	153	C/12H
M3	17	9	153	C/12H
PL1	17	9	153	C/12H
PL2	17	9	153	C/12H
PL3	17	9	153	C/12H
PL4	17	9	153	C/12H
PL5	17	7	119	C/12H
PL6	17	7	119	C/12H
PL7	17	7	119	C/12H
PL8	17	7	119	C/12H
PL9	17	7	119	C/12H
PL10	17	7	119	C/12H

Tabla 1.3 Dosificación de la aplicación de cúrcuma segunda corrida tanque 28

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m/3	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	10	2	20	C/12H
Z1	12	4	48	C/12H
Z2	14	6	84	C/12H
Z3	16	7	112	C/12H
M1	18	8	144	C/12H
M2	17	9	153	C/12H
M3	17	9	153	C/12H
PL1	17	9	153	C/12H
PL2	17	9	153	C/12H
PL3	17	9	153	C/12H
PL4	17	9	153	C/12H
PL5	17	7	119	C/12H
PL6	17	7	119	C/12H
PL7	17	7	119	C/12H
PL8	17	7	119	C/12H
PL9	17	7	119	C/12H
PL10	17	7	119	C/12H

Tabla 1.4 Dosificación de la aplicación de cúrcuma tercera corrida tanque 15

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m/3	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	10	2	20	C/24H
Z1	12	4	48	C/24H
Z2	13	6	78	C/24H
Z3	15	7	105	C/24H
M1	16	8	128	C/24H
M2	17	9	153	C/24H
M3	17	9	153	C/24H
PL1	17	9	153	C/24H
PL2	17	9	153	C/24H
PL3	17	9	153	C/24H
PL4	17	9	153	C/24H
PL5	17	10	170	C/24H
PL6	17	10	170	C/24H
PL7	17	10	170	C/24H
PL8	17	10	170	C/24H
PL9	17	10	170	C/24H
PL10	17	10	170	C/24H

Tabla 1.5 Dosificación de la aplicación de cúrcuma tercera corrida tanque 36

Estadio	Volumen	Gramos de cúrcuma m/3	Gramo por tanque (ppm)	Aplicación
N5	30	2	60	C/24H
Z1	22	4	88	C/24H
Z2	24	6	144	C/24H
Z3	28	7	196	C/24H
M1	28	8	224	C/24H
M2	30	9	270	C/24H
M3	30	9	270	C/24H
PL1	30	9	270	C/24H
PL2	30	9	270	C/24H
PL3	30	9	270	C/24H
PL4	30	9	270	C/24H
PL5	30	10	300	C/24H
PL6	30	10	300	C/24H
PL7	30	10	300	C/24H
PL8	30	10	300	C/24H
PL9	30	10	300	C/24H
PL10	30	10	300	C/24H

Tabla 1.6 Dosificación de la aplicación de cúrcuma, ácidos orgánicos y aceites esenciales

ESTADIO larvario	DOSIS DE CURCUMA (ppm)	FRECUENCIA por día	ACIDOS ORGANICOS (ppm)	ACEITES ESENCIALES (ppm)
N5	2	1	1	1
Z1	4	1	1	1
Z2	6	1	2	2
Z3	8	1	2	2
M1	9	1	2	2
M2	9	1	2	2
M3	9	1	2	2
PL1	9	1	2	2
PL2	9	1	2	2
PL3	9	1	3	3
PL4	9	1	3	3
PL5	10	1	3	4
PL6	10	1	3	4
PL7	10	1	3	5
PL8	10	1	4	5
PL9	10	1	4	5
PL10	10	1	4	5

Tabla 2. Tabla de anomalía en larvas prueba de cúrcuma

# CORRIDAS	ESTADIOS	BRANQUIAS	DEFORMIDADES			INTESTINO	MOVIMIENTO
			ROSTRUM	APÉNDICES	EXOESQUELETO		
CORRIDA 1	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMI LLENO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
CORRIDA 2	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
CORRIDA 3	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	LLENO	NADO NORMAL

Tabla 2.1 Tabla de anomalías en tanques control

# CORRIDAS	ESTADIOS	BRANQUIAS	DEFORMIDADES			INTESTINO	MOVIMIENTO
			ROSTRUM	APÉNDICES	EXOESQUELETO		
CORRID A 1	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMI LLENO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLLENO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLLENO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLLENO	NADO NORMAL
CORRID A 2	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	FLACIDO	INFLAMADO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	FLACIDO	INFLAMADO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	FLACIDO	INFLAMADO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	FLACIDO	INFLAMADO	NADO NORMAL
CORRID A 3	NAUPLIO V	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	MYSIS	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	ZOEA	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL
	PL	NORMAL	NORMAL	S/N	NORMAL	SEMILLENO	NADO NORMAL

Tabla 3. Grados de severidad en la salud animal en tanques con Cúrcuma

CORRIDA 1	ESTADIOS	HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	1	1	0	0	0
	Z3	1	1	0	0	0	0	0
	M3	1	0	1	0	1	1	0
	PL4	1	0	1	0	0	1	1
	PL8	1	0	0	1	1	1	0
CORRIDA 2		HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	0	1	1	0	0
	Z3	1	0	1	0	1	0	1
	M3	0	1	1	1	1	0	0
	PL4	0	0	0	1	1	1	1
	PL8	1	1	0	1	2	1	1
CORRIDA 3		HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	0	1	1	0	1
	Z3	1	1	1	1	0	0	0
	M3	1	1	0	0	0	1	0
	PL4	0	1	0	0	0	1	1
	PL8	1	0	0	1	0	0	1

Tabla 3.1. Grados de severidad en la salud animal en tanques con Cúrcuma

CORRIDA 1	ESTADIOS	HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	1	1	0	0	0
	Z3	1	1	0	0	0	0	0
	M3	2	1	1	2	2	1	2
	PL4	1	0	1	1	1	2	2
	PL8	2	2	1	3	2	2	1
CORRIDA 2		HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	0	1	1	0	0
	Z3	1	1	1	1	2	1	2
	M3	1	2	1	2	1	1	0
	PL4	1	0	2	1	2	1	1
	PL8	1	2	1	1	1	1	1
CORRIDA 3		HEPATOPÁNCREAS	NADO	BRANQUIAS	TRACTO DIGESTIVO	INTESTINO	NECROSIS	LÍPIDOS
	N5	0	0	0	1	0	0	1
	Z3	1	1	1	1	0	0	0
	M3	2	1	2	0	3	2	1
	PL4	2	1	1	1	1	2	2
	PL8	2	1	1	2	1	1	2

15. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M. (2022). *Cúrcuma, cruda (curcuma longa, polluelo)*.
- Britania. (2022). *Cetrimide Agar Base*. Obtenido de <http://britannialab.com>
- Cámara Nacional de Acuicultura. (2021). Análisis de las Exportaciones de camarón. *CNA*, 3.Cao et al. (2008). Curcumin attenuates acrylamide-induced cytotoxicity and genotoxicity in HepG2 cells by ROS scavenging. *J Agric Food Chem*, 12059-63.
- *gone*, 8(5), 1-11.
- Cortez, C. (2021). *Patógenos en Acuicultura*
- Deodhar et al. (1980). Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloylmethane). *Indian J Med Res*, 634-4.
- Dickinson, B. (2003). Instrucciones de uso– *Medios en placas listos para usar*.
- Obtenido de <http://www.bd.com>
- Domínguez, C. (2020). "Aceites esenciales como inhibidores de virulencia de *Vibrio spp*. Patógenos del camarón *P. vannamei*". Escuela Superior Politécnica del Litoral. Obtenido de <http://www.cenaim.espol.edu.ec/sites/cenaim.espol.edu.ec/files/2020/Publicaciones/tesis/2020%20Cristobal%20Dominguez.pdf>
- EcuRed. (27 de Agosto de 2019). *EcuRed*. Recuperado el 31 de Julio de 2023, de EcuRed: https://www.ecured.cu/index.php?title=Aceite_de_romero&oldid=3528565
- Español, E. (2020). *Para qué sirve la cúrcuma, propiedades y beneficios*. Obtenido de https://www.elespanol.com/como/sirve-curcuma-propiedades-beneficios/487701525_0.amp.html
- FAO. (2004). *Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco*. Técnico de Pesca, Crustacean Aquaculture.

- FAO. (2004). *Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco*. Técnico de Pesca, Crustacean Aquaculture.
- FAO. (2009). Obtenido de *Penaeus vannamei*. In *Cultured aquatic species fact sheets*:
https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_whitelegshrimp.htm
- Gainza & Romero. (2017). Manano oligosacáridos como prebióticos en acuicultura decrustáceos. *Latin american journal of aquatic research*, 246-260.
- González, A. &. (2021). Medidas profilácticas en acuicultura para mejorar la eficiencia alimentaria y minimizar los riesgos patógenos. *Revista de Investigación Acuícola*, 15(2), 45-62.
- Gracia et al. (2012). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en bacterias patógenas de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Hidrobiológica*, 201-206.
- Guarnner. (2018). *Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad*. Madrid:versión On-line ISSN 1699-5198.
- Hassaninasab et al. (2011). Discovery of the curcumin metabolic pathway involving a unique enzyme in an intestinal microorganism. *Proc Natl Acad Sci USA* , 6615-20.
- Hassaninasab, A., Hashimoto, Y., Tomita, K., & Kobayashi, M. . (2011). Discovery of the curcumin metabolic pathway involving a unique enzyme in an intestinal microorganism. . *Proc Natl Acad Sci USA* , 6615-20.
- Huizen, J. (2022). *Té de cúrcuma: 10 beneficios para la salud*. Obtenido de <https://www.medicalnewstoday.com/articles/es/te-de-curcuma>
- Kim et al. (2011). Chemopreventive effect of *Curcuma longa* Linn on liver pathology in HBxtransgenic mice. *Integr Cancer Ther*, 168-77.
- Kim, J., Ha, H., Moon, H., Lee, Y., Cho, C., & Yoo, H. . (2011). Chemopreventive effect of *Curcuma longa* Linn on liver pathology in HBx transgenic mice. *Integr Cancer Ther*, 168-77.
- Kolkovski. (2022). *Medicina verde en Acuicultura*. Australia: I. Aquafeed, Ed.

- Kulkarni et al. (1991). Treatment of osteoarthritis with a herbomineral formulation: a double-blind, placebo-controlled, cross-over study. *J Ethnopharmacol*, 91-5.
- Kulkarni, R., Patki, P., & Jog, V. . (1991). Treatment of osteoarthritis with a herbomineral formulation: a double-blind, placebo-controlled, cross-over study. . *J Ethnopharmacol* , 91-5., 91-5.
- Lima et al. (2011). urcumin induces heme oxygenase-1 in normal human skin fibroblasts through redox signaling: relevance for anti-aging intervention. *Mol Nutr Food Res*,55(3) 430-42.
- Lomeli & Martinez. (2014). Phage therapy against *Vibrio parahaemolyticus* infection in the white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. *Aquaculture*, 208-211.
- Marquez. (2018). *Selección de extractos vegetales como inhibidores de bacterias patógenas de peces y utilización en acuicultura*.
- Martín & Garicano. (2015). Papel de la vitamina C y los β -glucanos sobre el sistema inmunitario. *Rev Esp Nutr Hum Diet*, 19(4): 238 - 245.
- Molina, C. & Pinargote, C. (2021). *Acción antibacteriana de los aceites esenciales y su efecto sobre el crecimiento en el cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei**.
- Obtenido de <https://issuu.com/revista-cna/docs/edicion139/s/11787671> Morales & Cuéllar. (2008). Enfermedades bacterianas pp. *Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos*, 119-134.
- OCU. (2023). *Cúrcuma: usos, riesgos y beneficios*. Obtenido de <https://www.ocu.org/alimentacion/alimentos/noticias/curcuma#>
- OSPESCA. (21 de Enero de 2013). *Nueva enfermedad "EMS/AHPNS" en camarones cultivados en Asia*. Obtenido de <https://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=76463&IDCat=2&IdEnt=47>:<https://www.sica.int/busqueda/Noticias.aspx?IDItem=76463&IDCat=2&IdEnt=47>
- Otero. (2018). *Enfermedades bacterianas más comunes en la larvicultura del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y sus métodos de control*. Santa Elena: UPSE.
- Paredo et al. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 24-32.

- Pizarro et al. (2014). β -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud?
- *Rev Chil Nutr Vol. 41, N°3.*
- Ramsewak et al. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and antiinflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine*, 303-8.
- Saíz de Cos. (2014). Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca (Serie Botánica)*, 1-16. Salus. (2021). *LA CÚRCUMA Y SUS BENEFICIOS PARA TU SALUD*. Obtenido de <https://saluspr.com/la-curcuma-y-sus-beneficios-para-tu-salud/>
- Smith, J. (2022). Causas de las enfermedades bacterianas en los cultivos: densidades de siembra, calidad del agua y proliferación de patógenos oportunistas. *Revista de Agricultura*, 78-92.
- Terrones & Reyes. (2018). Efecto de dietas con ensilado biológico de residuos de molusco en el crecimiento del camarón *Cryphiops caementarius* y tilapia *Oreochromis niloticus* en cultivo intensivo. *Sciencia Agropecuaria*, 167-178.
- Uña et al. (2017). *Lactobacillus pentosus* en la alimentación animal. *Producción animal*, 7-15.
- Valtek S.A. (2020). *Agar T.C.B.S.* Obtenido de <https://www.valtek.cl/wp-content/uploads/2020/02/Agar-TCBS-Valtek-Version-3.pdf>
- Vega. (2019). *Principales medidas profilácticas y terapéuticas utilizadas para la prevención de enfermedades en cultivos de camarón blanco (Litopenaeus vannamei)*. Machala.
- Vielka & Cuéllar. (2008). Patología e inmunología de camarones penaeidos.
- Yue et al. (2010). Immunostimulatory activities of polysaccharide extract isolated from *Curcuma longa*. *Int J Biol Macromol*, 342-7.