

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, CARBAY UYAGUARI YINSON ANIBAL, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado EXTRACTO ALCOHÓLICO DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*), GUAYABA (*Psidium guajava*) Y EUCALIPTO (*Eucalyptus melliodora*) PARA VIBRIOSIS EN ACUACULTURA, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 10 de marzo de 2020



CARBAY UYAGUARI YINSON ANIBAL
0705586097

06

**USO DE EXTRACTO ALCOHOLICO
DE LAS PLANTAS TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*), GUAYABA
(*PSIDIUM GUAJAVA*) Y EUCALIPTO (*EUCALYPTUS
MELLIODORA*) FRENTE A LA VIBRIOSIS EN ACUICULTURA**

USO DE EXTRACTO ALCOHOLICO

DE LAS PLANTAS TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*), GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA*) Y EUCALIPTO (*EUCALYPTUS MELLIODORA*) FRENTE A LA VIBRIOSIS EN ACUICULTURA

USE OF ALCOHOLIC EXTRACT FROM TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*), GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA*) AND EUCALYPTUS (*EUCALYPTUS MELLIODORA*) PLANTS AGAINST VIBRIOSIS IN AQUACULTURE

Yinson Aníbal Carbay Uyaguari¹

E-mail: ycarbay_est@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1351-314X>

Lita Sorroza Ochoa¹

E-mail: slita@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8829-0414>

¹ Universidad Técnica de Machala. Ecuador.

Cita sugerida (APA, sexta edición)

Carbay Uyaguari, Y. A., & Sorroza Ochoa, L. (2019). Uso de extracto alcohólico de las plantas tomillo (*Thymus vulgaris*), guayaba (*Psidium guajava*) y eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) frente a la vibriosis en acuicultura. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2(3), 48-55. Recuperado de <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA>

RESUMEN

Los patógenos bacterianos como los Vibrios son considerados unos de los principales microorganismos oportunista en el cultivo de camarón, ocasionan grandes pérdidas económicas a este sector, para ello diferentes productores han utilizado los antibióticos de manera incorrecta lo que ocasiona resistencia en las bacterias. Con estos antecedentes los extractos de planta se convierten en una alternativa para inhibir crecimiento bacteriano y además ayuda para la salud del animal y cuidado del medio ambiente en acuicultura. En esta investigación se evaluó 100 µl de los extractos alcohólicos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) los mismos que fueron expuestos con el Vibrio por 24 horas, se deja incubar a 25°C y se observa halo de inhibición. En el agua se colocó una concentración de 4mL/L por 24 horas y en el alimento 400 µl/gr durante 10 días para ver la disminución de la presencia de vibrios. Tanto en agua como en el hepatopáncreas se pudo observar disminución de vibrios usando los 3 tratamientos. Conclusión, los extractos alcohólicos de estas tres plantas podría ser utilizado como tratamiento profiláctico frente a la vibriosis en el cultivo de camarón.

Palabras clave: Alcohol, inhibición, extractos, camarón, tratamientos, disminución, vibrios.

ABSTRACT

Bacterial pathogens such as Vibrios are considered one of the main opportunistic microorganisms in shrimp farming, causing economic lossing for this reason different producers have used antibiotics incorrectly which causes resistance in bacteria. With this background, plant extracts become an alternative to inhibit bacterial growth. It also help with animal health and environmental care in aquaculture. In this investigation the alcoholic 100 µl extracts of Thyme (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) and Eucalyptus (*Eucalyptus melliodora*) they were with Vibrio for 24 hours, allowed to incubate at 25°C and halo of inhibition was observed. In the water was use a concentration of 4mL / L for 24 hours and in the food 400 µl / gr for 10 days to see the decrease in the presence of vibrios. In both water and hepatopancreas, a decrease in Vibrio was observed using the three treatments. Conclusion, the alcoholic extracts of these three plants could be used as a prophylactic treatment against vibriosis in shrimp farming.

Keywords: Alcohol, inhibition, extracts, shrimp, treatments, decrease, vibrios..

