



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) sobre poblaciones de *Vibrios* sp.
en camarón blanco *Litopenaeus vannamei***

**DELGADO DAVILA HELMER FERNANDO
INGENIERO ACUICOLA**

**CACERES RAMIREZ PABLO DAVID
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2022**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) sobre poblaciones de
Vibrios sp. en camarón blanco *Litopenaeus vannamei***

**DELGADO DAVILA HELMER FERNANDO
INGENIERO ACUICOLA**

**CACERES RAMIREZ PABLO DAVID
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2022**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) sobre poblaciones de
Vibrios sp. en camarón blanco *Litopenaeus vannamei***

**DELGADO DAVILA HELMER FERNANDO
INGENIERO ACUICOLA**

**CACERES RAMIREZ PABLO DAVID
INGENIERO ACUICOLA**

RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA

**MACHALA
2022**

EXTRACTO DE AJO (*Allium sativum*) SOBRE POBLACIONES DE *Vibrios* spp. EN AGUA DE CULTIVO DEL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 10%

Excluir bibliografía

Apagado

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

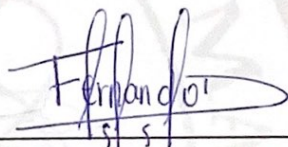
Los que suscriben, DELGADO DAVILA HELMER FERNANDO y CACERES RAMIREZ PABLO DAVID, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) sobre poblaciones de *Vibrios* sp. en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, otorgan a la Universidad Técnica de 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 tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran 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.

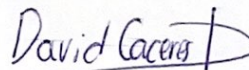
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

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.



DELGADO DAVILA HELMER FERNANDO

0704580497



CACERES RAMIREZ PABLO DAVID

0706664489

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la vida, la salud, la fortaleza y todo lo que me ha permitido vivir, pues todo se lo debo a Él.

Un especial agradecimiento a mis padres, mis hermanos, cuñados y sobrinos por siempre ser un soporte en mi vida cuando el camino parecía ponerse difícil.

Así mismo agradecer a los docentes Dra. Leonor Rivera, Dra. Lita Sorroza, Ing. Irán Rodríguez, por su aporte a esta investigación. A la vez agradecer a todos los docentes que me formaron como profesional durante estos cinco años. También agradecer a la Ing. Ivana Tuz por su apoyo en el laboratorio de Sanidad Vegetal. De igual manera agradecer a Daniel Zhu, propietario de la camaronera donde se tomaron las muestras de agua para el análisis.

David Cáceres

A Dios, como principal agradecimiento por la vida y la salud para cumplir con mis metas planteadas.

A mi familia, por toda su comprensión, amor, paciencia y empatía durante esta lucha constante y ser mi motivación en tiempos de decline, sin su ayuda no hubiese alcanzado esta meta.

A la Universidad Técnica de Machala, a los maestros de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Acuicultura, en especial a los docentes Dra. Leonor Rivera, Dra. Lita Sorroza, Ing. Irán Rodríguez, Ing. Ivanna Tuz a quienes debo mi formación y aprendizaje durante el tiempo de estudio, así como brindarme la oportunidad de haber hecho posible culminar mi carrera.

Fernando Delgado

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres, Carlos e Irlanda, por su esfuerzo diario y apoyo incondicional durante esta etapa, para que pueda formarme como un profesional, sus consejos oportunos me ayudaron a superar todos los obstáculos del camino.

A mis hermanos Carlos, Mauricio, Dorys e Israel por haber influenciado positivamente mi vida, impulsándome a mejorar y cumplir mis metas.

A mis sobrinos Mathias, Emilia, Sarahí, Iván, Carlos, Dánelly y Julio, por inspirarme a continuar y saber que hay personas esperando lo mejor de mí.

A mi amigo José Ruiz por ser el ejemplo de un amigo fiel, y reflejar el amor de Dios en todos los que lo conocemos y podemos llamarlo amigo.

David Cáceres

A mi madre que ha sido el pilar fundamental para poder cumplir con mi meta, quien se ha encargado de inculcarme buenos hábitos y valores que me han servido en tiempos difíciles para no declinar y cristalizar una meta más en mi vida.

A mi esposa e hijo, que con su amor, cariño y comprensión han sabido impulsarme y aumentar mis ganas de conseguir lo mejor para mi hogar

A mis demás familiares y amigos por estar presente en cada momento para con su ayuda lograr ser un profesional.

Fernando Delgado.

RESUMEN

La acuicultura ha tenido un gran desarrollo en los últimos tiempos, y con ello la productividad de camarón, sin embargo, el aumento de organismos patógenos causantes de enfermedades, ha llevado al consumo de manera irracional de antibióticos farmacéuticos costosos, que para ser administrados se lo debe de hacer de manera cuidadosa, y que en muchos de los casos provoca resistencia bacteriana por su mal uso, es por ello que en la presente investigación estudia el efecto bactericida a partir de un producto natural, de fácil accesibilidad y menor costo, como el ajo. El propósito de este estudio es establecer el efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) acerca de poblaciones de *Vibrios* spp. en agua de cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, y los factores externos que favorecen o entorpecen la reproducción de *Vibrios*, como pH del agua, temperatura, tiempo de exposición del ajo, entre otros.

El ajo es considerado un potente antibacteriano por sus componentes que presenta como Alicina, ajoeno, ácido cafeico, ácido ascórbico, ácido clorogénico, quercético, entre otros, actúa sobre bacterias gram negativas y gram positivas, inclusive en cepas resistentes. Un componente importante y gran relevancia es la Alicina, responsable de un gran porcentaje de la actividad bactericida presente en el ajo, ya que altera el ARN de los microorganismos patógenos y causa disminuir el perfil de lípidos de los mismos. Sin embargo, el tiempo de acción del ajo difiere según el pH, concentración y tiempo en el que se encuentre.

En este estudio, el muestreo a 4 horas de exposición de las concentraciones de ajo aplicadas de 0,60, 0,30, 0,15 g/L en el agua muestran poblaciones bacterianas de 300, 2033 y 2300 ufc/ml respectivamente en comparación con 3500 ufc/ml del tratamiento testigo evidenciando el efecto bactericida del ajo en los *Vibrios*; a 8 horas, la concentración 0,60 g/L continua con el efecto bactericida, obteniendo 1100 ufc/ml frente a 2600 ufc/ml del testigo; a 12 horas la concentración de 0,60 g/L continua presentando efecto reductor en la carga bacteriana, obteniendo 1700 ufc/ml frente a 6100 ufc/ml del testigo. A partir de las 24 horas el ajo ya no tiene efecto bactericida sobre los *vibrios*.

Palabras claves: ajo, bactericida, *Vibriosis*, concentraciones, ufc.

ABSTRACT

Aquaculture has had a great development in recent times, and with it shrimp productivity, however, the increase of disease-causing pathogens, has led to the irrational consumption of expensive pharmaceutical antibiotics, that to be administered it must be done carefully, and that in many of the cases it causes bacterial resistance due to its misuse, is why in the present investigation studies the bactericidal effect from a natural product, easy accessibility and lower cost, like garlic. The purpose of this study is to establish the effect of garlic extract (*Allium sativum*) on populations of *Vibrios* spp. in white shrimp culture water *Litopenaeus vannamei*, and external factors that favor or hinder the reproduction of *Vibrios*, such as water pH, temperature, garlic exposure time, among others.

Garlic is considered a potent antibacterial for its components such as aliicin, ajoene, caffeic acid, ascorbic acid, chlorogenic acid, quercytic, among others, acts on gram-negative and gram-positive bacteria, even in resistant strains. An important component and great relevance is the Allicin, responsible for a large percentage of the bactericidal activity present in garlic, since it alters the RNA of the pathogenic microorganisms and causes to decrease the lipid profile of them. However, the time of action of garlic differs according to the pH, concentration and time in which it is found.

In this study, that sampling at 4 hours of exposure of applied garlic concentrations of 0.60, 0.30, 0.15 g/L show bacterial populations of 300, 2033 and 2300 cfu/ml respectively compared to 3500 cfu/ml of the control treatment evidencing the bactericidal effect of garlic in vibrios, at 8 hours, the concentration 0,60 g/L continuous with the bactericidal effect, obtaining 1100 cfu/ml versus 2600 cfu/ml of the control; at 12 hours the concentration of 0,60 g/L continues to have a reducing effect on the bacterial load, obtaining 1700 cfu/ml compared to 6100 cfu/ml of the control. From 24 hours garlic no longer has bactericidal effect on vibrios.

Keywords: garlic, bactericide, vibriosis, concentrations, ufc.

INDICE

AGRADECIMIENTO	- 4 -
DEDICATORIA	- 5 -
RESUMEN	- 6 -
ABSTRACT	- 7 -
INDICE.....	- 8 -
1. INTRODUCCIÓN	- 14 -
2. GENERALIDADES DEL OBJETO DEL ESTUDIO	- 16 -
2.1 Planteamiento del problema.....	- 16 -
2.2 Formulación del problema.....	- 16 -
2.3 Justificación	- 16 -
2.4 Objetivos.....	- 17 -
Objetivo general	- 17 -
Objetivos específicos	- 17 -
3. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	- 18 -
Acuicultura en el mundo.....	- 18 -
Género Vibrio spp	- 19 -
Vibriosis en cultivo de camarón	- 19 -
Signos clínicos de Vibriosis en el cultivo de camarón	- 22 -

Especies de Vibrios que afectan en la fase larvaria del camarón	- 22 -
<i>Vibrio Harveyi</i>	- 22 -
Vibriosis en la fase de engorde el camarón	- 23 -
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	- 23 -
Enfermedades producidas por causa <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	- 24 -
Necrosis Aguda Del Hepatopáncreas (APHND)	- 24 -
<i>Vibrio alginolyticus</i>	- 25 -
Enfermedades causadas por <i>Vibrio Alginolyticus</i>	- 25 -
<i>Vibrio Vulnificus</i>	- 26 -
Antibióticos en Acuicultura	- 27 -
Oxitetraciclina (OTC)	- 28 -
Florfenicol (FFC)	- 28 -
Ciprofloxacino (CIPRO)	- 29 -
Alternativas biológicas usadas para el control de enfermedades.....	- 29 -
Probióticos	- 29 -
Lipopolisacaridos como inmunoestimulantes	- 29 -
Extractos vegetales para el control de Vibrios	- 30 -
El Ajo como alternativa para el control de enfermedades	- 30 -
Taxonomía.....	- 30 -
4. MATERIALES Y METODOS.....	- 34 -

4.1 Ubicación	- 34 -
4.2 Materiales y equipos a utilizar	- 34 -
4.2.1 Materiales	- 34 -
4.2.2 Sustancias	- 35 -
4.2.3 Equipos.....	- 35 -
4.3 Diseño experimental	- 35 -
4.4 Caracterización de tratamientos.....	- 36 -
4.5 Manejo del ensayo	- 36 -
4.5.1 Obtención del extracto del ajo	- 36 -
4.5.2 Obtención de agua para unidades experimentales	- 37 -
4.5.3 Transporte del agua	- 37 -
4.5.4 Desinfección del área de estudio.....	- 38 -
4.5.5 Preparación de medio de cultivo	- 38 -
4.5.6 Plaqueo en caja petri	- 38 -
4.5.7 Desinfección UV	- 38 -
4.5.8 Siembra en placa	- 38 -
4.6 Metodología para recolección de datos	- 39 -
4.6.1 Análisis microbiológico	- 39 -
4.6.2 Análisis estadístico.....	- 39 -
5. RESULTADOS	- 40 -

Efecto del extracto del ajo en poblaciones de Vibrios en los momentos de evaluación.	- 40 -
Concentración más eficiente en el control de Vibrios.	- 45 -
Influencia del ajo en el pH.....	- 45 -
Relación del pH en las concentraciones de Vibrios.....	- 49 -
6. DISCUSION.....	- 51 -
7. CONCLUSIONES.....	- 54 -
8. RECOMENDACIONES	55
9. REFERENCIAS	56
10. ANEXOS.....	63

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Reacción química de la formación de Alicina - 32 -
- Figura 2** Área de estudio en Machala coordenadas -3,2914037 y -79,9137593.... - 34 -
- Figura 3** Granja Camaronera Zhu, Coordenadas -3,2662151 -79,975705 - 37 -

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1** Lista parcial de especies de Vibrio que se han asociado con brotes de enfermedades en camarones en varios puntos del ciclo de producción..... - 20 -
- Tabla 2** Compuestos sulfurados del ajo - 31 -
- Tabla 3** Cantidad de Vibrios en las diferentes concentraciones de ajo y momentos de muestreo..... - 40 -
- Tabla 4** Prueba paramétrica ANOVA unifactorial intergrupos en cada momento de muestreo..... - 41 -
- Tabla 5** Prueba paramétrica ANOVA unifactorial intergrupos - 46 -

INDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** Croquis DCA - 36 -
- Gráfico 2** Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 4 horas de aplicados los tratamientos. - 42 -
- Gráfico 3** Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 8 horas de aplicados los tratamientos. - 42 -
- Gráfico 4** Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 12 horas de aplicados los tratamientos. - 43 -
- Gráfico 5** Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 24 horas de aplicados los tratamientos. - 44 -

Gráfico 6 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 48 horas de aplicados los tratamientos.	- 44 -
Gráfico 7 Cantidad de vibrios en los momentos de muestreo	- 45 -
Gráfico 8 Valores de pH del agua en cada tratamiento a 4 horas de exposición.....	- 46 -
Gráfico 9 Valores de pH del agua en cada tratamiento a 8 horas de exposición.	- 47 -
Gráfico 10 Valores de pH del agua en cada tratamiento a 12 horas de exposición..	- 47 -
Gráfico 11 Valores de pH del agua en cada tratamiento a 24 horas de exposición. .	- 47 -
Gráfico 12 Valores de pH del agua en cada tratamiento a 48 horas de exposición. .	- 48 -
Gráfico 13 pH del agua en los momentos de muestreo.	- 49 -
Gráfico 14 Relación del pH con la cantidad de Vibrios del agua en la concentración de 0 g/L de ajo.	- 50 -

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura a nivel mundial es el sector agroalimentario que presenta el más rápido crecimiento, según (FAO 2021) la acuicultura ocupa un lugar importante cuando se trata de la producción de alimento a nivel mundial, buscando satisfacer las necesidades alimenticias y logrando bajar la dependencia de la pesca extensiva en los mares y océanos del mundo, evitando una sobreexplotación de los recursos pesqueros.

La acuicultura es uno de los sectores productivos con mayor crecimiento en el Ecuador siendo la industria camaronera la más importante debido a su producción, rentabilidad y sostenibilidad, sin embargo, de igual manera el número de brotes de enfermedades ha ido en aumento, ocasionando grandes pérdidas económicas. Dentro de los diferentes agentes microbiológicos patógenos que ocasionan mayor afectación en los cultivos de camarón, se encuentra los *Vibrios*, agente bacteriano que responsable del mayor porcentaje de tasa de mortalidad de camarones, peces y demás cuando no es prevenido dentro de las granjas camaroneras. En general se habla que esta bacteria se encuentra en todo el ambiente marino y salobre, en toda la columna de agua en general (Novriadi 2016).

Existen diversas especies de bacterias gram negativas que engloban dentro del género *Vibrio*, Siendo los patógenos más importantes en los camarones tenemos a: *V. harveyi*, *V. penaeicida*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son los patógenos más importantes en los camarones (Chandrakala y Priya 2017).

Los brotes de esta enfermedad se producen cuando los factores medio ambientales cambian rápidamente en las unidades de cultivo como la temperatura, pH, oxígeno generando un estrés en el animal de cultivo lo que desencadenan en una baja en el sistema inmunológico, lo que consecuencia a una penetración bacteriana de las barreras del huésped (Chandrakala y Priya 2017). Los *Vibrios* podrían clasificarse como un patógeno oportunista, que causa enfermedades cuando el organismo del huésped está inmunodeprimido o estresado debido al cultivo super intensivo y las condiciones ambientales adversas (Novriadi 2016).

Por tratarse de una enfermedad que afecta significativamente los porcentajes de mortalidad, ha llevado que se administre de manera incorrecta diversos antibióticos, ocasionando en mucho de los casos resistencia bacteriana, daño al medio ambiente, y

ocasionando posible daño en los consumidores de camarón además que residuos de antibióticos reducen el valor en el mercado y exportación de los productos acuícolas (Gonzalez, Vidal y Pimienta 2021).

Es así que hoy en día se trata de introducir una solución natural, menos costosa e invasiva, como lo es el extracto de ajo (*Allium sativum*) por sus grandes efectos farmacológicos, logrando así frenar el crecimiento bacteriano y fúngico, promoviendo un mejor manejo sanitario del animal, logrando mejorar la producción (Serna-Ardila, y otros 2022).

2. GENERALIDADES DEL OBJETO DEL ESTUDIO

2.1 Planteamiento del problema

La Vibriosis producida por bacterias de genero *Vibrio spp.* son consideradas bacterias patógenas importantes en la acuicultura, ocasionando una gran pérdida económica, por lo que la industria acuícola se ha visto amenazada. Una medida de control de esta enfermedad y otras, es el uso de antibióticos como primera opción, debido a su rápida acción y disponibilidad. Sin embargo, a pesar de ser efectivas en un inicio, los efectos contralaterales hacia el medio ambiente y la salud pública humana justifican la necesidad de desarrollar otras estrategias. Así que una medida de control alternativa sería la aplicación de extracto de ajo en el agua del cultivo. (Gutierrez, y otros 2020)

Hoy en día por el gran incremento de resistencia bacteriana, se está aplicando la medicina más antigua del mundo, como es la utilización de plantas y sustancias, ya que las plantas medicinales han demostrado tener una efectividad similar al uso de antibióticos, es por ello que el uso de la pasta de ajo (*Allium sativum*) es una segunda opción al uso de los antibióticos que ejerce una acción antimicrobiana, anticancerígena, antifúngica, debido a sus compuestos órganos sulfurados como alicina y ajoeno (Nuñez, y otros 2022). Además de ser un producto de fácil manejo, accesibilidad, económico y que no denota de tanto cuidado a su administración.

2.2 Formulación del problema

Que efectos favorables y/o colaterales ocasiona la aplicación de extracto ajo en el agua de cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

2.3 Justificación

Esta investigación busca demostrar los beneficios del uso del extracto del ajo en el cultivo de camarón, como una alternativa natural efectiva contra las infecciones bacterianas ocasionadas por los Vibrios en los cultivos.

El extracto de ajo es una alternativa natural que no representa una amenaza para el organismo de cultivo ni para el consumidor final, a diferencia de los antibióticos comerciales aplicados en granjas acuícolas que pueden generar resistencias en las

bacterias patógenas y pueden dejar residuos que pueden generar un efecto en el consumidor final.

Así también presentamos la dosificación indicada de extracto de ajo para un efectivo tratamiento contra los *Vibrios* en el agua.

2.4 Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) sobre poblaciones de *Vibrios spp.* en agua de cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Objetivos específicos

- Demostrar el efecto del extracto del ajo en diferentes concentraciones sobre las poblaciones de *Vibrios spp* en el agua de cultivo de camarón en cada momento de muestreo.
- Evaluar la concentración adecuada para el control de las poblaciones de *Vibrios* en el agua.
- Determinar la influencia de las diferentes concentraciones de extracto del ajo en el pH del agua de cultivo de camarón.

3. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

Acuicultura en el mundo

La producción acuícola ha tenido un crecimiento significativo en las últimas décadas. Se estima que el 86% de la producción total fue destinada al consumo humano, esta cantidad se logró debido a la comprensión del consumidor sobre los beneficios que lleva el adquirir productos acuícolas (Zapata, Giraldo y Baez 2018). El sector camaronero, ha brindado apoyo al comerciante, ocasionando aumento de plazas de empleo, generando divisas, y con ello un sin número de innovaciones tecnológicas en los 30 últimos años (Loayza, y otros 2022). De igual forma, ayudado a fomentar otras plazas de trabajo como el servicio de empaquetado, comercialización y distribución, el comercio de equipos, redes y tecnologías, suministro de hielo entre otros. (Espinós 2018)

Nuestro país hoy en día ha logrado a superar grandes países camaroneros como China e India, posesionándose como el principal país productor de camaronero. Es por ello que las empresas del sector se han preocupado al volumen de crédito, aumentando en un 82% los créditos en el primer trimestre 2022 a valores superiores de USD 435 millones, centrándose en lograr mayor número de hectáreas para cultivar camaroneros, mejorar técnicas de alimentación, mejorar la distribución del producto y así aumentar la demanda. En la investigación realizada por Oikonomics, menciona que en el mercado internacional el precio aumentó llegando a USD 14,96 en el año de 2022, equivaliendo a un aumento de 7% en comparación al año anterior. En el mercado local en cambio incrementó un 17% llegando a valer USD2,95. Todo esto debido al incremento de la tasa anual promedio del 16%, según los últimos siete años. (Coba 2021)

En Ecuador el crecimiento de la producción acuícola ha tenido un gran avance, gracias a las propiedades que cuenta el país como tierras fértiles, su buen clima tropical lo que hace que se de 3 ciclos por año, diferenciándose así de otros países productores que solo tienen 2 ciclos y otros incluso uno solo, lo que favorece al desarrollo, crecimiento, sabor, textura y resistencia a las enfermedades. Las provincias más productivas son El Oro y Guayas, siendo este último el más productivo ocupado así el primer lugar con un 70% de hectáreas seguido de El Oro 15%, Esmeralda y Manabí 9% y 7% en Santa Elena. A finales de la década 60 empezó la actividad camaronera en Ecuador, originándose en la provincia de El Oro, en el pasar de los años con el crecimiento de la producción, el sector camaronero

ha tenido que enfrentar grandes enfermedades, falta de inversión, sobreoferta a nivel mundial (Ullsco, y otros 2021).

Género *Vibrio* spp

El género *Vibrio* spp, está compuesto por bacterias gran negativas, es decir que no tienen una específica tinción distintiva. Su morfología tiene forma curva de bastoncillo, su crecimiento se puede dar en ausencia de oxígeno, sin embargo, no es el mejor, la temperatura aceptable es de 15°C o más. Se considera que los Vibrios forman parte de los ecosistemas acuáticos en su mayoría en agua de mar y agua salobre. (Newman 2022) Poseen un solo flagelo polar que las hace móviles, además, son flexibles debido a que tienen dos cromosomas (Cartin y Pascual 2021). Además, la biopelícula que forman, hace que generen enfermedades y garantizar la permanencia ambiental (Newman 2022). El medio de contagio de estas bacterias es por medio de agua o alimentos mal cocidos infestados. Los organismos mayormente afectados están: pescado, ostras y crustáceos (Cartin y Pascual 2021).

Rojas y Barrera (2021) en su investigación menciona que las especies más comunes que afectan al sector acuícola son *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. cholerae*, *V. harveyi* y *V. vulnificus*, estas tres últimas especies tienen mayor impacto en la salud pública. Este género de bacteria afecta de manera importante los insumos pesqueros y este a su vez al producto interno bruto (Cartin y Pascual 2021).

Vibriosis en cultivo de camarón

La Vibriosis es considerada la enfermedad más predominante en los camarones, tanto en fase larvaria como en el transcurso del desarrollo. Sin embargo, el mayor porcentaje de mortalidad se ha visto en la etapa larvaria. Existen diversos tipos de *Vibrio*, entre los que más han afectado a la producción de camarón y han producido grandes pérdidas económicas, tenemos *Vibrio harveyi* que es causante del Síndrome del color rojo brillante (BRS), *V. alginolyticus*, *Vibrio Harveyi*, *V. parahaemolyticus*, causantes de necrosis séptica hepatopancreática aguda (Bautista, y otros 2022).

Santos (2020) menciona en su investigación que el género *Vibrio* ha causado múltiples enfermedades de importancia, entre la de mayor impacto está La Necrosis

hepatopancreática aguda (AHPND) que apareció en Asia y luego a Norte América, para continuar en América del Sur (Aguirre, Sanchez-Suarez y Ordinola-Zapata 2021).

En la investigación realizada por Stephen en el año 2022 menciona diversos patógenos que no tienen una gran virulencia para ocasionar enfermedad, sin embargo, sus brotes se deben a bacterias oportunistas. Los factores estresantes cumplen un gran rol importante en el desarrollo de la enfermedad, debido que pueden contener patógenos virales, y así ocasionar la enfermedad a los camarones (Newman 2022).

Es así, que normalmente las bacterias se hallan formando parte natural del microbiota de organismos sanos, y se convierten en patógenos cuando se altera los mecanismos de defensa. Dentro de los factores estresantes que alteran el estado inmune están: baja calidad del agua, el desequilibrio nutricional en la dieta, alta densidad, cambios extremos de temperatura del agua y demás factores fisicoquímicos (Jayasree, Janakiram y Madhavi 2006).

Típicamente, el inicio de la Vibriosis empieza por alteraciones externas y si no se logra controlar la infección, esta puede avanzar a volverse sistémica, y con ello aumentar la mortalidad (Jayasree, Janakiram y Madhavi 2006). Los lugares más comunes en los que se observa lesiones por Vibriosis son: cutícula, tejido muscular pálido, creación de nódulos en el corazón, branquias, hepatopáncreas, antenas, cordón nervioso y musculo, lesiones marrón o negra en la cutícula, apéndices o branquias y necrosis de la cola (Salwany, y otros 2019).

En la siguiente tabla (Tabla 1), indica las diferentes especies de Vibrio y las enfermedades que pueden ocasionar en tiempos específicos.

Tabla 1 Lista parcial de especies de Vibrio que se han asociado con brotes de enfermedades en camarones en varios puntos del ciclo de producción.

ESPECIE	ENFERMEDAD
<i>V. alginolyticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Zoea • Necrosis Hepatopancreática Séptica (criadero y engorde) • enfermedad de la cáscara.

<i>V. anguillarum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de la cáscara (juveniles y adultos).
<i>V. Harvey</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vibriosis luminiscente (huevos y larvas). • Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS). • Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) (larvas, juveniles y engorde).
<i>V. parahaemolyticus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Mortalidad Temprana (Necrosis Hepatopancreática Aguda) (larvas, juveniles y engorde) • Síndrome de Zoea • Necrosis séptica (criadero y engorde) • Enfermedad de la cáscara.
<i>V. vulnificus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Necrosis séptica (criadero y engorde) • Enfermedad de la cáscara.
<i>V. splendidus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de la cáscara • Vibriosis luminiscente (huevos y larvas).
<i>V. fluviales</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de la cáscara
<i>V. campbellii</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Zoea • Necrosis séptica (criadero y engorde) • Síndrome de Mortalidad Temprana (Necrosis Hepatopancreática Aguda) (larvas, juveniles y engorde).
<i>V. mimicus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Zoea • Necrosis séptica (criadero y engorde) • Enfermedad de la cáscara. Muy similar a <i>V. cholerae</i>.
<i>V. owensi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Mortalidad Temprana (Necrosis Hepatopancreática Aguda) (larvas, juveniles y engorde) • Síndrome de Zoea • Necrosis séptica (criadero y engorde)

<i>V. orientalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vibriosis luminiscente (huevos y larvas), también conocida como <i>V. bivalvicida</i>.
<i>V. mediterranei</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vibriosis luminiscente (huevos y larvas).
<i>V. logei</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Vibriosis luminiscente (huevos y larvas).
<i>V. penaeicida</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de verano en el engorde.
<i>V. nigripulchritudo</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de verano en el engorde.

Fuente: (Newman 2022).

Vibriosis sistemática

Es una enfermedad que causa una gran tasa de mortalidad en bacterias, más del 90%, existen diversas especies del género *Vibrio*, incluyendo cepas de *V. penaeicida*, *Vibrio harveyi*, *V. nigripulchritudo*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. campbellii*, *V. alginolyticus* y *V. owensii*. Esta enfermedad tiene signos clínicos inespecíficos como la presencia de camarones nadando de manera errónea en la superficie y el borde de los estanques, se evidencia una disminución del consumo de alimento. Su diagnóstico se puede realizar mediante análisis en fresco, como observación tanto macroscópica como microscópica en esta última se puede evidenciar bacterias motiles en hepatopáncreas y hemolinfa (Varela 2020).

Signos clínicos de Vibriosis en el cultivo de camarón

Existen diversos signos, entre los más destacados están los que se presentan en etapa larvaria como: letargia, anorexia, infestación bacteriana en la cutícula, intestino semivacío, flexión dorsal abdominal, cambio de color en el musculo abdominal, disminución de hemocitos, disminución en el tiempo de coagulación de la hemolinfa, nódulos melanizados en la hepatopáncreas, cromatóforos visibles en la base de apéndice (Vaildez, y otros 2021).

Especies de Vibrios que afectan en la fase larvaria del camarón

Vibrio Harveyi

Vibrio harveyi, es una bacteria patógena responsable de enfermedades, que se encuentra presente en los camarones y en los peces. En los camarones es responsable de la Vibriosis

luminosa, donde los camarones afectados brillan en la oscuridad, además existe una segunda enfermedad denominada bolitas negras, que se caracteriza por presentar en el tracto digestivo esferas de tejido desprendido. Además, está involucrada en la enfermedad de caparazón negro en la India y en la China la enfermedad bacteriana de cola blanca en camarones patiblancos (*Litopenaeus vannamei*), donde se evidencia lesiones blancas u opacas en la cola, debido a la necrosis muscular. Los mecanismos de patogenicidad son: endotoxina lipopolisacárido y las proteasas extracelulares, y la interacción con los bacteriófagos. (Xiao 2020)

Vibriosis en la fase de engorde el camarón

Vibrio parahaemolyticus

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria gran negativa, que causa especialmente la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda, donde Galviz Silva en su investigación demostró que la virulencia influye de varios parámetros como densidad, cepa, ruta de infección, tiempo de exposición, edad y condición del camarón, además de la gran variedad de polimorfismo en las cepas patógenas, por lo que influye al momento de causar afección al camarón, es así que se en unos cultivos se puede observar que las de mayor virulencia la alcanzan entre las 7 – 10 Horas provocando una mortalidad del 50%, y en otros cultivos las de menor virulencia causan mortalidad alrededor de las 17 horas (Silva 2021).