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador durante esta última década la producción del cultivo camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), aumentado y por ende la aparición de enfermedades se ha incrementado, una de las posibles consecuencia es el aumento de las densidades en los cultivos que tiene como consecuencia la disminución de la calidad de las aguas y de los suelos por tal motivo, se ha tenido la necesidad de utilizar diferentes tipos de productos químicos y biológicos como los antibióticos, prebióticos y probióticos para mejorar la producción.

Algunos fármacos no son permitidos en acuicultura por los residuos que se quedan en el interior de los organismos, tal es el caso del cloranfenicol y nitrofurano que está totalmente excluido para la utilización en la producción de alimentos en todos los países, además se pueden emplear otros antibióticos que si son permitidos para la utilización en la producción de alimentos como son oxitetraciclina (OTC), florfenicol (FFC), sarafloxacin (SARA) y enrofloxacin (ENRO).

El uso de periodos largos de estos fármacos puede causar que los patógenos bacterianos se vuelvan resistentes por los antibióticos; y a su vez pueda provocar daños en los ecosistemas marino costero y la prohibición de las exportaciones por los residuos que se quedan en el organismo que puede tener consecuencia para la salud humana; además por la posible transmisión de patógenos de un sitio a otro.

La búsqueda para controlar los tipos de patógenos bacterianos que se puede encontrar en el medio de cultivo como los *Vibrios sp.*, *vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*; entre otras bacterias, que se puede encontrar en todas las fases del cultivo de camarón han sido muy amplias, mostrando diferentes alternativas desde el uso de sustancias químicas hasta extractos de plantas.

Gunalan, Soundarapandian, Anand, Kotiya & Simon (2014), mencionan que dentro del cultivo cada patología tiene su propia sintomatología, bacterias, hongos y protozoarios tiene la posibilidad de tratarlos sin embargo las enfermedades proveniente por virus no pueden ser tratadas en el camarón. No obstante, la mayoría de los patógenos actúa de forma oportunista ya que siempre va estar presente en el medio, pero esto se podría evitar haciendo un seguimiento continuo en el cultivo, desde la calidad de larvas, densidad de siembra, calidad del agua y del suelo. Las bacterias Gram negativa del genero *Vibrio*, son cepas patógenas extracelular que provoca la enfermedad de la vibriosis y causa mortalidades en todas las fases del cultivo desde hatchery hasta engorde y por ende provoca grandes pérdidas económica en el sector acuícola.

Para la identificación del tipo de *Vibrio* que se puede encontrar en el camarón se puede realizar la técnica de

histopatología tanto del animal como en el hepatopáncreas, tejido epitelial de las branquias, intestino, tejido nervioso, tejido muscular entre otras partes, este tipo de análisis sirve para comprobar el estado del animal en el cultivo.

Todas estas patologías pueden ser tratadas con diferentes productos químicos, pero algunos investigadores han demostrado que con extractos de origen natural se pueden realizar protocolos como medidas profilácticas contra los patógenos bacterianos en el cultivo del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tal es el caso de que se han reportado resultados muy alentadores para el uso de extractos de algunas plantas como Pionilla (*Lasianthaea podocephala*), Hierba luisa (*Aloysia triphilla*) y Orégano (*Origanum vulgare*) (Sorrosa, Campoverde, & Santacruz, 2017) frente a diferentes patógenos del genero *Vibrio*, pero el efecto de la planta dependerá de diferentes factores como la composición química antibacteriana que posea, la forma de extracción y el modo de aplicación de dicha sustancia.

En las plantas la obtención del principio activo se puede adquirir de diferentes partes como las flores, fruto, hojas, tallo y raíces. De tal forma se puede obtener extractos herbales con todas las propiedades químicas de las plantas, para esto se requiere trabajar con diferentes solventes como etanol, metanol, formaldehído, acetato de etilo y agua.

Asimismo, los aceites esenciales en su mayoría tienen algunos usos, en la industria de la perfumería, y en la preparación de fármacos ya que tiene gran actividad antimicrobiana que en comparación con los antibióticos tienen resultados similares, la ventaja de esto es que son de origen natural como lo demuestra.