Rezny menciona que el principal factor de virulencia es la hemolisina directa termoestable, evidenciándose en la mayoría de muestras clínicas (88 % a 96%) y aproximadamente el 1% de las poblaciones naturales del *Vibrio Parahaemolyticus*. Por lo tanto, se sospecha que es así como causa síntomas gastrointestinales (Rezny y Evans 2022).

Su hábitad al igual que muchas otras especies de Vibrios marinos, se encuentra formando parte de la flora normal en medio acuático, sin embargo, la proliferación de los mismos está asociado a la concentración de zooplancton, en particular a copépodos y a la temperatura. Es así que el porcentaje de concentración varía dependiendo de los factores que ocasionen diversidades de zooplancton, abarcando temperatura, luminosidad,

corrientes marinas concentración de nutrientes y concentración del fitoplancton, etc (Hernandez, y otros 2020).

Enfermedades producidas por causa *Vibrio parahaemolyticus*

Necrosis Aguda Del Hepatopáncreas (APHND)

Esta enfermedad es causada por cepas específicas de *Vibrio*, como el *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. campbellii* y *V. owensii*, sin embargo, varios estudios mencionan que no son las únicas, se habla de nuevas especies. (Varela-Mejias y Alfaro-Mora 2018) La hepatopáncreas se evidencia entre pálido y blanco, también existe una atrofia del mismo, al igual que pueden existir puntos o estrías negras en su interior y se es complicado aplastarlo entre los dedos pulgar e índice, el intestino puede evidenciarse que puede tener o no contenido (FAO 2020).

Según un reporte realizado por Solís, menciona que la AHPND surgió en el 2009, manifestándose como una patología nueva que involucra las granjas camaroneras encontradas en el sur de China y la Isla de Hainan. Alrededor de los 20 o 30 días posteriores a la introducción en los estanques de engorde con los postlarvas, empieza a manifestarse la enfermedad, mostrando signos clínicos como letargo, un reducido hepatopáncreas, intestino rojo y vacío, exoesqueletos blandos y oscuros, además de presentar en el caparazón manchas (Ovando, y otros 2012).

En otra revisión realizada por Vikash Menciona que La AHPND es una enfermedad muy devastadora para la acuicultura, ya que se desarrolla con rapidez, tanto así que a los 8 días post siembra empieza la afectación con mortalidades severas (hasta un 100%) dentro de los 20-30 días. Afectando a diversas especies de camarones, tanto como *Penaeus monodon*, *Litopenaeus vannamei* y *Macrobrachium rosenbergii* y el crustáceo *Artemia franciscana* (Vikash, y otros 2021).

Dos etapas diferentes incluyen la patología de la APHND, la primera, se observa que la hepatopáncreas afectada tiene separación de las células epiteliales de los túbulos de la membrana basal y degeneración del epitelio de los túbulos en ausencia de células bacterianas, la segunda etapa se evidencia un acumulo hemocítico intratubular extensa en el hepatopáncreas y la aparición de una extensa infección bacteriana (Aranguren, y otros 2020).

En el estudio realizado por Aranguren describió otros cambios ya señalados como granulomas, melanización focal o multifocal de los túbulos en el hepatopáncreas, además de atrofia de las células epiteliales de los túbulos (Aranguren, y otros 2020).

Vikash en su estudio menciona que la principal patogenicidad del *v. parahaemolyticus* es el plásmido Pva1 que posee dos genes de movilización del plásmido además de un gran número de genes de transferencia para la conjugación con otras clases de *Vibrios*, así se justificaría como cepas no patógenas tienen alta virulencia, además de que las hemolisinas: directa termoestable como la relacionada con la TDH son los factores principales de virulencia (Vikash, y otros 2021).

Vibrio alginolyticus

V. alginolyticus al igual que otras cepas de *Vibrios*, es una bacteria gram negativa que forma parte de la flora marina responsables de enfermedades oportunistas, esto debido a la competencia que tiene al adherirse al mucus del huésped, este es el punto crucial de la virulencia, especialmente en los principales estadios de vida, ocasionando septicemia, hemorragias, a nivel epitelial se observa necrotización progresiva, en la cavidad peritoneal se evidencia líquido ascítico. (Espinel 2005)

El *Vibrio alginolyticus* dentro de su género es el más halofílico en comparación con los demás, por su capacidad de reproducción en concentraciones de 3,6,8 y hasta 10% de NaCl. A temperaturas mayores de 17°C de las aguas costeras templadas y tropicales, esta bacteria se aísla. Las aguas principalmente las saladas, los alimentos de origen marino o sucios con agua de mar constituyen el reservorio del *V. alginolyticus*. La D-glucosa le proporciona el carbono y energía a este organismo, y a partir de glucosa, maltosa, manitol y sacarosa la utiliza como fuente de nitrógeno y sales biliares. Este microorganismo crece en agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (TCBS), observándose al microscopio grupos de 2 a 4 mm de diámetro, de color amarillo, debido a la degradación de la sacarosa, por lo que se considera sacarosa positiva. Dentro de los factores de virulencia están: gran capacidad de generar hemólisis, hemaglutinación y presencia de proteasa (Moreno 2005).

Enfermedades causadas por *Vibrio Alginolyticus*

En los últimos años, los brotes de *Vibriosis* causados por *V. alginolyticus* se han convertido en la principal causa de pérdidas en el sistema de acuicultura intensiva. La

potencialidad de los fantasmas bacterianos (BG) como candidatos vacunales frente a una amplia variedad de bacterias Gram negativas patógenas, como *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus iniae*, *Flavobacterium columnare* y *Edwardsiella tarda*, recientemente ha sido ampliamente reportado. Por lo tanto, los BG de *V. alginolyticus* se generaron por primera vez mediante la expresión controlada del gen lysis. En el presente estudio. El inicio de la lisis en *V. alginolyticus* se produjo a los 30 min y se completó 3 h después de la inducción, con una eficiencia de lisis del 99,91 %. Aunque *V. alginolyticus* la cepa 16-3 BG no alcanzó el 100 % de escisión, las bacterias vivas residuales podrían eliminarse mediante el proceso de liofilización en condiciones sin agente protector porque el agua intracelular se congeló en cristales de hielo que causaron la ruptura de la membrana celular y la muerte bacteriana. Además, las pruebas de seguridad en animales también demostraron que ninguno de los animales inmunizados mostró reacciones adversas como comportamiento anormal, mortalidad o signos de infección por *V. alginolyticus*. Por lo tanto, los BG liofilizados de *V. alginolyticus* 16-3 fueron seguros y prometedores para su uso como vacuna (Cao, y otros 2018).

Vibrio Vulnificus

El *Vibrio vulnificus* es una bacteria que se encuentra en aguas costeras cálidas, es decir en temperaturas más altas durante los meses de verano. Temperatura de 37°C con rango entre 8 -43°C, con un pH de 7.8 con un rango de 5-10 por lo que tranquilamente pueden sobrevivir a la refrigeración. Fue descrita en el año de 1976 por primera vez, donde tomo el nombre de *Vibrio lactosa positivo*, luego tomo el nombre de *Beneckea vulnificus* para finalmente ser llamado *V. vulnificus*. Se trata de bacilos Gramnegativos, rectos y curvos, además presenta un flagelo polar por lo que lo hace móvil, oxidasa positiva, no esporulado. Son termolábiles y considerados anaerobios facultativos. Su habitat está presente en aguas baja en sal o agua salobre: están en aguas costeras, desembocaduras de ríos, sedimento, plancton y otras formas de vida marina (Zúñiga y Caro 2014).

Una baja concentración de sal es ideal para el crecimiento, como se encuentra en el Mar Báltico. Por lo tanto, en los estudios de los estuarios del Mar Báltico, *Vv* se detectó en un número significativamente mayor de muestras que en las muestras del Mar del Norte. Las infecciones con *Vv* son raras, pero ocurren en todo el mundo. *Vv* existe en un estado inactivo a temperaturas de agua fría, como las presentes en invierno. Si la temperatura del

agua supera los 20 °C en verano, se activa Vv. Una vez activada, la bacteria puede mantener su actividad durante varias semanas incluso cuando baja la temperatura del agua (Heinz-Lothar, y otros 2022).

Antibióticos en Acuicultura

Al igual que la producción de otras especies de cultivo, los antibióticos son aplicados para el tratamiento de infecciones generalmente por bacterias, también, si se considera necesario, para el tratamiento de animales sin sintomatología existente que comparten nicho con animales enfermos, convirtiendo esta actividad en una medida profiláctica. El uso de antibióticos ha arrojado resultados poco consistentes y en muchas ocasiones errados, ocasionando que las comunidades bacterianas puedan desarrollar resistencia ante ciertos antibióticos comerciales (Tenecola, Mite y Alcivar 2018).

La resistencia bacteriana a agentes antimicrobianos es un tema complejo y extenso, se trata de la capacidad de las bacterias para adaptarse a condiciones medioambientales específicas. La resistencia no es más que una herramienta propia de las bacterias para sobrevivir y reproducirse en un medio. La causa de la resistencia puede ser genética, ocurre cuando los genes que la desarrollan pueden transmitirse entre organismos por transferencia horizontal, en el que puede darse por tres vías: conjugación, transducción y transformación (Varela-Mejias y Alfaro-Mora 2018).

El uso de agentes antimicrobianos requiere de una cuidadosa aplicación, para evitar la generación de resistencias nuevas a antibióticos. Se ha demostrado que las bacterias con resistencia a antimicrobianos de los ambientes marinos tienen genes de resistencia a antimicrobianos en ciertos elementos móviles como plásmidos e integrones que tienen la capacidad de transferir esas estructuras antimicrobianas a otras bacterias mediante transmisión horizontal. El uso de antibióticos puede también tener una influencia negativa en la salud de seres humanos, al consumir productos que contengan residuos antimicrobianos que puedan alterar la microbiota de los seres humanos (Millanao, y otros 2018).

La FDA determina los antibióticos que son aplicables y prohibidos para la cría de animales, es así que la oxitetraciclina, enrofloxacin y florfenicol son los antibióticos aprobados mayormente utilizados en la acuicultura.

Oxitetraciclina (OTC)

La oxitetraciclina es un antibiótico sintetizado por bacterias del género *Streptomyces*. Es un antibiótico de amplio espectro que se ha venido usando desde hace ya mucho tiempo. Ampliamente aplicado para tratamientos orales de infecciones en crustáceos. También es usado para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias Gram (-) y Gram (+), rickettsias, micoplasmas y otras. Es aplicado para el tratamiento de la enfermedad de la hepatopancreatitis necrotizante, causada por la bacteria *Hepatobacter penaei* (Huanambal 2020).

Aunque se conoce que las bacterias como *Aeromonas spp.*, *Vibrionaceae*, *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas spp.* presentan resistencia actualmente ante la oxitetraciclina (Huanambal 2020).

Debemos mencionar que las condiciones medioambientales en donde se aplique oxitetraxiclina determinará la estabilidad del fármaco, ya que en medios alcalinos se puede formar un metabolito inactivo como la lactona, así también en medios ácidos se pueden llegar a formar subproductos que den como resultad deshidratación o epimeracion, procesos que tienen la capacidad de inhabilitar la acción del fármaco (Varela-Mejias y Alfaro-Mora 2018).

Florfenicol (FFC)

El florfenicol se deriva del tiamfenicol. Se considera que tiene un efecto bacteriostático y es de amplio espectro. Químicamente es muy similar al Cloranfenicol la cual es usada por humanos. El mecanismo de acción ocurre bloqueando la subunidad ribosómica 50S en las bacterias patógenas, impidiendo la correcta acción de la peptidil trasferasa y de esta manera evita la síntesis proteica. Su relevancia en la acuicultura se debe a su eficacia en el tratamiento de *Pasteurella piscicida*, *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* y *Edwardsiella tarta* (Varela-Mejias y Alfaro-Mora 2018).

La resistencia antimicrobiana frente a este fármaco se les ha atribuido a técnicas de flujo, como las mutaciones ribosomales que tienen la capacidad de impedir una acción eficaz del antibiótico. (Varela-Mejias y Alfaro-Mora 2018).

Ciprofloxacino (CIPRO)

El CIPRO es una fluoroquinolona y es una quinolona de segunda generación. Posee un mecanismo de acción que se basa en inhibir la Topoisomerasa IV y la ADN girasa de las bacterias. Logra detener la expresión del material genético, y afecta la duplicación del ADN de las bacterias.

Su capacidad de actuación es muy amplia, teniendo sensibilidad en bacterias aerobias Gram (+) y Gram (-), estudios revelan que cepas de Vibrios son sensibles ante este antibiótico (Tarazona, y otros 2018).

Alternativas biológicas usadas para el control de enfermedades

Probióticos

Los probióticos se definen como suplementos alimenticios que contienen microorganismos vivos o muertos, que pueden ser bacterias, bacteriófagos, levaduras o microalgas y son suplementados con el fin de mejorar la respuesta inmune y ayudar a la fisiología de los animales de cultivo (Perez-Chabela, y otros 2020).

Los probióticos tienen un mecanismo de acción de exclusión competitiva en la que patógenos son reemplazados o excluidos por un rápido desarrollo de una comunidad microbiana beneficiosa en el intestino del animal, lo que se traduce como menores influencia de la enfermedad, mejora de la salud y mayor crecimiento del huésped (Trujillo, y otros 2017).

Las bacterias probióticas pueden sintetizar o excretar compuestos antimicrobianos como antibióticos, peróxido de hidrogeno, enzimas bacteriolíticas, bacteriocinas y ácidos grasos con cadena corta como ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido butírico. (Perez-Chabela, y otros 2020). Los metabolitos más utilizados como controladores de patógenos en el campo acuícola son las bacteriocinas.

Lipopolisacaridos como inmunoestimulantes

El lipopolisacárido (LPS) o endotoxina es una molécula de lípido y polisacárido utilizada como inmunoestimulante en la acuicultura. La endotoxina LPS induce, entre otras cosas, la liberación de aglutinina y factores de coagulación, activación de la cadena proPO,

activación de mecanismos bactericidas protectores, como la inducción de la síntesis de óxido nítrico (NOS) y cambios en el número de células sanguíneas circulantes (Marrero, Espinoza y Borrel 2002).

Además, en estudios realizados (Genio, Traifalgar y Corre 2014), demostró estimular la capacidad de respuesta del sistema inmunitario (regulación de genes relacionados con el sistema inmunitario, inmunidad no específica, inmunoglobulinas específicas y aumento de la supervivencia de la infección por agentes patógenos. Los porcentajes de proliferación de hemocitos pueden aumentar, aproximadamente tres veces, después de la estimulación con LPS (Chun, y otros 2020).

Extractos vegetales para el control de Vibrios

Así como en la medicina humana y la veterinaria, la acuicultura busca aprovechar los efectos bactericidas y bacteriostáticos de los compuestos medicinales de productos naturales, compuestos que ayuden a bajar la densidad bacteriana patógena, mejorar calidad de agua, ayudar el crecimiento de las especies y ayudar en general en la salud del animal. Muchas plantas medicinales tienen la capacidad de lisar las paredes celulares, interrumpir la síntesis de ADN (Gomez, y otros 2019).

El Ajo como alternativa para el control de enfermedades

Taxonomía

- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Liliopsida
- **Subclase:** Liliidae
- **Orden:** Liliales
- **Familia:** Liliaceae
- **Género:** Allium
- **Especie:** Allium Sativum

Fuente: (Mardomi 2017)

El ajo es una planta herbácea, originario de Asia central e introducido por los españoles, se cultiva en zonas templadas, sus principales componentes son el fosforo, potasio, azufre

y zinc. Contiene más de 20 ingredientes con propiedades antivirales e ingredientes antibacterianos (Aliicina, ajoeno, ácido cafeico, ácido ascórbico, ácido clorogénico, quercético, entre otros) (Ojeda y Beltran 2018).

Además de niveles moderados de selenio, vitaminas A y C, y bajos niveles de Calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso y complejo vitamínico B, también se han aislado hasta 17 aminoácidos presentes en el ajo. Posee muchas propiedades terapéuticas, tienen efecto antiinflamatorio, antioxidante, además de sus importantes propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Ojeda y Beltran 2018).

Por mucho tiempo se ha conocido las propiedades antimicrobianas del ajo, varios estudios han demostrado que el ajo presenta un amplio espectro contra bacterias gramnegativas y grampositivas, incluidas especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *estafilococos*, *estreptococos*, *klebsiella*, *Proteo*, *Bacilo*, y *Clostridium*. Incluso las bacterias acidorresistentes como Tuberculosis micobacteriana son sensibles al ajo (Sanchez 2018).

(Cordova 2019) Menciona que los compuestos fenólicos son los responsables de actividad antimicrobiana y antiviral del ajo y que los polisacáridos (fructanos) responsables de su poder antioxidante y estimulante del sistema inmunológico de los animales.

Tabla 2 *Compuestos sulfurados del ajo*

Característica	Compuesto
Solubles en agua	S-alil-cisteína
	S-alil-mercaptocisteína
	S-metilcisteína
	Y-glutamil-cisteína
Solubles en aceite	Sulfuro dialílico
	Disulfuro dialílico (dialil disulfuro)
	Alicina (óxido de disulfuro dialílico)
	Trisulfuro alilmetílico
	Alina
	Ditinas
	viniloditlinas
Ajoeno	

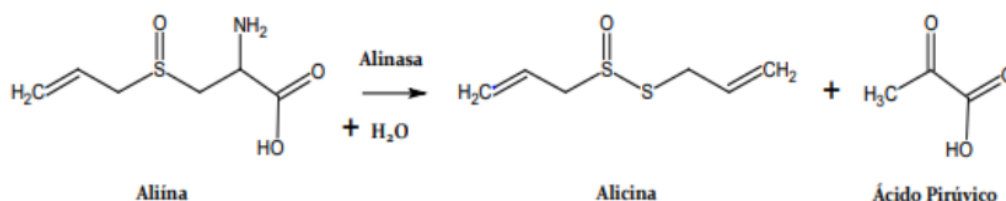
Fuente: (Cordova 2019)

Componentes bioactivos: aliina y alicina

Aliina o S-aliicisteina sulfoxido es un compuesto azufrado más abundante en el ajo fresco, se encuentra en las vacuolas celulares, de 7 a 14 miligramos por peso fresco de ajo, la aliina es transformado en alicina por acción de la enzima allinasa cuando el ajo fresco es triturado (Guillamon 2020).

Cuando se tritura los dientes de ajo, la alicina (5-2- propenil éster del ácido 2- propenol-1-sulfinotiotico) es liberada e interactúa con la enzima aliinasa de las vacuolas adyacentes del ajo. La alicina es una sustancia de color amarillento, que aparece únicamente cuando el ajo es cortado o machacado, se libera de las células si la integridad de la estructura está siendo comprometida. Esta sustancia es un mecanismo de defensa de la planta contra insectos, hongos y bacterias propias del medio. Se conoce que la alicina posee actividad antimicrobiana, porque puede modificar la biosíntesis del ARN de los microorganismos y logra bajar el perfil de lípidos de los mismos (Ojeda y Beltran 2018).

Figura 1 Reacción química de la formación de Alicina



Fuente: (Cordova 2019)

La alicina se considera el principal tiosulfato responsable de las propiedades del ajo crudo. Es altamente antiproliferativo frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, incluidas bacterias y hongos resistentes a los antibióticos (Leóntiev, y otros 2018).

La reacción con los grupos tiol (-SH) presentes en proteínas de membrana o en enzimas implicadas en los mecanismos fisiológicos de los microorganismos patógenos se

considera el principal mecanismo que les confiere las propiedades antibióticas, antifúngicas y antimicrobianas a la alicina (Ankri y Mirelman 1999).

Por el contrario, es una molécula muy inestable y se ha demostrado que pierde sus propiedades antibióticas si se expone a temperaturas superiores a 80°C durante varios minutos, así como su estabilidad química (Leóntiev, y otros 2018). Se ha estudiado el tiempo de vida promedio de la alicina a temperatura ambiente en 1mM de ácido cítrico a pH 3 es de 10 días, en agua 4 días, en diclorometano 30 horas, en metanol o cloroformo 48 horas, en etanol o acetonitrilo 24 horas, en éter 3 horas, en hexano 2 horas y en ausencia de solventes 16 horas (Cordova 2019).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Ubicación

El estudio se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, dentro de los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), donde se mantuvieron las unidades experimentales y se procesaron las muestras de agua para realizar los estudios pertinentes.

Figura 2 Área de estudio en Machala coordenadas -3,2914037 y -79,9137593



Fuente: *Google Earth*

4.2 Materiales y equipos a utilizar

4.2.1 Materiales

- Cajas Petri plásticas
- Micropipeta
- Mechero
- Asa de Drigalski
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación de 2Ly 1L

- Recipientes plásticos
- Aireadores

4.2.2 Sustancias

- CHROMagar Vibrio
- Cloruro de sodio
- Alcohol potable
- Agua destilada

4.2.3 Equipos

- Cámara de flujo
- Estufa
- Incubadora
- Balanza
- Termómetro
- pHmetro
- Salinometro

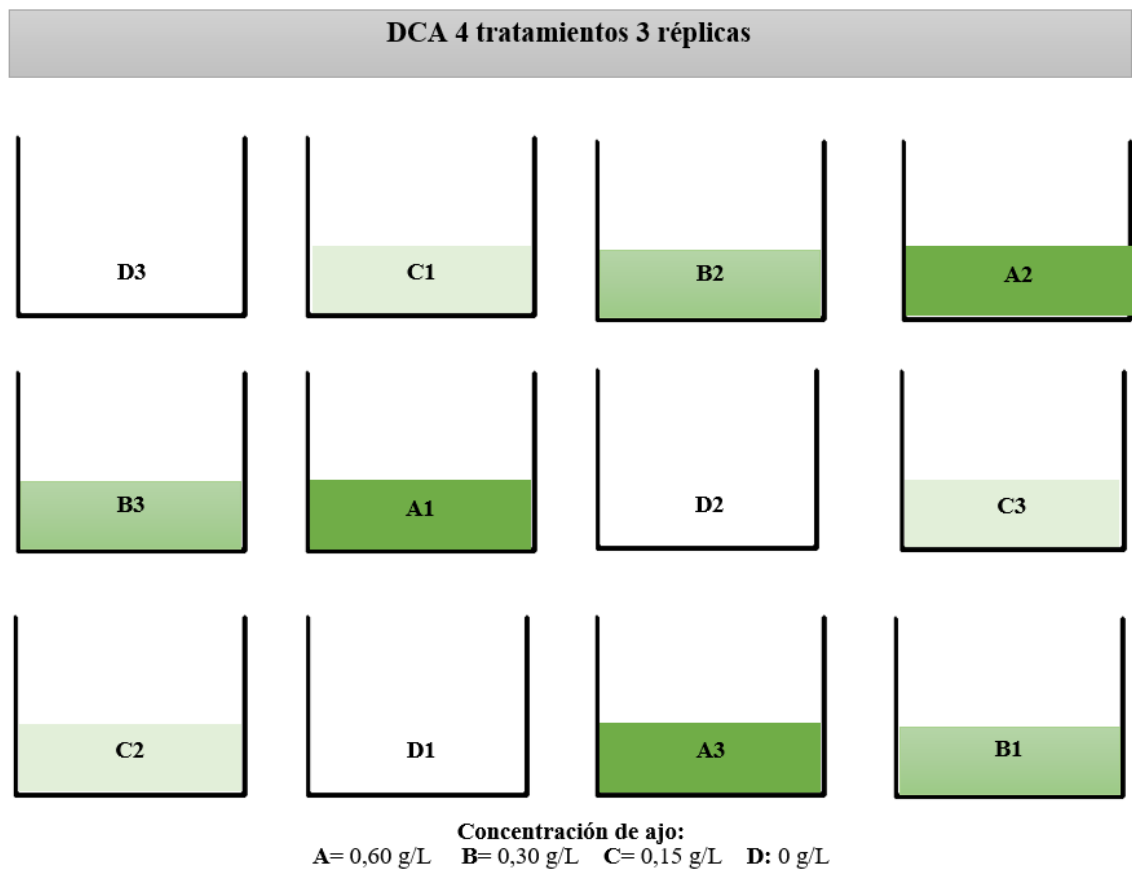
4.3 Diseño experimental

Se aplicó un DCA (Diseño Completamente al Azar), el modelo contó con 4 tratamientos con diferentes concentraciones de ajo, y 3 repeticiones por tratamiento. Gráfico 1

Se mantuvo un total de 12 unidades experimentales. Las unidades experimentales constaron de 12 recipientes plásticos con capacidad de 2 litros, los cuales contenían 1 litro de agua de camaronera. Cada UE contó con aireación constante en todas las unidades experimentales.

Los muestreos se realizaron a 4, 8, 12, 24 y 48 horas de exposición del ajo en el agua, para evaluar su efecto bactericida en el tiempo sobre las poblaciones de Vibrios.

Gráfico 1 Croquis DCA



Fuente: Autores

4.4 Caracterización de tratamientos

Se aplicó 4 tratamientos con diferentes concentraciones de ajo 0.60 g/L; 0,30 g/L; 0,15 g/L y 0 g/L (testigo). En cada unidad experimental, se monitorearon los parámetros físico-químicos del agua de pH, temperatura.

4.5 Manejo del ensayo

4.5.1 Obtención del extracto del ajo

Para obtener el extracto de ajo, se adquirieron los ajos frescos con cascara del mercado 25 de junio, fueron llevados al laboratorio, una vez lavados y desinfectados, con la ayuda de una balanza digital se pesaron las concentraciones de ajo necesarias para cada tratamiento, luego se machacaron para posteriormente licuar con 100 ml de agua de cada

unidad experimental según la concentración, una vez diluido se procedió colocar en las unidades experimentales que correspondían y se homogenizó. Se colocó el extracto del ajo en las UE una sola vez y se evaluó su efecto con el transcurso de las horas.

4.5.2 Obtención de agua para unidades experimentales

El agua para las unidades experimentales se obtuvo de la Granja Camaronera Zhu, (Figura2) sector Nuevo Pilo de la ciudad de Machala, se tomó el agua de la piscina con 40 días de cultivo, para la obtención del agua se utilizó un palo con una botella amarrada a un extremo con una piola en la tapa para tomar la muestra de aproximadamente 30-40 cm de profundidad. Se tomó un total de 15 litros para las diferentes unidades experimentales.

Figura 3 Granja Camaronera Zhu, Coordenadas -3,2662151 -79,975705



Fuente: *Google Earth*

4.5.3 Transporte del agua

Se utilizó un balde limpio de 20 litros para el transporte del agua desde la camaronera hasta el laboratorio de la Universidad donde se realizarían la experimentación. El balde fue transportado en un SUV Santa Fe, el tiempo de recorrido desde la camaronera hasta el sitio de estudio fue de 15 minutos.

4.5.4 Desinfección del área de estudio

Luego de haber traído el agua para la obtención de análisis, se procedió a la desinfección con alcohol potable de mesones, cámara de flujo laminar, balanza y estufa. Todo esto con la finalidad de prevenir cualquier contaminación.

4.5.5 Preparación de medio de cultivo

Como medio de cultivo se utilizó Chromagar Vibrio, que permite reconocer los Vibrios que se encuentra en el agua por especies. Ya que cuenta con una mayor precisión para *Vibrio Alginolyticus*, *Vibrio Parahemolyticus*, *Vibrio cholera/Vibrio Vulnificus* (Jeong-Min, Rini y Keun-Sung 2020); por medio de tinciones de color se pueden diferenciar las especies.

En la preparación del medio de cultivo se siguió las indicaciones del fabricante del producto, se procedió a pesar 134.5 gr para disolver con 1800 ml de agua destilada en un vaso precipitado para un total de 120 cajas Petri, luego se llevó a la microondas para llevarlo a ebullición, se realizan pausas para homogenizar constantemente la mezcla.

4.5.6 Plaqueo en caja petri

Luego de preparado el medio de cultivo se dejó enfriar 45-50° C, una vez alcanzada la temperatura deseada se procede a verter en cada caja Petri 15 ml del medio de cultivo, se deja reposar de 20 a 30 minutos para que las placas que contiene agar se solidifiquen, luego se procede a tapar y a almacenar en fundas estériles para su utilización en cada momento de muestreo del experimento.

4.5.7 Desinfección UV

Antes de realizar el plaqueo y siembras en placa se debe desinfectar la cámara de flujo laminar con alcohol potable por toda la zona de trabajo y se debe encender la luz UV para desinfección por 20 minutos mínimo.

4.5.8 Siembra en placa

Se realizaron diluciones a la -1 y -2 para asegurar que las cepas sean contables en cada placa, con una jeringa de 1 ml se tomó 100 microlitros de agua de los tubos de ensayo

con las diluciones de cada unidad experimental y se procedió a inocular en las cajas Petri, con la ayuda de un asa de Drigalsky se esparció toda la muestra por las cajas Petri con medio de cultivo preparado, una vez que el medio de cultivo absorbe toda la muestra de agua, se tapa y se deja boca abajo.

Luego se procede a rotular las cajas y a sellar por los bordes con un plástico, para el almacenamiento se colocan boca abajo en fundas plásticas estériles y se las dejó en la incubadora por 24 horas a una temperatura de 28°C. Luego pasado el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de unidades formadoras de colonias de cada caja Petri y a registrar los valores obtenidos en las tablas de control.