Ciertas plantas como el eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) tiene propiedades antibacterianas que fueron estudiados por Granados, Santafé & Acevedo (2015), donde probaron un efecto inhibitorio contra bacterias Gram positiva; Gram negativa y en hongos, obteniendo unos resultados muy positivos debido a que el eucalipto presenta mezclas de mono y de sesquiterpenos en su compuesto químico.

Por otra parte, la guayaba (*Psidium guajava*) según un estudio por Martínez, Molina & Boucourt (1997), preparado con etanol de 40% demostró que tiene una efectividad con actividad antimicrobiano, y fue probados en algunas bacterias Gram positiva, bacterias Gram negativa así como en levadura. Asimismo el Tomillo (*Thymus vulgaris*) tiene un gran poder antibacteriano gracias a sus propiedades como el thymol (79%), carvacrol (5%) con gran efectividad contra bacterias Gram positiva y bacterias Gram negativa, los mismos que fueron probados por Maksimov (2017), en restos de alimentos, donde obtuvo como resultados una inhibición de bacterias.

Por tal motivo, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el extracto alcohólico de tres plantas medicinales como Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) para disminuir la concentración de bacterias en el camarón mediante la administración de este preparado en el alimento y el agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los meses de agosto y septiembre del 2019, en el laboratorio de microscopia en la Facultad de Ciencias Agropecuaria de la Universidad Técnica De Machala (Ecuador), para preparar los extractos de las plantas se colocaron 20 gramos de cada una de ellas en 50 ml de alcohol industrial al 96°, se tapó el recipiente dejándolo envuelto en papel aluminio en un periodo de 3 días, pasado este tiempo la preparación fue filtrada para su posterior uso.

En primer lugar, se evaluó el efecto inhibitorio de los extractos mediante la difusión en placa, para ello se coloca 100 µl de cada sustancia en filtros blancos estéril, se deja secar y se coloca sobre una placa impregnada con el *Vibrio* a una concentración de 107 ufc/ml, se incuba a 25°C y después de 24h se observa el posible halo de inhibición frente al patógeno.

Para observar la disminución de los vibrios en el camarón, se colocó el extracto con pegante (400µl/gr) en el balanceado y se dio de alimentar durante 10 días al 5% de la biomasa. En total se utilizaron 12 peceras con una capacidad de 6 litros, y se trabajó con un volumen de 5 litros de agua traída de un estanque de cultivo de camarón, la misma que tenía una salinidad de 26 partes por mil (ppt), oxígeno disuelto de 4.2 partes por millón (ppm), temperatura de 23.5 °C. En cada pecera se colocaron 5 camarones (*Litopenaeus vannamei*) con un peso inicial promedio de 2.8 gramos, y se hicieron recambios de agua diarios del 25% para controlar el exceso de metabolitos que pudieran ser tóxicos para el animal.

Para el análisis microbiológico se utilizó diluciones seriadas 1/10, tanto para el agua como para el hepatopáncreas se utilizaron 100 µl de la muestra para la siembra en dos medios diferentes, como el agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) para *Vibrios* y el agar Marino para bacterias totales, se incubaron las placas por 48 horas a temperatura ambiente de (26±1°C) para realizar el recuento de las colonias expresada por unidades formadoras de colonias por gramos o mililitros respectivamente (ufc/gr; ufc/mL).

Los extractos también fueron probados en el agua, para ello se utilizaron peceras de capacidad de dos litros donde se colocó 1 litro de agua del estanque de cultivo de *Litopenaeus* con una salinidad de 26 partes por mil (ppt), oxígeno disuelto de 4.2 partes por millón (ppm), temperatura de 23.5 °C. En cada pecera se le suministro 4 mililitros

de cada extracto: Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) y un control sin extracto, para realizar los análisis cogieron muestra después de 24 horas, y se realizaron siembra en placa con diluciones seriadas y diferentes medios de cultivo (TCBS y cromogagar). Se deja incubar por 48 horas y se cuenta el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Efecto inhibitorio frente a *Vibrios*

En el ensayo del efecto inhibitorio se pudo observar un halo de inhibición frente a los *Vibrios* que le corresponde a 6 mm para el extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*); 5 mm para el extracto de Guayaba (*Psidium guajava*) como se muestra en la (figura1).