4.6 Metodología para recolección de datos

4.6.1 Análisis microbiológico

Para el análisis microbiológico se realizaron diluciones seriadas 10⁻¹ y 10⁻² para cada muestreo, para así asegurar el conteo de unidades formadoras de colonias en cada placa, se realizaron siembras microbiológicas del agua de las unidades experimentales a 4, 8, 12, 24 y 48 horas. Luego de transcurrido la incubación por 24 horas a una temperatura de 28°C en la incubadora del laboratorio, se procede a realizar el conteo de unidades formadoras de colonias de cada caja Petri y a registrar los valores obtenidos en las tablas de control. Se evidenció el crecimiento de colonias de la especie *V. Parahaemolyticus* con un color (malva o morado), *V. Vulnificus* (azul turquesa) y *V. Alginolyticus* (crema).

4.6.2 Análisis estadístico

Los datos recolectados durante el experimento fueron analizados mediante ANOVA de un factor intergrupos, con previo cumplimiento con los supuestos de pruebas paramétricas, para poder ser analizados por el programa estadístico SPSS versión 22 para Windows, para posteriormente realizar un análisis entre los tratamientos mediante la prueba Post hoc de Duncan, así mismo para hallar una correlación entre la carga de Vibrios y el pH se realizó una prueba de correlación de Pearson.

5. RESULTADOS

Efecto del extracto del ajo en poblaciones de Vibrios en los momentos de evaluación.

Los resultados del conteo de ufc/ml se muestran en las Tabla 3, en donde se muestra el conteo de Vibrios en cada tratamiento en todos los momentos de muestreo, se puede observar que en el muestreo de la 4 hora existe una disminución en la cantidad de Vibrios en todos los tratamientos con referencia al testigo. En el momento de muestreo de 8 horas de exposición del ajo en el agua, solo el tratamiento de 0,60g/L presenta una disminución en la cantidad de Vibrios con respecto al testigo. En el momento de muestreo de 12 horas de exposición del ajo en el agua, el tratamiento con la concentración 0,60 g/L mantiene un efecto bactericida frente a los Vibrios totales del agua. Pasado las 12 horas de exposición, el ajo ya no tiene efecto bactericida en los Vibrios.

Tabla 3 Cantidad de Vibrios en las diferentes concentraciones de ajo y momentos de muestreo

TRATAMIENTO	4H	8H	12H	24H	48H
Ajo 0,60 g/L	400	600	1300	329000	402000
Ajo 0,60 g/L	100	1300	2500	126000	380000
Ajo 0,60 g/L	400	1400	1300	280000	460000
Promedio	300	1100	1700	245000	414000
Ajo 0,30 g/L	1200	11000	100000	167000	276000
Ajo 0,30 g/L	1500	9000	33000	4000	181000
Ajo 0,30 g/L	3400	10000	93000	30000	524000
Promedio	2033	10000	75333	67000	327000
Ajo 0,15 g/L	1500	6700	20000	20300	4000
Ajo 0,15 g/L	2600	1700	27000	10300	2000
Ajo 0,15 g/L	2800	9700	40000	2100	7000
Promedio	2300	6033	29000	10900	4333
Ajo 0 g/L	4600	2500	1500	3200	100
Ajo 0 g/L	2100	900	7600	500	600
Ajo 0 g/L	3800	4400	9200	400	200
Promedio	3500	2600	6100	1367	300

Para demostrar el efecto del ajo en las poblaciones de Vibrios en los diferentes momentos de muestreo se realizó la prueba ANOVA unifactorial, con un nivel de la significancia del 0,05%, la cual arrojó que existen diferencias altamente significativas entre tratamientos en los momentos de muestreo de 4, 8, 12, 24 y 48 horas (Tabla 4).

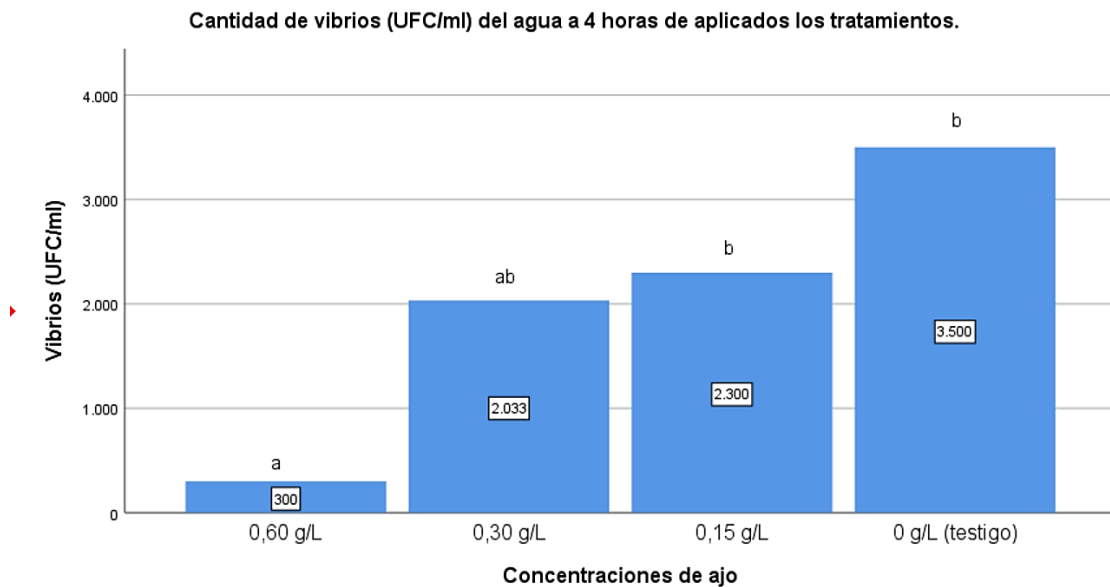
Tabla 4 Prueba paramétrica ANOVA unifactorial intergrupos en cada momento de muestreo.

ANOVA						
Cantidad de vibrios (UFC/ml)						
Momento del muestreo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
4 horas	Entre grupos	15680000,00	3	5226666,667	5,851	,020
	Dentro de grupos	7146666,667	8	893333,333		
	Total	22826666,67	11			
8 horas	Entre grupos	141060000,0	3	47020000,00	9,133	,006
	Dentro de grupos	41186666,67	8	5148333,333		
	Total	182246666,7	11			
12 horas	Entre grupos	1,024E+10	3	3412740000	9,247	,006
	Dentro de grupos	2952646667	8	369080833,3		
	Total	1,319E+10	11			
24 horas	Entre grupos	1,150E+11	3	3,835E+10	7,999	,009
	Dentro de grupos	3,835E+10	8	4793900833		
	Total	1,534E+11	11			
48 horas	Entre grupos	4,181E+11	3	1,394E+11	16,852	,001
	Dentro de grupos	6,615E+10	8	8269350833		
	Total	4,842E+11	11			

A continuación, se muestra los gráficos de barras de la cantidad de Vibrios por cada momento de muestreo.

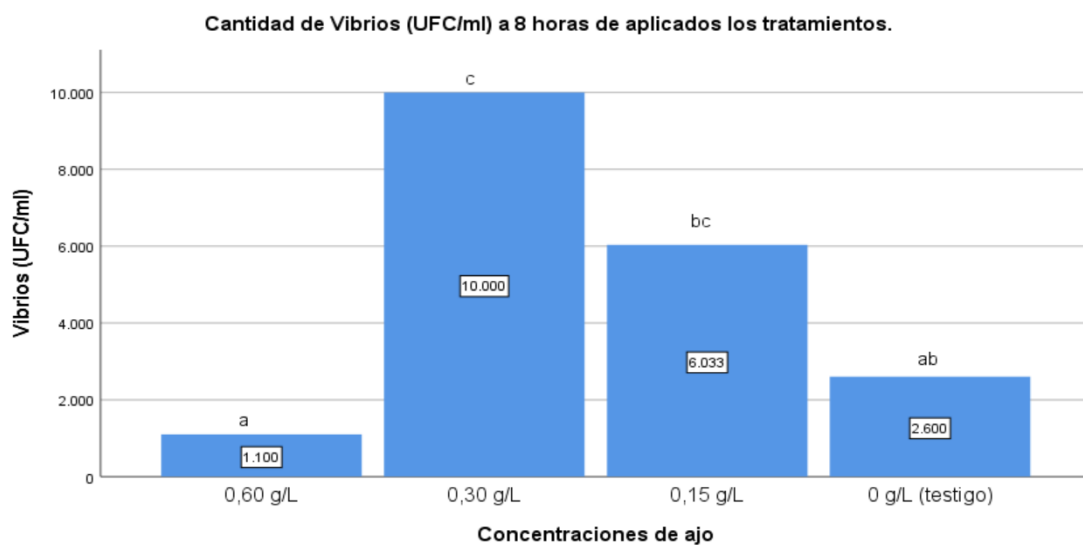
A 4 horas de aplicado el ajo se evidencian disminución en la cantidad de Vibrios en los tres tratamientos con ajo. Lo que evidencia el efecto bactericida del ajo en los Vibrios del agua de cultivo.

Gráfico 2 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 4 horas de aplicados los tratamientos.



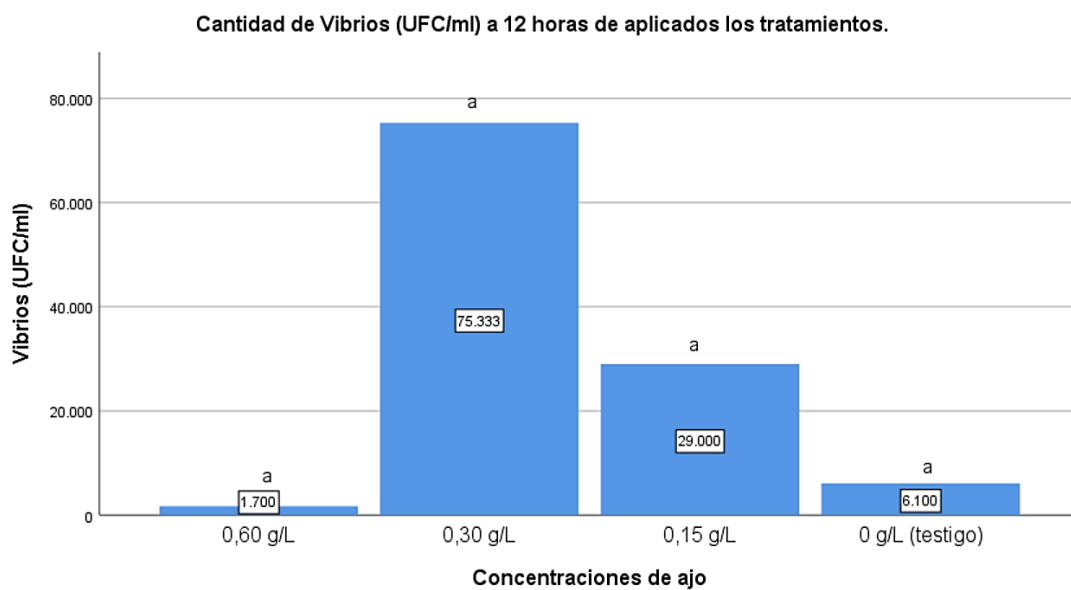
A 8 horas de aplicado el ajo hay diferencias significativas entre tratamientos, podemos notar que el tratamiento con 0,60 g/L de ajo es diferente al tratamiento, siendo la cantidad de Vibrios menor en el tratamiento de 0,60 g/L que en el tratamiento control lo que sugiere que el ajo aún tiene un efecto bactericida sobre los Vibrios del agua, a diferencia de los tratamientos con las concentraciones de 0,30 g/L y 0,15 g/L donde ya no tiene un efecto bactericida sobre los Vibrios del agua.

Gráfico 3 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 8 horas de aplicados los tratamientos.



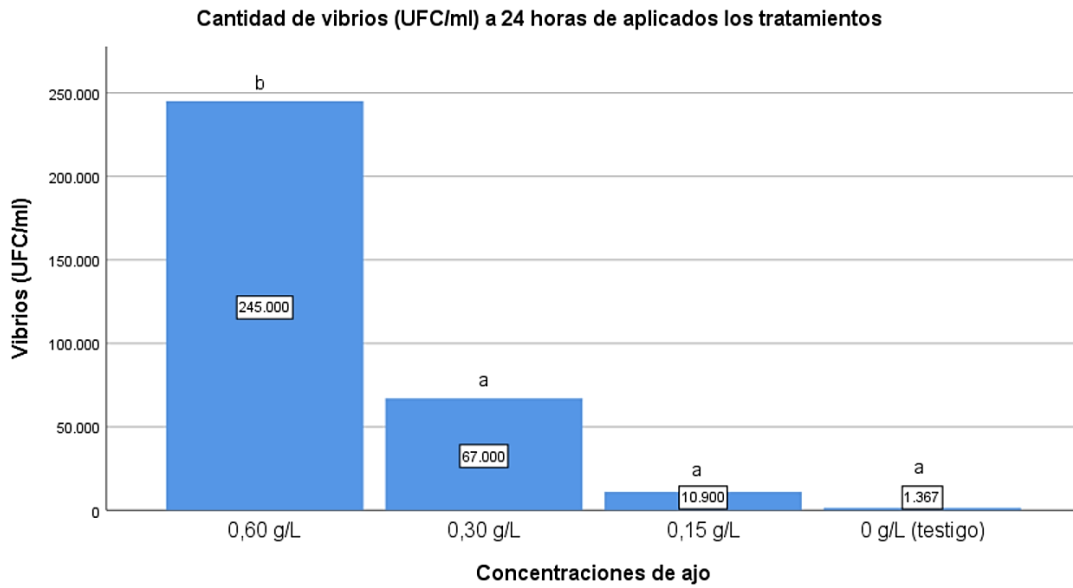
El gráfico 4 muestra que a 12 horas de aplicados los tratamientos, no existe diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, pero por medio del gráfico podemos notar que el tratamiento 0,60 g/L tiene una menor cantidad de Vibrios que el testigo lo que sugiere que el tratamiento tiene efecto bactericida efectivo contra los Vibrios a diferencia del resto de tratamientos con menor concentración de ajo que no controló la propagación de los Vibrios en el agua.

Gráfico 4 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 12 horas de aplicados los tratamientos.