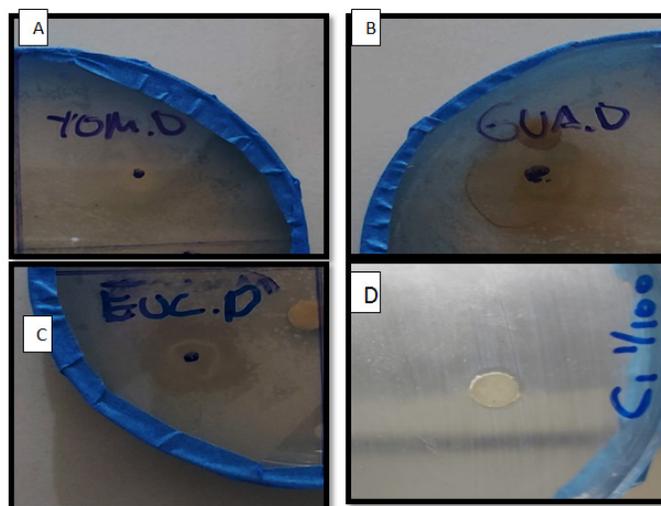


Figura 1. Efecto inhibitorio con halo de inhibición frente vibrios con extracto de Tomillo (*Thymus vulgaris*) (A), Guayaba (*Psidium guajava*) (B) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) (C) con una concentración de 20 gramos en 50 mL de alcohol industrial 96° y el control (D) solo con alcohol industrial 96°.

Los resultados de esta investigación ponen de manifiesto que las plantas poseen compuestos que pueden ser usados frente a patógenos en Acuicultura como lo demuestran algunos investigadores. Todas estas características inhibitorias frente a patógenos bacterianos se deben a que las plantas medicinales presentan diferentes compuestos como, carvacrol, timol, entre otros compuestos que tiene un poder antibacteriano como mencionan Rueda & Mogollón (2012), que estudian el *Eucalyptus globulus* y observo una reducción de bacterias debido ya que esta presenta doce compuesto antibacteriano en sus propiedades. Asimismo, la guayaba tiene propiedades antibacteriana y además menciona que tiene vitaminas y sales minerales en la composición química y en los frutos de esta planta contiene saponinas, piranosídeos,

flavonoides, guaijaverina, ácido oleanólico y quercetina (Bandera & Pérez, 2015)

De igual manera, Gedikoğlu, Sökmen & Çivit (2019), menciona que el tomillo *Thymus vulgaris* con el solvente metanol presenta diferentes compuestos como pcimeno, carvacrol y γ -terpinene con gran porcentaje de timol y actividad antimicrobiana, además el tomillo se podría emplear en aceite esencial como preservantes en alimentos ya que contiene compuesto que actúa como antibacteriano y antioxidante como menciona.

Otros investigadores como Rodríguez (2015), menciona que la corteza de higuera *Ficus citrifolia* tiene propiedades antibacteriano como Flavonoides, alcaloides, taninos, taninos condensados, triterpenos, lactonas α - β insaturadas y compuestos oxidables que contiene un porcentaje de inhibición de 47.96% en las bacterias.

Del mismo modo, Avetisyan, Markosian, & Petrosyan (2017), estudiaron tres variedades de la Albahaca (*Ocimum x citriodorum*, *O. basilicum var. purpureum*, *O. basilicum var. thyrsoiflora*). Los tres aceites esenciales de las variedades de la albahaca demostraron que la variedad *O. citriodorum* tiene mayor porcentaje de nerol y citral como compuesto antibacteriano, de igual forma en la albahaca *Ocimum basilicum* se evaluó la actividad inhibitoria obtenida de las hojas y demostró tener halo de inhibición de 8 a 12 mm contra bacterias Gram positiva y bacterias Gram negativa asimismo determino catorce compuestos que podrían ejercer ese efecto inhibitorio.

Rodríguez, Zarate & Sánchez (2017), indican que los extractos de *Bauhinia sp.*, *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale* que fueron preparados con

etanol y expuestos con bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativa, muestran efecto inhibitorio, ya que presenta algunos compuestos químicos que tienen esta actividad frente a estos microorganismos.

De igual manera los extracto de la cascar de mandarina y eucalipto presenta propiedades antibacteriana de mayor efectividad del limón demostrada contra bacterias Gram positivas y bacteria Gram negativa que fue demostrado con cromatografía por los compuestos químicos antibacteriano presente. Asimismo, las plantas de toronjil (*Melissa officinalis*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) fueron expuesto frente a cepas de vibrios y se determinó que el torojil mostro un halo de inhibición de 5 mm y la albahaca 7 mm frente el patógeno bacteriano.

Conteo de las colonias

En cuanto a la presencia de Vibrios, después de 10 días de haber alimentado a los camarones con los 3 extractos se pudo observar una disminución de las bacterias en todos los tratamientos, siendo el tracto de guayaba el que mayor porcentaje de reducción presenta respecto al control donde se observó concentración inicial de 1×10^8 ufc/gr hepatopáncreas, como se muestra en la tabla 1. Asimismo, en la gráfica 1 se puede mostrar el porcentaje de crecimiento bacteriano que fue mínimo con el uso de los tres extractos alcohólicos.

Respecto a las bacterias totales que fueron sembradas en agar marino en todos los tratamientos fueron incontables, esto se debe a que la evaluación in vitro se realizó sólo frente a bacterias del género Vibrios y tanto en agua como hepatopáncreas existes diferentes comunidades bacterianas.

Tabla 1. Presencia de Vibrios en agar TCBS con diferentes tratamientos, Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 400 μ l de extracto por cada gramo de balanceado.

Control (sin extracto)	Tratamiento 1 Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Tratamiento 2 Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Tratamiento 3 Eucalipto (<i>Eucalyptus melliodora</i>)
1 x10 ⁸ ufc/gr	8x10 ⁴ ufc/gr	3x10 ⁴ ufc/gr	4x10 ⁴ ufc/gr
100% AMARILLA	37% VERDES 63% AMARILLA	100% VERDES	75% VERDES 25% AMARILLA

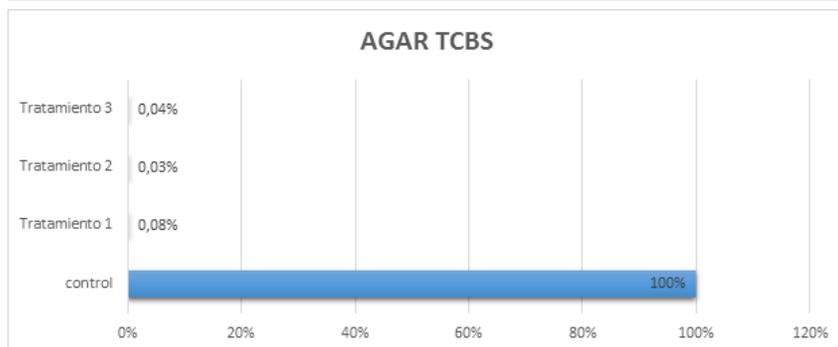


Figura 2. Porcentaje de crecimiento de vibrios en agar TCBS, con diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 400 μ l de extracto por cada gramo de balanceado y el control (sin tratamiento) en la hepatopáncreas.

Al analizar el hepatopáncreas de los animales se pudo notar una clara disminución de la presencia de los vibrios con la administración de los extractos alcohólicos de las plantas medicinales de tomillo (Figura 2), Guayaba y Eucalipto, resultados similares lo pone de manifiesto Harlina, Prajitno & Happy (2015), que utilizando la raíz de Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) en la reducción de vibrios en el post-larva en *Peneus monodon*.