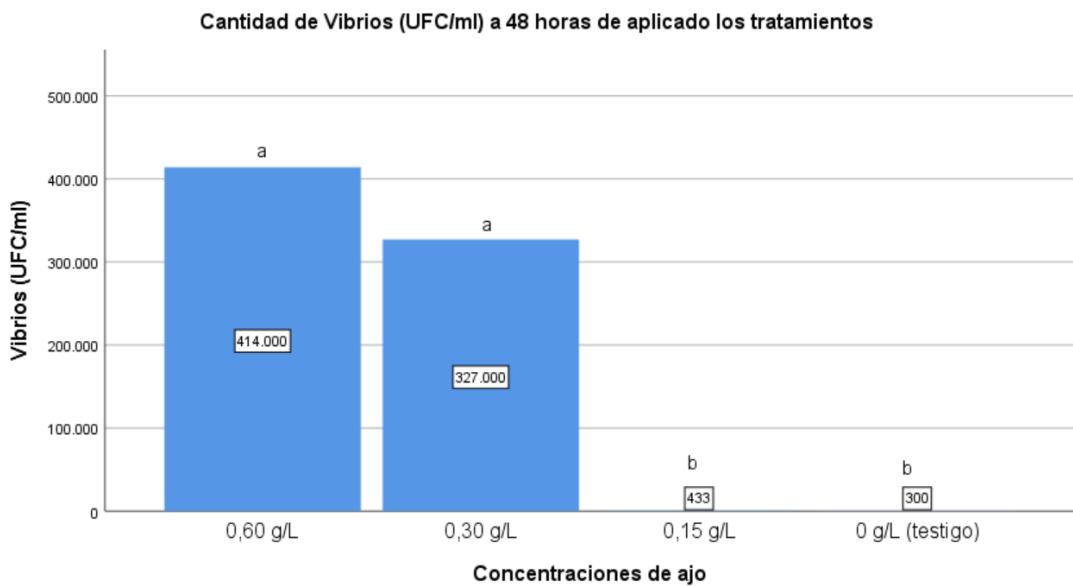
A 24 horas de aplicados los tratamientos, existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, diferenciándose el tratamiento con 0,60 g/L del resto de tratamientos. Se puede evidenciar que el ajo a 24 horas ya no tiene efecto bactericida en las poblaciones de Vibrios del agua (Gráfico 5).

Gráfico 5 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 24 horas de aplicados los tratamientos.



A 48 horas de aplicado el ajo, existen diferencias significativas entre tratamientos las letras a y b denotan las diferencias estadísticas encontradas. En el grafico se puede evidenciar que el ajo 48 horas después de aplicado al agua no tiene un efecto bactericida en los Vibrios del agua (Gráfico 6).

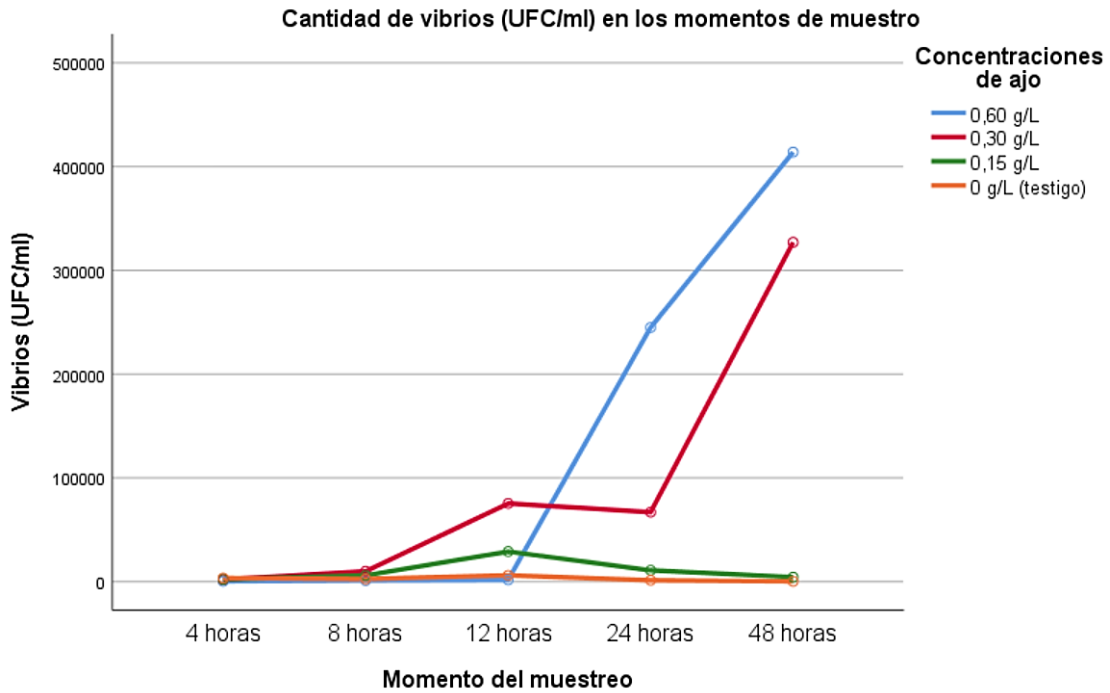
Gráfico 6 Efecto de las concentraciones de ajo en la cantidad de Vibrios del agua a 48 horas de aplicados los tratamientos.



Concentración más eficiente en el control de Vibrios.

Para evaluar la concentración del extracto de ajo en los Vibrios más eficiente se realizó un gráfico donde se muestra el comportamiento de los Vibrios en cada tratamiento en los momentos de muestreo.

Gráfico 7 Cantidad de vibrios en los momentos de muestreo



En el gráfico 7 se comparan los 4 tratamientos para evaluar cuál es la concentración de ajo que puede controlar las poblaciones de Vibrios en cada momento de muestreo, donde podemos observar que el tratamiento de 0,60 g/L de ajo logra controlar las poblaciones de Vibrios hasta las 12 horas de aplicación. Además también podemos observar que las concentraciones de 0,30 g/L y 0,15 g/L de ajo tuvieron un efecto bactericida contra Vibrios solamente hasta 4 horas de aplicación de los tratamientos en el agua.

Influencia del ajo en el pH

Para analizar si existe una influencia de aplicación del ajo en el pH del agua, se realizó la prueba ANOVA unifactorial con un nivel de significancia del 5%, la tabla 3 demuestra que existen diferencias estadísticas significativas en los momentos de muestreo de 24 horas y 48 horas.

Tabla 5 Prueba paramétrica ANOVA unifactorial intergrupos

ANOVA						
pH del agua						
Momento del muestreo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
4 horas	Entre grupos	,041	3	,014	1,199	,370
	Dentro de grupos	,092	8	,011		
	Total	,133	11			
8 horas	Entre grupos	,137	3	,046	,877	,492
	Dentro de grupos	,416	8	,052		
	Total	,553	11			
12 horas	Entre grupos	,006	3	,002	,853	,503
	Dentro de grupos	,018	8	,002		
	Total	,023	11			
24 horas	Entre grupos	,016	3	,005	3,086	,050
	Dentro de grupos	,014	8	,002		
	Total	,030	11			
48 horas	Entre grupos	,023	3	,008	16,957	,001
	Dentro de grupos	,004	8	,000		
	Total	,026	11			

Los gráficos 8, 9, 10, 11, 12 de muestran los valores de pH del agua en cada momento de muestreo, a pesar de haber diferencias estadísticas significativas en los momentos de muestreo 24 y 48 horas, no son numéricamente diferentes considerables como para aludir una influencia de las concentraciones de ajo utilizadas sobre el pH del agua.

Gráfico 8 Valores de pH del agua a 4 horas de aplicación de los tratamientos.

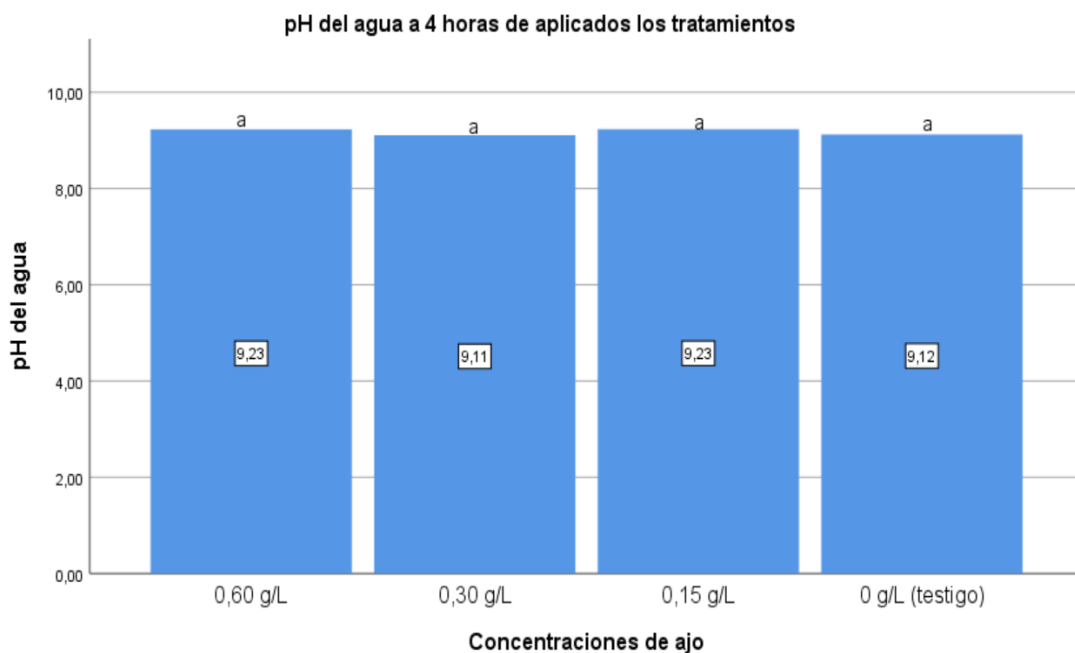


Gráfico 9 Valores de pH del agua a 8 horas de aplicación de los tratamientos.

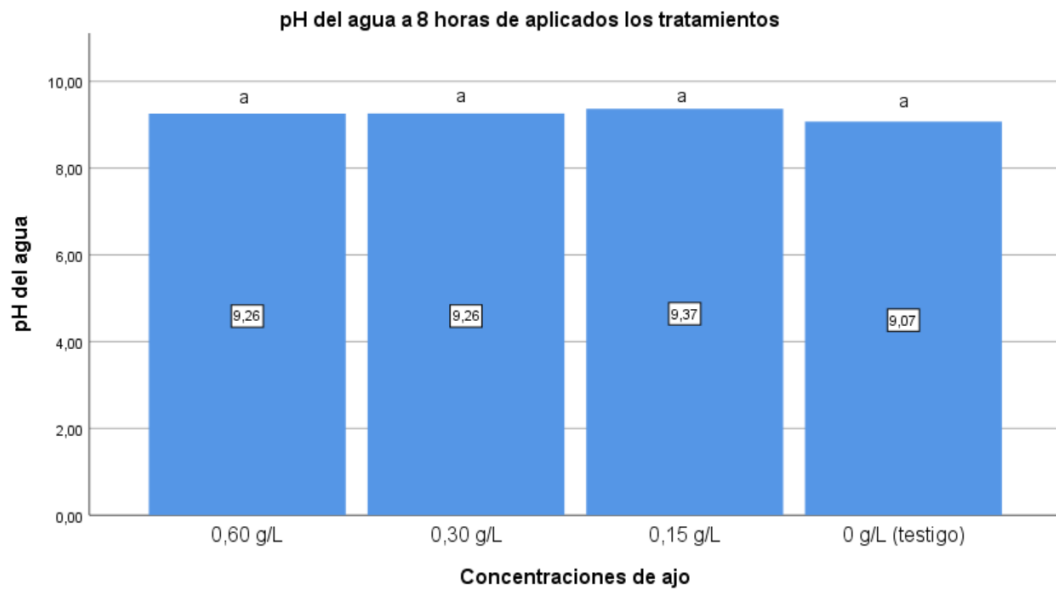


Gráfico 10 Valores de pH del agua a 12 horas de aplicación de los tratamientos.

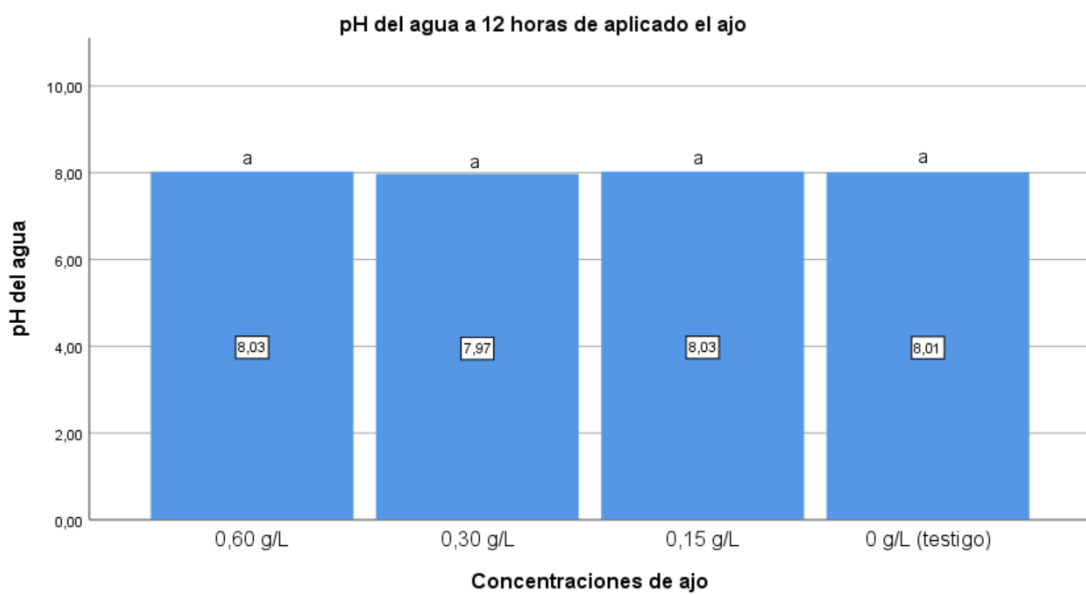


Gráfico 11 Valores de pH del agua a 24 horas de aplicación de los tratamientos.