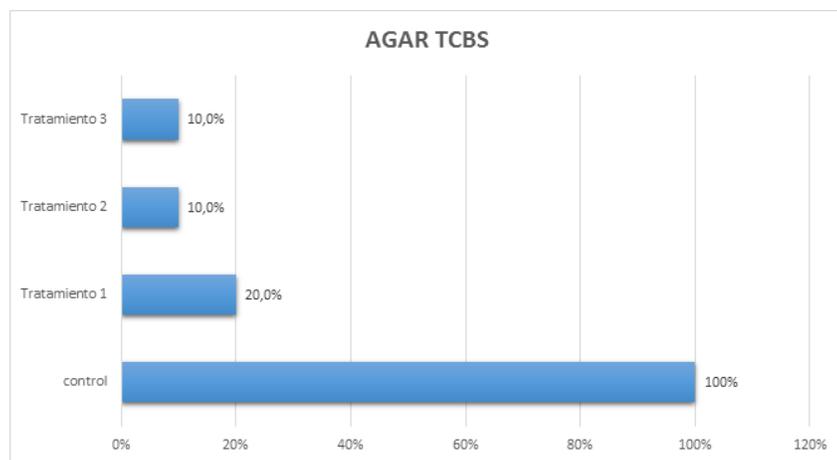
No existe referencias de la utilización de los extractos de este estudio en el camarón, pero nuestros resultados son comparables con el uso de otros extractos de plantas medicinales como lo menciona otro autor que usó aceite esencial de orégano para inhibir el crecimiento de vibrios en camarones ya que contiene algunos compuestos antibacterianos. De la misma forma López & Herrera (2013), indican que el ajo, cebolla y jengibre tiene efecto bactericida contra los vibrios en etapa juvenil del camarón sobresaliendo el ajo que además de inhibir los vibrios también ayuda a mejorar el crecimiento.

Con las plantas de toronjil (*Melissa officinalis*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) que fueron probados en la dieta del camarón, se demostró que la albahaca disminuyó las cantidades de las colonias verdes y el toronjil disminuyó las cantidades de las colonias amarillas las mismas que fueron evaluadas en agar TCBS.

El uso de extractos de plantas medicinales como ya se mencionó es nuevo en el cultivo de camarón, pero se ha

Tabla 2. Presencia de Vibrios en agar TCBS, con diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 4 mL por cada litro de agua y el control en el agua.

Medios de cultivo	Control (sin extracto)	Tratamiento 1 Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Tratamiento 2 Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Tratamiento 3 Eucalipto (<i>Eucalyptus melliodora</i>)
TCBS	2 x10 ⁶ ufc/mL	4x10 ⁵ ufc/mL	2x10 ⁵ ufc/mL	2x10 ⁵ ufc/mL
PORCENTAJE (%)	100% AMARILLA	59.2% VERDES 40.8% AMARILLA	100% AMARILLA	83% VERDES 17% AMARILLA



empleado en el cultivo de otros organismos acuáticos como de algunos peces, el Eucalipto demostró tener un efecto antibacteriano del 100% contra bacterias Gram negativa (Núñez & Valladares, 2001), de la misma manera utilizando algunas plantas turcas se pudo notar que redujo la carga de vibrios en peces así lo demuestra, de igual manera un estudio con la tilapia (*Oreochromis niloticus*) también se pudo notar una reducción de la carga bacteriana Gram negativa con la utilización del extracto de los frutos secos del árbol tara (*Caesalpinia spinosa*). De igual forma se suministró el grano de café en la dieta de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* por 10 semanas como resultado los animales se mantuvieron no teniendo incremento significativo de peso. Además, la administración de pionilla (*Lasianthaea podocephala* Gray) aplicada con diferentes dosis en los camarones demostró tener una mejor supervivencia y biomasa con respecto al control. De igual forma con extracto alcohólico de plantas de borneo demostró que inhibía la carga de bacterias Gram negativa en tilapia.

Por otra parte, analizando el agua también se pudo notar que los extractos alcohólicos de estas tres plantas de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) ejercen un efecto reductor en la presencia de vidrios como se muestra en la Tabla 2.

Figura 3. Porcentaje de crecimiento de vibrios en agar TCBS, con diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 4 mL por cada litro de agua y el control (sin tratamiento) en el agua.

Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 4 mL por cada litro de agua y el control (sin tratamiento) en el agua.

En la identificación de las especies de Vibrios en el agua (Figura 3), mediante la coloración se pudo notar bacterias de color azul (*V. vulnificus*), mauve (*V. parahaemolyticus*) y crema (*V. alginolyticus*) que se manifiesta en el chromagar, cada una de ellas con diferentes concentraciones como lo demuestra la siguiente tabla 3.

Tabla 3. Presencia de Vibrios en agar CHROMAGAR, con diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 4 mL por cada litro de agua y el control (sin tratamiento) en el agua.