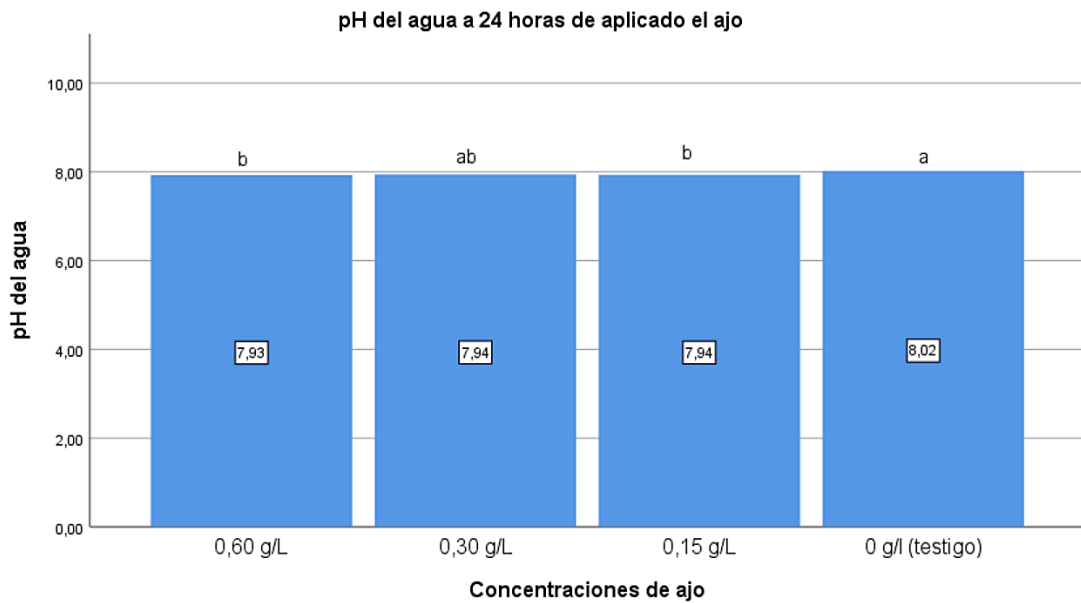
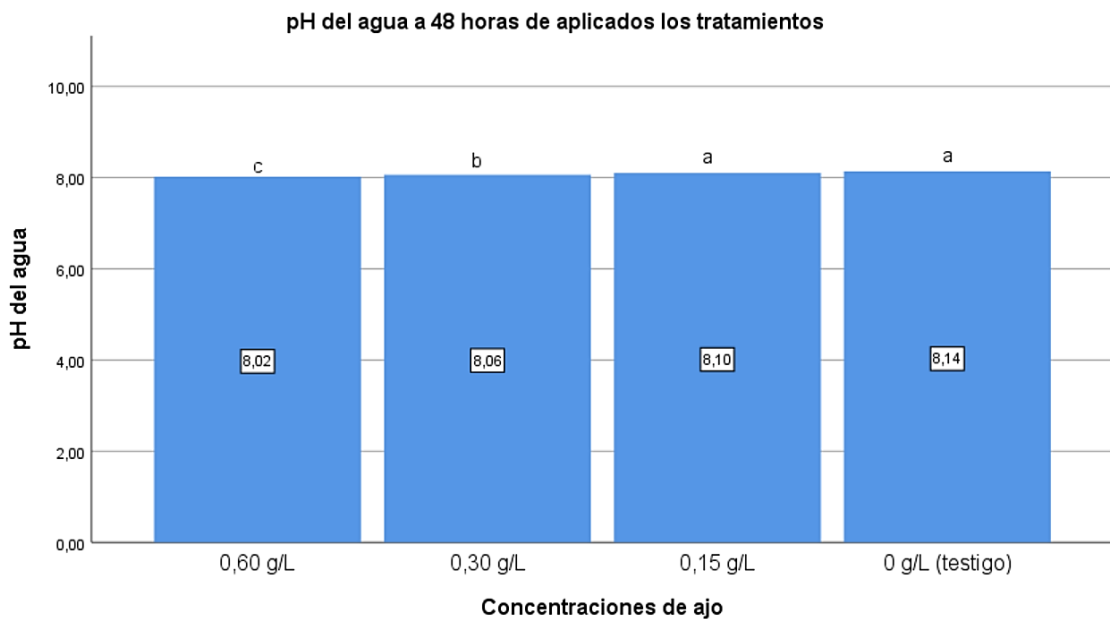
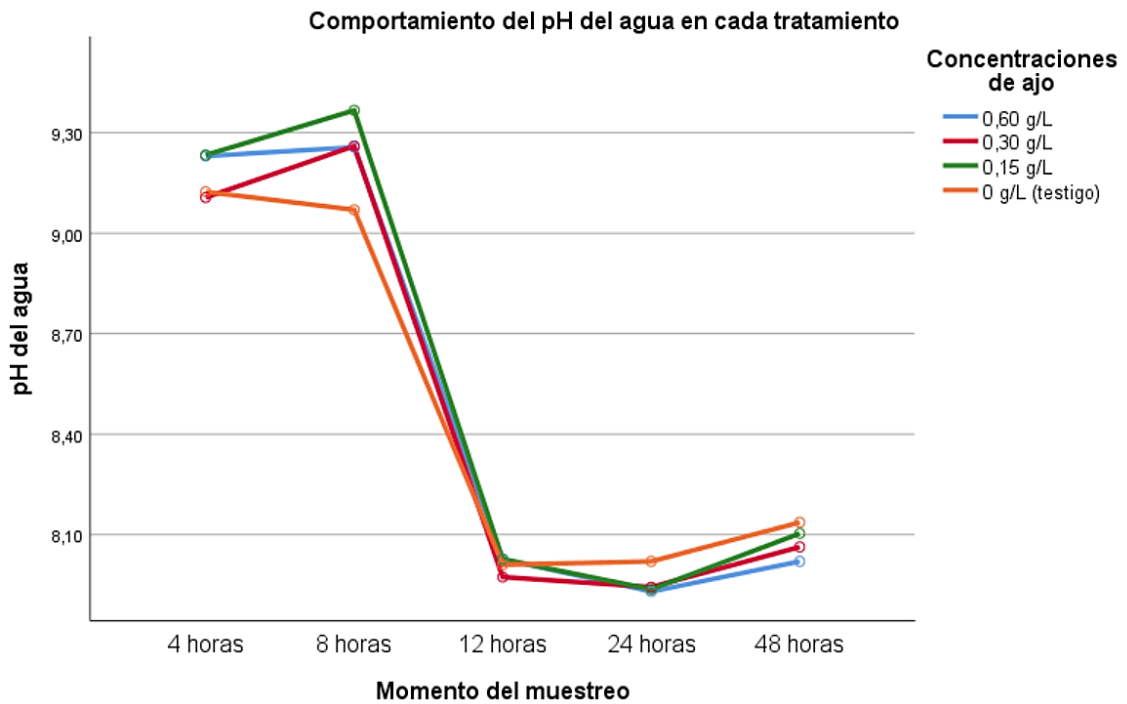


Gráfico 12 Valores de pH del agua a 48 horas de aplicación de los tratamientos.



Desde un enfoque general, el grafico 13 muestra el comportamiento del pH en los tratamientos en la línea de tiempo de muestreo durante toda la experimentación, donde se presenta una misma dinámica de variabilidad del pH en el tiempo en todos los tratamientos, más no una variabilidad en función de las concentraciones de ajo aplicadas, por lo que no se le atribuye al ajo la dinámica de pH del agua conforme avanzan las horas.

Gráfico 13 pH del agua en los momentos de muestreo

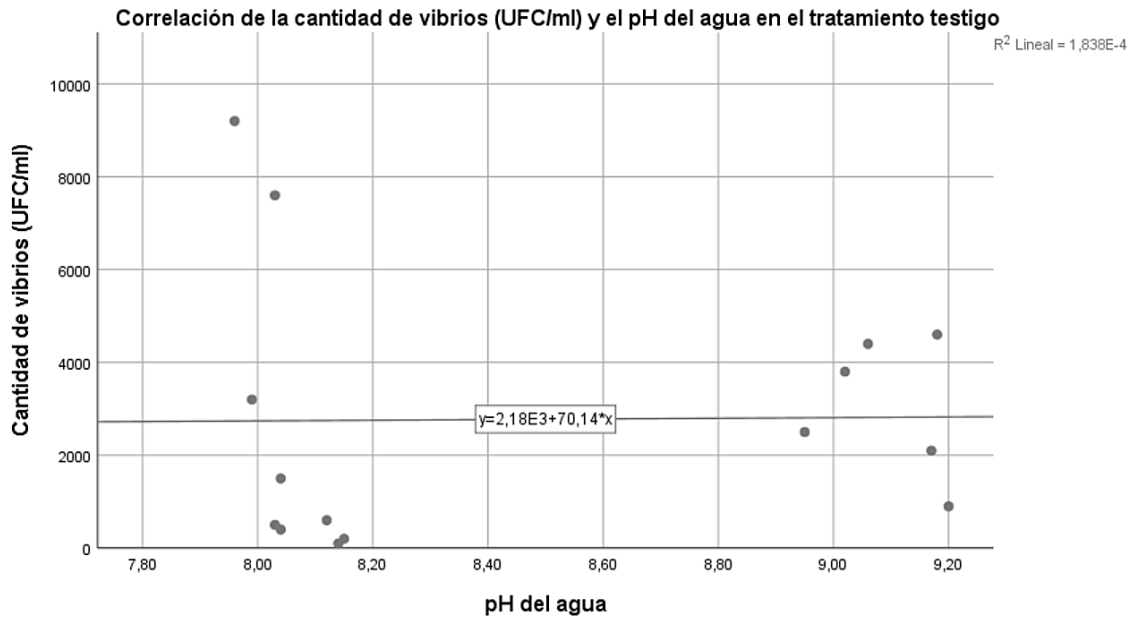


Relación del pH en las concentraciones de Vibrios.

Para determinar la relación del pH en las concentraciones de Vibrios, se utilizó prueba de correlación y gráfico de dispersión.

El gráfico 14 muestra dispersión de los Vibrios en diferentes valores de pH del agua en el tratamiento testigo, este gráfico nos da una real influencia del pH sobre los Vibrios ya que no interviene el ajo en la variable de Vibrios. El coeficiente de determinación nos dice que no existe una correlación entre los rangos de pH de agua obtenidos durante el experimento y la concentración de Vibrios, sino que existe un crecimiento normal generalizado en el rango de pH de 8 - 9,2.

Gráfico 14 Relación del pH con la cantidad de Vibrios del agua en la concentración de 0 g/L de ajo.



6. DISCUSION

En los últimos años se ha visto afectado el sector camaronero por microorganismos en los cultivos, que ha llevado a grandes pérdidas, es por ello que, con el fin de frenar este daño, se ha utilizado antibióticos farmacéuticos de manera alarmante ocasionando gran resistencia bacteriana, es ahí, donde nace la idea de administrar productos naturales que eviten tanto daño, que contengan efecto antibacteriano como lo es el ajo, además de ser un producto económico y de fácil alcance. Para conseguir una desaceleren en el crecimiento de Vibrios, ya que, se considera clásicamente como la causa de pérdidas graves asociadas con su invasión al cultivo (Novriadi 2016).

Es por ello que en esta investigación se ha logrado determinar el efecto bactericida que presenta el ajo y la duración del mismo. Así como, la influencia del ajo sobre el pH y su relación con la concentración de vibrios.

El ajo (*Allium sativum*) posee una parte liposoluble llamada aleina y otra hidrosoluble llamada alicina, lo que ejerce efecto antimicrobiano contra bacterias Gram negativas y Gram positivas (Petropoulos, y otros 2018). Es así que en esta investigación se ha logrado confirmar el efecto bactericida en un tiempo de hasta 12 horas posterior a su inoculación.

En la presente investigación, el muestreo a 4 horas de exposición de las concentraciones de ajo aplicadas de 0,60, 0,30, 0,15 g/L muestran las poblaciones bacterianas presentes de 300, 2033 y 2300 ufc/ml respectivamente en comparación con 3500 ufc/ml del tratamiento testigo evidenciando el efecto bactericida del ajo en los Vibrios, a 8 horas. La concentración 0,60 g/L continua con el efecto bactericida, obteniendo 1100 ufc/ml frente a 2600 ufc/ml del testigo; a 12 horas la concentración de 0,60 g/L continúa presentando efecto reductor en la carga bacteriana, obteniendo 1700 ufc/ml frente a 6100 ufc/ml del testigo. Pero a partir de las 24 horas el ajo pierde el efecto bactericida sobre los Vibrios. (Ankri y Mirelman 1999) explica que el efecto bactericida, del ajo se debe principalmente a la acción de la alicina sobre los grupos tioles presentes en las proteínas de las membranas y en las enzimas que intervienen en los procesos fisiológicos de los microorganismos. Además, sobre el tiempo de estabilidad de la Alicina, (Cordova 2019) menciona que la media promedio en agua 4 días, en etanol o acetonitrilo 24 horas, en éter 3 horas, en hexano 2 horas y en ausencia de solventes 16 horas.

En su investigación (Rodríguez 2019) menciona que al introducir ajo se logra la resistencia a la presencia de Vibrios, al igual que de varias hierbas medicinales con efecto bactericida contra patógenos del camarón, logrando así un cultivo exitoso. Además (Gomez, y otros 2019) comprueba el efecto entre varias especies medicinales, dando un mejor crecimiento de camarón. (Ramírez, Castro y Martínez 2019) menciona que la parte llamada Aliina, cumple con su función de bactericida, dependiendo de la dosis y el tiempo posterior a su aplicación; además que el componente biológico principal activo del ajo es la alicina.

Sin embargo, se plantea que el aumento de la carga de Vibrios en cada uno de los tratamientos después de terminado el efecto bactericida del ajo se debe al patrón de crecimiento de las mismas bacterias, ya que no existe una mitigación completa de los Vibrios, posiblemente los remanentes del extracto de ajo representa un aporte de macronutrientes que implica una fuente de nutrientes para su proliferación ya que según la teoría de ecología microbiana nos indica que las células prolongan un ambiente rico en nutrientes, (Schryver y Vadstein 2019) menciona que en un ambiente rico en nutrientes por célula, de poca competencia y con variaciones frecuentes va a ser dominado por bacterias con gran capacidad para aprovechar nutrientes e incrementar el tamaño de la población, conocidos como r-estrategas oportunistas de veloz crecimiento como lo son los Vibrios. También (Chandrakala y Priya 2017) menciona que otros factores importantes que determinan la proliferación de Vibrios que invade al cultivo de camarón, son los factores ambientales ya que desencadenan multiplicación de bacterias superando niveles los niveles tolerados o por penetración bacteriana de las barreras del huésped.

En este estudio no se encontró una correlación marcada entre el pH y el crecimiento de los Vibrios en el agua, ya que los valores de pH durante el experimento estuvieron dentro de los rangos descritos como óptimos para el crecimiento de bacterias del género Vibrio como menciona (Iglesias, y otros 2020) que un rango de tolerancia de los Vibrios al pH de 5 a 10, presentando un mayor crecimiento en un pH de 7 a 8 y presentando sensibilidad a pH ácido, según la investigación si se evidencia un mayor crecimiento con pH inicial de 9, y en los ensayos donde se cultivó a pH iniciales de 2, 3 y 5 no se evidencia crecimiento de Vibrios.

Esta investigación demostró que las concentraciones de ajo utilizadas en el experimento no tuvieron una influencia significativa en el pH del agua y que las variaciones de pH a

través de los momentos de muestreo presentaron una misma dinámica en todos los tratamientos lo cual denota que no existe una influencia de las concentraciones de ajo aplicadas en el pH del agua. Lo que resulta beneficioso porque que no genera cambios físico-químicos del agua, ya que como menciona (Boyd 2001) el pH puede afectar directamente el metabolismo y otros procesos fisiológicos de los animales acuáticos, además puede generar estrés, así aumentando la susceptibilidad de los organismos acuáticos a enfermedades.

Además, (Wayne 2019), en su estudio menciona que el pH en un cultivo de camarón varía diariamente, debido principalmente al dióxido de carbono que emiten los camarones, que, al entrar en contacto con el agua, se acidifica, es así que durante el día el pH aumenta debido al fitoplancton y demás plantas acuáticas que eliminan CO₂ en el transcurso de la fotosíntesis y en la noche disminuye por la respiración y generación de CO₂ por demás organismos. Lo que determina que las fluctuaciones y cambios presentes en el pH debido a procesos naturales propios de los organismos acuáticos.

Por lo tanto, es de suma importancia encontrar una estrategia que logre el control de bacterias oportunistas en el cultivo de camarón que además eviten la resistencia bacteriana como lo es uso de extractos naturales. Es por ello que mediante una gestión rigurosa del agua y tratamientos profilácticos se puede evitar la proliferación de *Vibrios* en el agua de cultivo además de reducir estrés en los camarones.

7. CONCLUSIONES

- Los análisis microbiológicos demostraron que el ajo si tiene efecto bactericida sobre los Vibrios, en todas las concentraciones de ajo aplicadas (0,60 g/L, 0,30 g/L y 0,15 g/L) a 4 horas de exposición del ajo al agua hubo reducción de la concentración de Vibrios con respecto al testigo. A 8 y 12 horas de exposición del ajo en el agua, solo el tratamiento con 0,60 g/L continúa controlando las poblaciones de Vibrios a 24 y 48 horas, que los componentes activos del ajo pierden su efecto controlando el crecimiento de los Vibrios.
- La concentración de 0,60 g/L de ajo tiene mayor eficacia en el control de la carga de Vibrios, logrando reducir la población de Vibrios en un 91% con referencia al tratamiento control en las primeras 4 horas y su mecanismo de acción contra bacterias Vibrios se expande hasta 12 horas.
- Las concentraciones de ajo utilizadas no influyen en el pH del agua.
- Finalmente, la aplicabilidad del ajo como bactericida en los cultivos frente a los Vibrios está limitada por su corto tiempo de acción frente a las bacterias, es así que se abre la puerta para más estudios sobre el análisis de la interacción del extracto del ajo con camarones u otros organismos de cultivo.

8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más estudios con concentraciones de ajo mayores a las aplicadas en este experimento.
- Promover más investigaciones sobre la incidencia de otros parámetros físicos químicos del agua en la acción del ajo sobre los Vibrios.

9. REFERENCIAS

- Aguirre, L, H Sanchez-Suarez, y A Ordinola-Zapata. «Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*.» *Scielo*, 2021: 1-15.
- Ankri, S, y D Mirelman. «Propiedades antimicrobianas de la alicina del ajo.» *Microbes and Infection*, 1999: 125-129.
- Aranguren, L, N Colgado, B Noble, y A Dhar. «Acute hepatopancreatic necrosis disease (VP AHPND), a chronic disease in shrimp *Penaeus vannamei* population raised in latin America.» *Journal of Invertebrate Pathology*, 2020: 174.
- Bautista, J, J Zamorano, V Aguilar, E Hernandez, y A Montejano. «Influencia lunar sobre la presencia de *Vibrio* spp. en hepatopáncreas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en dos estanques y dos ciclos de cultivo de una granja de Pimientillo Nayarit, México.» *Acta Pesquera*, 2022: 35-43.
- Boyd, Claude. «Consideraciones sobre la calidad de agua y suelo en cultivos de camaron.» En *Metodos para mejorar la camaronicultura en centroamerica*, 24-25. Managua: Editorial-Imprenta UCA, 2001.
- Cao, J, J Zang, L Ma, L Li, W Zhang, y L Jinnian. «Identification of fish source *Vibrio alginolyticus* and evaluation of its bacterial ghosts vaccine immune effects.» *MicrobiologyOpen*, 2018: 1 -11.
- Cartin, A, y A Pascual. «Enfermedades de Transmisión Alimentaria en Costa Rica.» *UNED Research Journal*, 2021: 2015-2020.
- Chandrakala, N, y S Priya. «Vibriosis in Shrimp Aquaculture A.» *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology IJSRSET*, 2017: 27 - 33.

- Chun, Y, S Motohiko, D Shiheki, L Montira, y M Tamrin. «Postbiotics Applications as Infectious Disease Control Agent in Aquaculture.» *Biocontrol Science*, 2020: 1-7.
- Coba, Gabriela. *El sector camaronero toma más crédito y aumenta sus inversiones*. 2021. <https://www.primicias.ec/noticias/economia/camaron-credito-inversion-exportaciones-ecuador/#:~:text=El%20volumen%20de%20cr%C3%A9dito%20destinado,el%20primer%20trimestre%20de%202022>.
- Cordova, Maria. «Extracción y purificación de alicina a partir de ajo.» 2019.
- Espinel, Carla Fernández. «La vida oscura de *Vibrio Alginolyticus*.» *Revista Digital Universitaria*, 2005.
- Espinós, Francisco J. «La Acuicultura como activo económico y social.» *Mediterráneo Económico*, 2018: 289 -307.
- FAO. «El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. Versión resumida.» *FAO*, 2020: 1 -28.
- . *FAO - Noticias*. 23 de Septiembre de 2021. <https://www.fao.org/news/story/es/item/1440699/icode/>.
- Genio, J, R Traifalgar, y V Corre. «Dietary administration of crude lipopolysaccharide from *Vibrio harveyi* enhanced resistance of tiger shrimp.» *Aquac. Aquar. Conserv. Legis*, 2014: 342-350.
- Gomez, C, Y Carbai, L Sorroza, y L Rivera. «Sinergia de combinaciones de extractos vegetales para el control de vibriosis en sistema productivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*).» *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2019: 91-98.
- Gonzalez, R, M Vidal, y I Pimienta. «Uso intensivo de antibioticos profilacticos en la acuicultura: un problema creciente para la salud humana.» *Revista Universidad y Sociedad*, 2021: 204-210.

- Guillamon, Enrique. «Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria.» *Ars Pharmaceutica*, 2020: 185-196.
- Gutierrez, A, y otros. «Characterization in vitro of new bacterial strains showing potentially probiotic effect against vibriosis in relevant fish species for marine aquaculture.» *Journal Of Applied Animal Research*, 2020.
- Heinz-Lothar, M, y otros. «“The Baltic Sea Germ”: A Case Report of Necrotizing Fasciitis following *Vibrio vulnificus* Infection.» *Case Reports in Orthopedics*, 2022: 1 - 4.
- Hernandez, C, J Ulloa, J Vergara, R Espejo, y F Cabello. «Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile.» *Department of Microbiology and Microbiology*, 2020.
- Huanambal, Cecilia. «Residuos de antibióticos y resistencia antimicrobiana en acuicultura: antecedentes desde la literatura y percepción de los médicos veterinarios en el Perú.» Lima, 2020.
- Iglesias, M, L Garcia, G Ortiz, C Alvarez, G Luigioyo, y R Nuñez. «Influencia del pH y la concentración de NaCl en el crecimiento y emisión de luz de dos cepas de *Vibrio harveyi*.» *Biotechnologia Aplicada*, 2020: 4211-4217.
- Jayasree, I, P Janakiram, y R Madhavi. «Characterization of *Vibrio* spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India).» *Journal of the World Aquaculture Society*, 2006: 523 - 532.
- Jeong-Min, Lee, A Rini, y K Keun-Sung. «Evaluación comparativa de tres métodos basados en medios de agar para la identificación presuntiva de cepas de *Vibrio parahaemolyticus* originadas en mariscos.» *Food Control*, 2020: 456-756.
- Leóntiev, R, N Hohaus, J Jacob, M Gruhlke, y A Slusarenko. «Comparison of the Antibacterial and Antifungal Activities of Thiosulfinate Analogues of Allicin.» *Scientific Report*, 2018: 1-19.

- Loayza, C, J Pastor, V Salcedo, y J Sotomayor. «Efecto covid-19 en las determinantes de las exportaciones del sector camaronero del Ecuador, año 2020.» *Revista ECA Sinergia.*, 2022.
- Mardomi, Reyhaneh. «Determining the Chemical Compositions of Garlic Plant and its Existing Active Element.» *Environmental Science*, 2017: 63-66.
- Marrero, J, G Espinoza, y Y Borrel. «Efecto del lipopolisacárido sobre el número de hemocitos y la producción de óxido nítrico en el camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*).» *Revista de investigaciones marinas*, 2002: 221- 227.
- Millanao, A, C Barrientos, C Siegel, A Tomova, y L Ivanova. «Resistencia a los antimicrobianos en Chile y el paradigma de Una Salud: manejando los riesgos para la salud pública humana y animal resultante del uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y en medicina.» *Revista chilena de infectología* 35 (2018): 299-308.
- Moreno, Adriana. «La Vida Oscura De *Vibrio Alginolyticus*.» *Revista Digital Universitaria*, 2005: 1 - 7.
- Newman, Stephen G. «Una actualización sobre la vibriosis, la principal enfermedad bacteriana que enfrentan los camaroneros.» *probiotics aquaculture*, 2022: 1 - 8.
- Novriadi, Romi. «Vibriosis in aquaculture.» *Omni Akuatika*, 2016: 39-47.
- Núñez, O, J Paredes, J Artieda, y M Muñoz. «Aprovechamiento del extracto crudo de ajo (*Allium sativum*) como alternativa en la prevención de saprolegniosis en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).» *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 2022.
- Ojeda, Margarita, y Raul Beltran. «Efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* frente a *Staphylococcus aureus*.» *Scientia*, 2018: 152-160.

- Ovando, M, E Velasquez, F Penagos, y F Velasquez. «La Necrosis Hepatopancreatitis Aguda que afecta al cultivo de camarones peneidos en México.» *Revista Espacio I+D Innovación más Desarrollo*, 2012: 136 - 148.
- Perez-Chabela, M, Y Alvarez-Cisneros, J Soriano-Santos, y J Pérez. «Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión.» *Hidrobiología*, 2020: 93-105.
- Petropoulos, S, A Fernandes, G Ntatsi, K Petrotos, y L Barros. «Nutritional Value, Chemical Characterization and Bulb Morphology of Greek Garlic Landraces.» *Molecules* 23, 2018: 319.
- Ramírez, H, L Castro, y E Martínez. «Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*).» *Salud y administración*, 2019: 39 - 47.
- Rezny, B, y D Evans. «*Vibrio Parahaemolyticus* Actividad de Educación Continua.» *National Institutes of Health*, 2022: 120-126.
- Rodriguez, Maria Gabriela. «Selección y evaluación de concentraciones de extractos naturales con potencial actividad antibacterial, antioxidante e inmunoestimulante sobre el camaron *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*.» Universidad Tecnica de Machala, Machala, 2019.
- Salwany, M, y otros. «Vibriosis in Fish: A Review on Disease Development and Prevention.» *Journal of Aquatic Animal Health*, 2019: 3 - 22.
- Sanchez, Job. «Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso del fruto de *Allium cepa* (cebolla) Y *Allium sativum* (ajo) en *Staphylococcus*.» 2018.
- Schryver, P, y Y Vadstein. «Ecological theory as a foundation to control pathogenic invasion in aquaculture.» 2019: 2360–2368.
- Serna-Ardila, M, M Londoño, C Arias, y Luis Londoño-Franco. «Efecto de sustancias farmacológicas y homeopáticas sobre *Trichodina* sp en larvas de tilapia roja *Oreochromis* sp en cultivo.» *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 2022: 3-13.

- Silva, Lucio Galaviz. «Vibrio parahaemolyticus strains causing acute hepatopancreatic necrosis disease in farming shrimp of Sonora, Mexico and their antibiotic resistance.» *Hidrobiologica*, 2021: 111 - 123.
- Tarazona, U, J Leon, N Galindo, M Vallejo, y E Marguet. «Caracterización de actinomicetos de sedimento marino y su actividad antagonista frente al vibrio sp. aislados de langostina blanco.» *AQUACULTURA*, 2018: 26-29.
- Tenecola, R, J Mite, y S Alcivar. «Enfermedades, tratamientos y recomendaciones en el cultivo de camarón.» *Espirales*, 2018: 94-107.
- Trujillo, L, y otros. «Estrategias Naturales para Mejorar el Crecimiento y la Salud en los Cultivos Masivas de Camarón en Ecuador.» *Bionatura*, 2017: 318-325.
- Ullsco, E, J Garzon, J Quezada, y S Barrezueta. «Análisis del comportamiento económico de la exportación en el sector camaronero en el Ecuador, periodo 2015- 2019.» *REMCA*, 2021: 113 - 119.
- Vaildez, F, R Leal, P Alvarez, C Gamez, y J Soto. «Capacidad protectora de un sistema acuícola con recirculamiento (sar) para penaeus vannamei contra vibrio parahaemolyticus causante de ahpnd protective capacity of a recirculated aquaculture system (sar) for penaeus vannamei against ahpnd-causing vibrio p.» (Acta Pesquera) 2021: 38-50.
- Varela, Alexander. *Diagnostic techniques for bacterial diseases in shrimp farming. Uses, scopes and limitations.* Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru, 2020.
- Varela-Mejias, Alexander, y Ramses Alfaro-Mora. «Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura.» *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 2018: 1-14.
- Vikash, K, R Surva, B Kumar, P Bossier, y K Bansata. «Necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) Virulencia, patogénesis y estrategias de mitigación en la acuicultura del camarón Panorama Acuícola Magazine.» *Molecular diversity preservation international*, 2021: 106-118.

- Wayne. *¿Qué importancia tiene el pH en la cría de camarones?* 27 de Junio de 2019.
<https://www.molinoschampion.com/ph-cria-de-camarones/>.
- Xiao, Hua Zhang. *Vibrio harveyi: a serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture*. Marine Life Science & Technology, 2020.
- Zapata, E, D Giraldo, y A Baez. «Kinetic modeling of the enzymatic hydrolysis of proteins of visceras from red tilapia (*Oreochromis* sp.): Effect of substrate and enzyme concentration.» *Departamento de Alimentos Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 2018: 17-25.
- Zúñiga, R, y J Caro. «*Vibrio vulnificus* una bacteria al acecho en las playas.» *Revista de Enfermedades Infecciosas*, 2014: 532-534.

10. ANEXOS



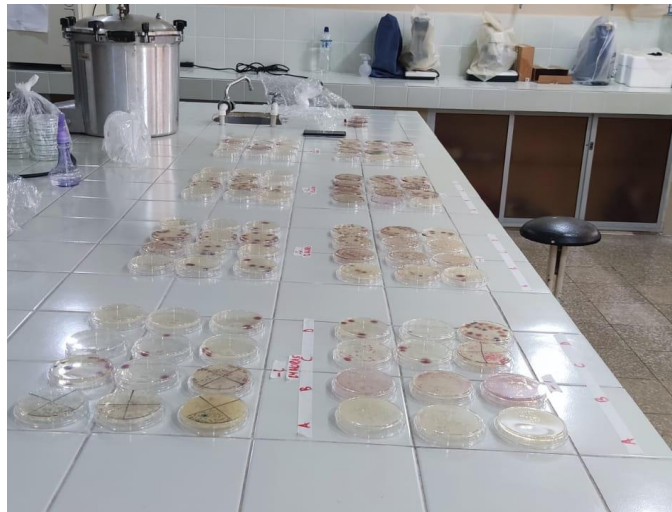
Anexo 1. Toma de 1 ml de agua para hacer diluciones



Anexo 2. Siembra en placa



Anexo 3. Conteo de colonias



Anexo 4. Placas sembradas de los diferentes muestreos