Control (sin extracto)	Tratamiento 1 Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Tratamiento 2 Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Tratamiento 3 Eucalipto (<i>Eucalyptus melliodora</i>)
1 x10 ⁶ ufc/mL	6x10 ⁵ ufc/mL	6x10 ⁴ ufc/mL	3x10 ⁵ ufc/mL
20% CREMA 0% MAUVE 80% AZUL	28.7% CREMA 10.6% MAUVE 60.6% AZUL	50% CREMA 33.33% MAUVE 16.7% AZUL	13.2% CREMA 29% MAUVE 57.8% AZUL

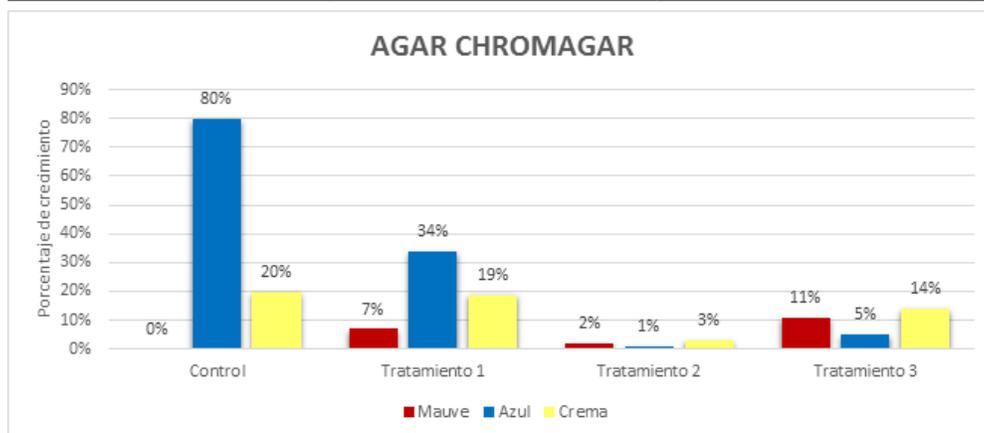


Figura 4. Porcentaje de crecimiento de vibrios en agar CHROMAGAR, con diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 4 mL por cada litro de agua y el control (sin tratamiento) en el agua.

Los resultados presentes en esta investigación ponen de manifiesto que el uso de extractos alcohólicos de plantas medicinales como tomillo, guayaba, y eucalipto podrían reducir la presencia (Figura 4) de Vibrios tanto en el agua como en el animal, como lo manifestó Sorroza, et al. (2017), donde encontró que el uso de una infusión de hierba luisa (*Aloysia triphilla*) y orégano (*Origanum vulgare*) reduce la cantidad de Vibrios en el agua, asimismo, otros autores mencionan una reducción de Vibrios en el agua mediante el uso de pionilla y también ayuda a mejora la calidad de agua.

Los extractos de las plantas no siempre son efectivas para una gran variedad de bacterias que existe en un ecosistema marino costero, las plantas en este estudio mostraron tener un efecto inhibitorio frente a los vibrios, contrario a la investigación realizada por Calderón, Alvarez & Bullaín (2018), donde mediante el uso de la melaza adicionada al agua no observaron una reducción de la cantidad de Vibrios presente en el agua. En los resultados de esta investigación, al analizar el peso de los animales se pudo notar que después de 10 días de haber alimentado los camarones con estos extractos hubo un mayor incremento de biomasa en el tratamiento 1 Tomillo (*Thymus vulgaris*) respecto al control y de los demás tratamientos de Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) como indica en la tabla 4.

Tabla 4. Peso inicial y final según con los diferentes tratamientos de Tomillo (*Thymus vulgaris*), Guayaba (*Psidium guajava*) y Eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) con una concentración de 400 µl por cada gramo de balanceado y el control en el camarón.

DÍAS DE CONTROL	Control (sin extracto)	Tratamiento 1 Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Tratamiento 2 Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Tratamiento 3 Eucalipto (<i>Eucalyptus melliodora</i>)
DÍA 0	2.9 gramos	2.8 gramos	2.9 gramos	2.7 gramos

DÍA 10	3.6 gramos	3.9 gramos	3.5 gramos	3.6 gramos
--------	------------	------------	------------	------------

CONCLUSIONES

Se sabe que durante el cultivo de camarón la presencia de patógenos oportunistas es inevitable y por lo tanto se debe hacer uso de diferentes fármacos o compuesto químicos para reducir la presencia de bacterias y evitar que los animales se enfermen.

Los resultados de esta investigación indican que el uso de extractos de plantas medicinales como Tomillo, Guayaba y Eucalipto podrían ayudar a bajar la carga bacteriana del género vibrios y además al ser productos naturales no generan residuos en el animal y son amigables con el ambiente.

Los extractos evaluados pueden ser administrados tanto en el agua, pero se debería continuar investigando con dosis inferiores para evitar un desequilibrio en el agua del estanque.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Avetisyan, A., Markosian, A., & Petrosyan, M. (2017). Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1). Recuperado de <https://bmccomplementalmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-1587-5>

Calderón, Y. A., Alvarez, J. A., & Bullaín, M. M. (2018). *Evaluación de la actividad antibacteriana de la melaza frente a vibrio sp. Aislados de estanques de cultivo de litopenaeus vannamei (camarón)*. 3, 48-58. Recuperado de <https://revistas.udg.co.cu/index.php/redel/article/view/679/1212>

Gedikođlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food science & nutrition*, 7(5), 1704-1714. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6526640/>

Granados, C., Santafé, G. G., & Acevedo, D. (2015). *Chemical composition and evaluation of antioxidant activity of leaf essential oil Eucalyptus camaldulensis from Norte de Santander (Colombia)*. *Rev U. D. C.. A Act Div Cient.*, 18(1), 235-240. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262015000100027

Gunalan, B., Soundarapandian, P., Anand, T., Kotiya, A. S., & Simon, N. T. (2014). Disease Occurrence in *Litopenaeus vannamei* Shrimp Culture Systems in Different Geographical Regions of India. *International Journal of Aquaculture*, 4(4). Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/3110/1efcceaafb9b340d96b3a500c47a-179b9ac1.pdf>

Harlina, H., Prajitno, E. S., & Happy, N. (2015). Potential Study of *Kopasanda* (*Chromolaena odorata* L.) Leaves as Antibacterial Against *Vibrio harveyi*, Disease Causative Agent of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) Post Larvae. *Aquaculture Research & Development*, 6(10), 1-5. Recuperado de [https://www.semanticscholar.org/paper/Potential-Study-of-Kopasanda-\(Chromolaena-odorata-Harlina-Prajitno/c62886534aaacef88c8313e04e6586a609541d90](https://www.semanticscholar.org/paper/Potential-Study-of-Kopasanda-(Chromolaena-odorata-Harlina-Prajitno/c62886534aaacef88c8313e04e6586a609541d90)

López, R., & Herrera, C. S. (2013). *Efecto de tres bactericidas naturales (Ajo, Cebolla y Jengibre) sobre las poblaciones de Vibrio, patógenos de camarones juveniles Litopenaeus vannamei en estanques experimentales*. (Tesis Ing. Acuicola). León: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

Maksimov, O. (2017). Thyme *Thymus vulgaris* L. Thymol CT Essential Oil as Natural Preservative. ~ 19 ~ *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 5(2), 19-22. Recuperado de <http://www.essencejournal.com/pdf/2017/vol5issue2/PartA/5-1-23-185.pdf>

Martínez, J., Molina, N., & Boucourt, T. E. (1997). *Evaluación de la actividad antimicrobiana del Psidium guajava L (Guayaba)*. *Rev Cubana Plant Med.*, 2(1), 12-14. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v2n1/pla03197.pdf>

Rodríguez, F. A. (2015). *Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del Ficus citrifolia Mill. (Moraceae), in vitro frente a cepas de Staphylococcus aureus*. (Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico). Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Rodríguez, C. N., Zarate, A. G., & Sánchez, L. C. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15(27), 119. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00119.pdf>

Rueda, Y., & Mogollón, C. (2012). *Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies Eucalyptus globulus y E. camaldulensis de tres zonas de Pamplona (Colombia)*. 10(1), 52-61. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf>