



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Control de *Vibrio* sp. en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei*
aplicando un consorcio bacteriano comercial.**

**ESPINOSA CACAO DIANA PAULA
INGENIERA ACUICOLA**

**MOTOCHE ACARO JENNIFFER LISSETH
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Control de *Vibrio* sp. en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* aplicando un consorcio bacteriano comercial.

**ESPINOSA CACAO DIANA PAULA
INGENIERA ACUICOLA**

**MOTOCHE ACARO JENNIFFER LISSETH
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2024**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**Control de Vibrio sp. en el cultivo de camarón Litopenaeus
vannamei aplicando un consorcio bacteriano comercial.**

**ESPINOSA CACAO DIANA PAULA
INGENIERA ACUICOLA**

**MOTOCHÉ ACARO JENNIFFER LISSETH
INGENIERA ACUICOLA**

SANTACRUZ REYES ROBERTO ADRIAN

**MACHALA
2024**

draft_Motoche-Espinoza

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.upse.edu.ec Fuente de Internet	1%
2	fdocuments.mx Fuente de Internet	<1%
3	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
4	issuu.com Fuente de Internet	<1%
5	repositorio.uaaan.mx Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.ucsg.edu.ec Fuente de Internet	<1%
7	www.agr.umss.edu.bo Fuente de Internet	<1%
8	Manuel Alejandro Espinoza Ortega. "Efecto de la frecuencia de alimentación en la respuesta alimenticia del Camarón Blanco del Pacífico"	<1%

(Litopenaeus Vannamei)", Universitat Politecnica de Valencia, 2024

Publicación

9	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
10	doczz.es Fuente de Internet	<1 %
11	repositorio.espam.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
12	docplayer.es Fuente de Internet	<1 %
13	repositorio.ucss.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	Ángel I. Campa-Córdova, Gabriel Aguirre Guzman, Gabriel Aguirre-Guzmán, Yuniel Méndez-Martínez et al. "Respuesta inmunoquímica y expresión génica en juveniles de camarón blanco (Litopenaeus vannamei) expuestos a microorganismos aislados del sedimento marino", Veterinaria México OA, 2024 Publicación	<1 %
15	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
16	www.dspace.espol.edu.ec Fuente de Internet	<1 %

17	Almudena Palacios Ibáñez. "Mixed Realities and Product Perception: Experimental Analysis of the Relationship Between Visual Quality and Interaction, and the User's Emotional and Perceptual Response", Universitat Politecnica de Valencia, 2023 Publicación	<1 %
18	cibnor.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	<1 %
19	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1 %
20	Ferran Llario Sempere. "IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA PRODUCCIÓN DE LANGOSTINOS MARINOS EN SISTEMAS DE BIOFLÓCULOS Y SIN RENOVACIÓN DE AGUA", Universitat Politecnica de Valencia, 2018 Publicación	<1 %
21	repositorio.unia.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
22	www.cienciasinaloa.ipn.mx Fuente de Internet	<1 %
23	www.dominiodelasciencias.com Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 15 words

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

Las que suscriben, ESPINOSA CACAO DIANA PAULA y MOTOCHÉ ACARO JENNIFFER LISSETH, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Control de Vibrio sp. en el cultivo de camarón Litopenaeus vannamei aplicando un consorcio bacteriano comercial., 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.

Las autoras 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.

Las autoras 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.



ESPINOSA CACAO DIANA PAULA

0707037859



MOTOCHÉ ACARO JENNIFFER LISSETH

0705927028

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primero a Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza en mi vida. A mi amada madre, Carmen Enid Acaro, a mi padre, Jorge Estalin Motoche y a mi querida abuelita, Elvia Felicidad Merizalde, por su amor incondicional y apoyo, que han sido mi sostén en cada paso del camino. A mi familia, que ha estado siempre a mi lado, y a mis amigos cercanos, cuyo apoyo incondicional y risas fueron invaluableles en este proceso. Y todos aquellos que creyeron en mí, incluso en los momentos en que yo misma dudaba.

Que este logro sea una prueba de que, con fe, amor y perseverancia, todo es posible.

Jenniffer Lisseth Motoche Acaro.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por guiarme y darme fuerza para alcanzar esta meta. Mi más profundo y eterno agradecimientos a mi madre, Carmen Enid Acaro, mi roca y luz, cuya fe inquebrantable en mí han sido el motor que me ha impulsado a través de cada desafío. A mi padre, Jorge Estalin Motoche, gracias por tu apoyo constante, y por enseñarme el valor del trabajo duro. Padres, cada logro mío es un testimonio de su esfuerzo y amor incondicional.

Un agradecimiento especial y lleno de amor a mi abuelita, Elvia Felicidad Merizalde, tu dedicación incansable durante toda mi vida escolar, y especialmente durante mi carrera universitaria, ha sido el cimiento sobre el que he construido mis sueños. Tu apoyo, tu sacrificio y amor han sido la luz que ha guiado cada paso de mi camino para convertirme en profesional. Este logro es tanto tuyo como mío. Extiendo mi gratitud a todos mis familiares y amigos cercanos, quienes con su apoyo moral y palabras de aliento me motivaron a seguir adelante, especialmente a mis tías y a mis primas paternas, cuya presencia y ánimo constante han sido cruciales en este logro.

Quiero expresar mi más sincera gratitud a mi tutor principal, el Dr. Roberto Santacruz Reyes, su guía y paciencia fueron fundamentales en este proceso, no solo enriqueció este trabajo, sino que también me inspiró a dar lo mejor de mí en cada etapa. A mis especialistas, Dra. Lita Sorroza Ochoa y el Dr. Colón Velásquez López, quienes con su experiencia y conocimientos iluminaron mi camino durante el proceso de la tesis. Su apoyo constante y valiosos aportes fueron cruciales para elevar la calidad de esta investigación y mi desarrollo como profesional.

Finalmente, agradezco a todos los profesores de la carrera de Acuicultura, cuyas enseñanzas y dedicación han sido base de mi formación profesional. A mis compañeros de universidad más cercanos, quienes de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo, mi más sincero agradecimiento.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo primeramente a Dios, por permitir culminar con mi carrera, por bendecirme cada uno de mis días, con mi familia, amigos, profesores y estudios, porque aprendo todos los días a mejorar como persona (espiritual) y profesional. A mis padres, quienes me han enseñado el valor del esfuerzo, la perseverancia y el amor incondicional. Gracias por su apoyo inquebrantable en cada paso de mi vida, por creer en mí cuando dudé, y por ser la fuente de mi fortaleza. A mis amigos y familiares, por estar a mi lado en los momentos de alegría y en los desafíos, por sus palabras de aliento y por recordarme que siempre hay luz al final del túnel. Finalmente, dedico este trabajo a todas aquellas personas que, de una manera u otra, me han apoyado en esta etapa de mi vida. Este logro también es suyo.

Diana Paula Espinosa Cacao

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, de una manera u otra, hicieron posible la realización de esta tesis.

En primer lugar, agradezco profundamente a Dios y a mis padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser mi mayor fuente de inspiración. Su confianza en mí ha sido el motor que me impulsó a superar cada obstáculo.

A mis profesores, especialmente a mis tutores de la tesis, por su valiosa orientación, paciencia y sabiduría. Sus consejos y conocimientos han sido fundamentales para la culminación de este trabajo.

A mis amigos del curso, por su amistad y por haber compartido conmigo este viaje académico. Sus ideas, diversiones y discusiones hicieron que este logro se lleve a cabo.

Quiero también agradecer a la Universidad Técnica de Machala, GyG y Corpoplast, por brindarme los recursos y el apoyo necesarios para llevar a cabo mi investigación.

Finalmente, a todos aquellos que de alguna manera han contribuido a mi formación académica y personal, mi más sincero agradecimiento. Este logro es reflejo del apoyo y confianza que he recibido de todos ustedes.

RESUMEN

En el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*), la administración de consorcios bacterianos es poco común y muy importante para mantener un ambiente acuático saludable y equilibrado. Estos consorcios están compuestos por diferentes tipos de bacterias beneficiosas como *Bacillus sp.* y *Lactobacillus sp.*, que mejoran la calidad del agua, descomponen materia orgánica y compiten con patógenos potenciales. Se deberían usar porque estas bacterias controlan enfermedades, mejoran el crecimiento y disminuyen la necesidad de antibióticos, lo que resulta en una producción sostenible.

Este estudio evalúa la eficacia de un consorcio bacteriano como estrategia de control para disminuir la influencia de *Vibrio sp.* en el cultivo de camarón (*L. vannamei*). Se emplearon postlarvas en estadio PL25, sometidas cuatro tratamientos con y sin consorcio bacteriano (CC-7; CC-14; CC-21; SC) con tres repeticiones durante períodos de 7, 14 y 21 días, seguidos de un desafío por *Vibrios sp.* de 96 horas en cada período. El cultivo se realizó en 12 unidades experimentales de 40 L con 30 postlarvas en cada unidad. Se analizaron la supervivencia, los días de administración del consorcio para inhibir los *Vibrios*, y el peso de los organismos cultivados.

Los resultados muestran que los tratamientos con consorcio bacteriano (CC) alcanzaron tasas de supervivencia superiores al 90 % en todos los casos, siendo el tratamiento 3 de 21 días (CC-21 y SC-21) el más efectivo con una supervivencia del 94,43% tras el desafío con *Vibrios sp.* y se observaron relaciones positivas entre el aumento de peso y la supervivencia de la postlarvas. El trabajo demuestra que el uso de consorcios bacterianos puede ser una alternativa eficaz a los antibióticos en la producción del camarón, mejorando la supervivencia y el crecimiento de *L. vannamei*, especialmente frente a la exposición a patógenos como los *Vibrios sp.* Los hallazgos sugieren que la aplicación prolongada del consorcio bacteriano ofrece la mejor protección, aunque incluso períodos cortos de administración en volúmenes bajos de agua de 30 L con una baja densidad de 1 Postlarva/L muestran efectos positivos. La investigación contribuye al desarrollo de estrategias sostenibles para el control de enfermedades en la camaronicultura, con potenciales implicaciones para la mejora de la producción y la reducción del impacto ambiental en la industria.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, consorcio bacteriano, peso, supervivencia, desafío, períodos, acuicultura.

ABSTRACT

In shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture, the administration of bacterial consortia is uncommon and very important to maintain a healthy and balanced aquatic environment. These consortia are composed of different types of beneficial bacteria such as *Bacillus sp.* and *Lactobacillus sp.* that improve water quality, break down organic matter and compete with potential pathogens. They should be used because these bacteria control diseases, improve growth and decrease the need for antibiotics, resulting in sustainable production.

This study evaluates the efficacy of a bacterial consortium as a control strategy to decrease the influence of *Vibrio sp.* in shrimp (*L. vannamei*) culture. Postlarvae at PL25 stage were used, subjected to four treatments with and without bacterial consortium (CC-7; CC-14; CC-21; SC) with three replicates for periods of 7, 14 and 21 days, followed by a *Vibrio sp.* challenge of 96 hours in each period. The culture was carried out in 12 experimental units of 40 L with 30 postlarvae in each unit. Survival, days of consortium administration to inhibit *Vibrios*, and weight of cultured organisms were analyzed.

The results show that the bacterial consortium (CC) treatments achieved survival rates above 90% in all cases, with treatment 3 of 21 days (CC-21 and SC-21) being the most effective with a survival of 94.43% after challenge with *Vibrios sp.* and positive relationships were observed between weight gain and postlarvae survival. The work demonstrates that the use of bacterial consortia can be an effective alternative to antibiotics in shrimp production, improving survival and growth of *L. vannamei*, especially against exposure to pathogens such as *Vibrios sp.* The findings suggest that prolonged application of the bacterial consortium offers the best protection, although even short periods of administration in low water volumes of 30 L at a low density of 1 postlarvae/L show positive effects. The research contributes to the development of sustainable strategies for disease control in shrimp farming, with potential implications for improved production and reduced environmental impact in the industry.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, bacterial consortium, weight, survival, challenge, periods, aquaculture.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento del Problema.....	3
1.2 Justificación.....	4
1.3 Objetivos	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivos Específicos.....	5
1.4 Marco Teórico	6
1.4.1 Camarón Blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
1.4.2 Taxonomía.....	6
1.4.3 Morfología.....	6
1.4.4 Hábitat	7
1.4.5 Sistema Inmunológico del Camarón.....	8
1.5 Vibrios en Cultivo de Camarón	8
1.5.1 Definición de los <i>Vibrios</i>	8
1.5.2 Tipos de <i>Vibrios</i>	9
1.5.3 Colonización de <i>Vibrios</i>	9
1.5.4 Enfermedades Causadas por el Patógeno.....	9
1.5.5 Distribución del Patógeno en un Estanque de Producción	10
1.5.6 Cepas de <i>Vibrios</i> Resistentes a Antibióticos	10
1.5.7 Vibriosis en Larvicultura	11
1.6 Suplementos en el Cultivo de Camarón	11
1.6.1 Bacterias Probióticas.....	11
1.6.2 Metabolitos Producidos por las Bacterias Probióticas.....	12
1.6.3 Características Generales de los Bacteriófagos	12
1.6.4 Beneficios.....	13
1.6.5 Mecanismos de Acción	14
1.6.6 Bacterias Probióticas frente a Vibriosis	14
1.6.7 Mezclas de Cepas Bacterianas	14
1.6.8 Efecto de Mezclas Probióticas	15
1.7 Probiótico Comercial	15
1.7.1 Bacillus	15
1.7.2 <i>Bacillus subtilis</i>	16

1.8.3	<i>Lactobacillus lactis</i>	16
1.8.4	<i>Nitrosomonas sp.</i>	17
1.8.5	<i>Nitrobacter sp.</i>	17
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
2.1	Ubicación	19
2.2	Materiales y Equipos	19
2.2.1.	Materiales	19
2.3	Diseño Experimental	20
2.4	Croquis de la Ubicación del Experimento	21
2.5	Descripción de los Tratamientos	21
2.5.1	Dimensiones de las Unidades Experimentales	22
2.6	Preparación de las Unidades Experimentales	22
2.7	Obtención de los Organismos	22
2.7.1.	Aclimatación de los Organismos	23
2.8	Obtención del Probiótico	23
2.9.	Obtención de la cepa de <i>Vibrio sp.</i>	23
2.10.	Preparación de Agares	23
2.10.1	Preparación de Caldo de Soja	23
2.11	Preparación del Agar TCBS	24
2.12	Preparación de Agar Bacto Peptona	24
2.13	Preparación de Agar Nutriente	25
2.14	Masificación de <i>Vibrio sp.</i>	25
2.14.1	Análisis de Carga Bacteriana	26
2.15	Activación del Probiótico Comercial	26
2.16	Preparación de Alimento con Probiótico	28
2.17	Manejo de las Unidades Experimentales	29
2.17.1	Alimentación	29
2.17.2	Recambio de Agua	29
2.18	Peso y Conteo de las Postlarvas	30
III.	RESULTADOS	31
3.1	Supervivencia de PL de <i>L. vannamei</i> en Razón del Tiempo de Administración de un Consorcio Bacteriano, Previo al Desafío por <i>Vibrios.</i>	31
3.1.1	Supervivencia de PL en 7 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-7-NC)	31
3.1.2	Supervivencia de PL en 14 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-14-NC)	31

3.1.3 Supervivencia de PL en 21 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-21-NC)	32
3.2 Supervivencia de PL de <i>L. vannamei</i> en Razón del Tiempo de Administración de un Consorcio Bacteriano tras el Desafío por <i>Vibrios</i>.	36
3.2.1 Supervivencia de PL en 7 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-7-C).....	36
3.2.2 Supervivencia de PL en 14 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-14-C).....	37
3.2.3 Supervivencia de PL en 21 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-21-C).....	37
IV. DISCUSIONES	44
V. CONCLUSIONES.....	47
VI. RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Taxonomía del camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
2. Metabolitos producidos por bacterias probióticas	12
3. Características de <i>Lactobacillus lactis</i>	16
4. Beneficios de probióticos con <i>Lactobacillus lactis</i>	17
5. Descripción de los tratamientos experimentales donde indican dosis de alimentación, los días de administración del consorcio bacteriano y los días de infección por <i>Vibrios</i>	21
6. Datos de la primera semana de alimentación.....	28
7. Supervivencia de lo tratamiento 1 durante 7 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío	31
8. Supervivencia de lo tratamiento 2 durante 14 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío	31
9. Supervivencia de lo tratamiento 3 durante 21 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío	32
10. Relación del tratamiento con mejor resultado (CC-21-NC) entre los demás tratamientos que indican la diferencia porcentual de la supervivencia de PL de <i>L. vannamei</i>	33
11. Comparación entre tratamientos con consorcio (CC) y sin consorcio (SC), previo al desafío, que revelan la supervivencia y diferencia porcentual de PL de <i>L. vannamei</i>	34
12. Análisis ANOVA de una vía previo a la contaminación por <i>Vibrios</i>	34
13. Supervivencia de postlarvas de <i>L. vannamei</i> bajo tratamiento con un consorcio bacteriano y sin períodos de exposición por <i>Vibrios</i> , según el Análisis de varianza Tukey.....	35
14. Supervivencia de lo tratamiento 1 durante 7 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío.....	37
15. Supervivencia de lo tratamiento 2 durante 14 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío.....	37
16. Supervivencia de lo tratamiento 3 durante 21 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío.....	37
17. Relación del tratamiento con mejor resultado (CC-21-C) entre los demás tratamientos que indican la diferencia porcentual de la supervivencia de PL de <i>L. vannamei</i>	38
18. Comparación entre tratamientos con consorcio (CC) y sin consorcio (SC), previo al desafío, que revelan la supervivencia y diferencia porcentual de PL de <i>L. vannamei</i>	39
19. Análisis ANOVA de una vía tras la contaminación por <i>Vibrios</i>	39
20. Supervivencia de postlarvas de <i>L. vannamei</i> bajo tratamiento con un consorcio bacteriano y después de la exposición por <i>Vibrios</i> , según el Análisis de varianza Tukey.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ubicación del diseño experimental	19
2. Ubicación de los tratamientos experimentales para el cultivo de postlarvas (Litopenaeus vannamei).....	21
3. Dimensiones de la unidades para el ensayo experimental	22
4. Mortalidad de PL de L. vannamei bajo la administración de un consorcio bacteriano y sin contaminación por Vibrios	36
5. Mortalidad de PL de L. vannamei bajo la administración de un consorcio bacteriano y ante la contaminación por Vibrios	41
6. Mortalidad de PL de L. vannamei bajo la administración de un consorcio bacteriano. Comparación de los tratamientos previo y tras la contaminación por Vibrios	42
7. Biomasa promedio de las PL de L. vannamei en los tratamientos experimentales al inicio y final de la investigación	43

I. INTRODUCCIÓN

Debido al aumento que ha existido en estos últimos años, se ha observado que los países con mayor producción camaronera son de Asia y América Latina, por lo que buscan ofrecer al mercado el mejor producto, para así incrementar sus ingresos económicos, abastecer los alimentos a toda la población mundial y generar empleos a los ciudadanos de dichos países, es importante destacar que a través del tiempo el consumo de mariscos ha incrementado por la constante natalidad en dichas regiones.

La actividad acuícola mundial se encuentra en un crecimiento constante y el consumo de los mariscos por la población ha incrementado de forma exponencial, el camarón es el producto más importante globalmente, principalmente en Asia y América Latina, donde la producción genera ingresos económicos, alimento y trabajo a las poblaciones de cada país.

La camaronicultura es una actividad pionera en Ecuador y empezó en el año 1968, en Santa Rosa, El Oro, cuando trabajadores agrícolas observaron que en estanques de la zona se desarrollaba el camarón, lo que dio inicio a la actividad camaronera. En la actualidad, los cultivos de camarón enfrentan desafíos para ser rentables económicamente y amigables ecológicamente, el reto actual es la reducción del uso de antibióticos, debido a la resistencia bacteriana que representan, los problemas medio ambientales y restricciones en las exportaciones por la afectación a la salud de los seres humanos, por lo que los investigadores, nos indica que: una buena estrategia para el buen manejo en las camaroneras, debe ser la implementación de técnicas para mejorar el sistema inmunológico, ya que existirá más posibilidades a las resistencias a patógenos y menor tasa de mortalidad en toda su etapa de vida.

En la actualidad el cultivo de *Litopenaeus vannamei*, es de suma importancia, porque existen grandes extensiones de cultivo, lo que conlleva, a buscar alternativas para una mayor producción (más densidad), dando como resultado problemas en los organismos, tales como: enfermedades, las cuales son producidas por el exceso de excreciones, falta de oxígeno (exceso de animales) y otros problemas comunes que se da cotidianamente por el exceso de población.

El aumento de las densidades de camarones ha provocado la aparición de diferentes enfermedades, producidas por bacterias y virus, entre estas enfermedades encontramos la Vibriosis, Síndrome de Taura, Síndrome de la mancha blanca, IHNV. Las

cuales afectan a los ecosistemas de agua dulce, salada y salobres. Dependerá de las densidades que se va a sembrar en nuestra piscina, ya que en cultivo intensivo y semi-intensivo, la evolución de las enfermedades será más rápida su transmisión (horizontal o vertical).

La enfermedad más común es la Vibriosis, esta enfermedad se desarrolla en ambientes salados y a temperaturas altas y son del grupo gram negativas, la produce el género *Vibrio* (bacterias). En este grupo encontramos diferentes especies, las cuales son *Vibrio sp*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio vulnificus*. El cual afectará no solo a la especie en el cultivo, sino a la inversión económica aplicada al cultivo, ya que habrá altas mortalidades por su transferencia horizontal (infectando a todas las especies).

La enfermedad se la puede controlar a tiempo, si se diagnostica antes de mortalidad, visualizando los síntomas del cultivo, son: nado errático, pérdida de reflejos, nado hacia las orillas y anorexia. Para identificar estos síntomas, se aplicará un producto que ayude a subir su sistema inmunológico, aunque no está asegurado que se tenga el 100% de supervivencia, por eso se debe estudiar antes de sembrar sobre las posibles enfermedades en la piscina, aplicando prebióticos.

Los probióticos son bacterias benéficas que ayudara al aumento del sistema inmunológico del camarón, actuando de forma inmediata en el intestino, permitiendo que cualquier enfermedad que se presente, no se desarrolle o se incremente rápidamente en el camarón causando altas tasas de mortalidades. En el siguiente estudio se aplicará un consorcio bacteriano que nos permitirá observar cuál es la supervivencia final y el tiempo necesario para que funcione.

1.1 Planteamiento del Problema

Los *Vibrios* en la acuicultura son un desafío importante, son un grupo diverso de bacterias presentes en ambientes acuáticos que pueden causar enfermedades resultando en altas tasas de mortalidad. El abuso excesivo de antibióticos como la oxitetraciclina y el floranfenicol para el control de *Vibrio sp.* puede tener un impacto ambiental negativo al contribuir a la resistencia bacteriana y la contaminación del agua, por lo tanto, el reto radica en encontrar estrategias efectivas y sostenibles para reducir la presencia de los *Vibrios* en los cultivos de camarón blanco, que garanticen la salud de los organismos y preservación del medio ambiente.

1.2 Justificación

El cultivo de camarón en Ecuador es económicamente importante para la comunidad por la gran cantidad de empleo que genera. La aparición de enfermedades por bacterias del género *Vibrio* ha sido parte de un desafío para las granjas camaroneras, pues es un patógeno que generalmente se manifiesta por varios factores que influyen en el desarrollo de las larvas de camarón.

El uso indiscriminado de los antibióticos para manejar las bacterias ha hecho que los productores busquen productos que contribuyan a la disminución del impacto ambiental, con amplia eficiencia en control de enfermedades bacterianas y obtengan alta sobrevivencia de organismos en la producción, permitiendo el paso a la aplicación de probióticos que forman una acción eficiente para reducir patologías en el desarrollo inicial de los camarones.

Es importante indicar que existen muchas investigaciones que emplean probióticos para la inhibición de bacterias, sin embargo, no está de más investigar las dosis adecuadas y las aplicaciones en cultivos para evaluar la efectividad de las bacterias y así evitar el uso excesivo de los antibióticos en los cultivos de camarón en el Ecuador. Esta investigación pretende generar información esencial para el sector productivo sobre el manejo de una población bacteriana, su modo de empleo y, como lo antes mencionado influirá en la efectividad de los mismos.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la eficacia de un consorcio bacteriano como estrategia de control para disminuir la influencia de *Vibrio sp.* en el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

1.3.2 Objetivos Específicos

- Estimar la sobrevivencia de los organismos luego de realizar una prueba de desafío frente a *Vibrio sp.*
- Determinar el tiempo de administración necesario del consorcio bacteriano para lograr inhibición de *Vibrio sp.*

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*)

Según (Godínez et al., 2011) nos indica que: Este organismo es un crustáceo decápodo que tolera alteraciones en los parámetros químicos y físicos: temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH. En el campo acuícola se han aplicado distintas densidades de cultivo, lo que ha permitido observar que se pueden ser intensivo, extensivo y semiintensivo dependiendo de la capacidad del lugar en donde se realizara el cultivo y el manejo que se le brinde

El cultivo extensivo tiene una densidad menor a 10 camarones/m², por lo que su alimentación dependerá 100% del natural. El cultivo semiintensivo su densidad es 10 a 30 camarones/m², lo cual su alimentación varía entre lo natural y el pienso alimenticio. El cultivo intensivo permite densidades desde 2000 a 18000 kg/ha, por lo cual su alimento será 100% pienso alimenticio. Aunque actualmente en algunos países han logrado aumentar la densidad de siembra con algunas tecnologías avanzadas consiguiendo que sea un cultivo hiperintensivo (Casas & Ponce, 2018).

1.4.2 Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía del camarón blanco (Litopenaeus vannamei)

Phylum	Arthropoda
Clase	Crustácea
Subclase	Malacostraca
Serie	Eumalacostraca
Superorden	Eucaria
Orden	Decapoda
Suborden	Dendrobranchia
Infraorden	Litopenaeidea
Superfamilia	Litopenaeidae
Familia	Litopenaeidae
Genero	Litopenaeus
Especie	<i>Litopenaeus vannamei</i>

Fuente: FAO (1988)

1.4.3 Morfología

En el camarón blanco del Pacífico, tiene diferentes morfologías según en la etapa de vida que se encuentre, en este trabajo nos centraremos cuando el camarón está en

postlarva. En este estadio tiene su rostrum alargado, el cual se compone de 1 espina epigástrica y 2 dientes rostrales que están en la parte superior. La anténula se divide en 3 antejos basales y 2 flagelos divididos provistos, los cuales cada uno de 4 sedas terminales. En la antena tiene un protopodito bi-segmentado, el cual se desune un escafofocrito desarrollado, el cual posee borde externo duro y espina terminal. El flagelo posee 4 antejos notables (Türkmen, 2003).

En los maxilópodos posee exopoditos desarrollados proporcionado de sedas pequeñas plumosas. Dentro de la mandíbula se encuentra 2 discos masticadores y palpo mandibular en la parte medial. En caso de los periodos ya no tienen sus exopoditos, por lo que habrá huecos y los endopoditos agrandan su tamaño dando como resultado las quelas que cumplirá diferentes funciones en esta etapa dentro de los tres primeros pares. En cuanto los pleópodos tienen 5 pares de patas nadadoras con sus articulaciones y sus funcionalidades (Goytortúa et al., 2023).

En los primeros pares de pleópodos se clasifican en: endopoditos pequeños y los exopoditos expandidos y en los bordes tiene una amplia parte de sedas. En el primer par de pleópodos no se visualizan los endopoditos se desarrollan más cuando ya están en su etapa reproductiva. El telson muestra una estructura trapezoidal, pero es angosto en la parte posterior mostrándose 4 fuertes espinas en los bordes. El telson junto con los uropodos compone la aleta caudal. Existe un caparazón que esta adecuado al cefalotórax y posee espina hepática concreta. El caparazón está envuelto por cromatóforos pardos, lo que lo hace vistosos o interesante en sus etapas juvenil y adulto (Goytortúa et al., 2023).

1.4.4 Hábitat

El camarón blanco (*L. vannamei*), se ubica en el Océano Pacífico, desde México, Centroamérica hasta Perú, Sudamérica, la temperatura óptima del agua en el que habita es superior a los 20 °C. Los animales adultos se reproducen y desarrollan con normalidad en mar abierto, caso contrario la postlarva migra hacia las costas durante su estadio juvenil, mientras que la etapa adolescente a pre adulta se desplaza a los estuarios, manglares y lagunas costeras (FAO, 2009).

En el Ecuador existe un gran interés en el cultivo de camarón blanco, es por esta razón que (Castillo & Velásquez, 2021) nos señala que en las temporadas de invierno se adquirió un menor FCA y mayor peso en menos tiempo de producción. En caso de hablar que este en la estación de verano, se aplicara un sistema trifásico (técnica innovadora). Este tipo

de sistema da beneficios al campo acuícola, tales como: sostiene la producción y se opone a cambios bajos de la temperatura.

1.4.5 Sistema Inmunológico del Camarón

El sistema inmunológico del camarón blanco se lo ha medido por el número de hemocitos y su clasificación. Estas células tienen una comunicación intracelular y citotóxica, ayudando así fagocitosis, coagulaciones, melanizaciones, reconocimiento, encapsulación y la creación de nódulos. Además, se encontramos varias composiciones plasmáticas, tales como: histonas, enzimas, péptidos, liposacáridos, profenoloxidasa, cascada de coagulación y proteínas (Camacho & Prado, 2019).

La inmunología del intestino conlleva tres modalidades de defensa de suma importancia, las cuales son: inmunidad adaptativa, barreras del intestino y la inmunidad innata. Estas 3 defensas trabajarán constantemente para mejorar la resistencia de los patógenos presentes en el medio de cultivo, logrando que el animal no tenga una mortalidad repentina en cuanto se contagie con la bacteria infectante (Ringø et al., 2022).

1.5 Vibrios en Cultivo de Camarón

1.5.1 Definición de los *Vibrios*

Las primeras bacterias que se lograron identificar y describir fueron los *Vibrios*, logrando clasificarlos en la familia *Vibrionaceae*, los cuales son organismos heterótrofos, Gram negativa, móviles (flagelo polar), oxidasa positiva y mesófilos. Dentro de su biología, toleran altas y bajas salinidades y acumulación de nutrientes. Se las encuentra en la columna de agua o en el fondo formando parte del sedimento y dentro del tracto digestivo del camarón blanco cuando este se encuentra enfermo. Los *Vibrios* sobreviven en los ambientes marinos y en climas cálidos o zonas costeras (Leyton & Riquelme, 2008).

Los *Vibrios* son organismos que se encuentra normalmente dentro de mejillones, ostras, peces y crustáceos (camarones) en las temporadas de calor o altas temperaturas, mientras que durante el frío o bajas temperaturas se los encuentra en la parte del fondo (sedimento). Lo que puede combatir este patógeno es cuando no está en sus rangos de temperatura (21°C a 37°C) o salinidad (5-30 g/L). En el caso de ser consumido crudo afecta al otro ser vivo ya que la bacteria puede a traer daños infecciosos, como: diarrea, náuseas, entre otros síntomas (seres humanos) (Rodríguez et al., 2014).

1.5.2 Tipos de *Vibrios*

En la actualidad dentro de los camarones, ha existido problemas de enfermedades por alta densidades que se presentan en el cultivo de camarón blanco, las cuales son causadas por diferentes bacterias patógenas *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio campbelli* en el caso del estadio larval del *Litopenaeus vannamei*. En los adultos y juveniles es causada por otros organismos bacterianos, tales como: *Vibrio campbelli*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio damsela*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio penaeicida*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio harveyi* (Aguirre et al., 2013).

El camarón es más indefenso en sus primeras etapas de vida por lo que la mayor parte de las pérdidas de producción es en la etapa larval, ya que su sistema inmunológico no es el adecuado para combatir el patógeno, es por esta razón que, ha existido diferentes ataques de organismos perjudiciales, tales como: *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio damsela*. De todas estas enfermedades nombradas, la que comúnmente es conocida es la *V. harveyi*, ya que ha causado grandes mortalidades en todo el sistema de producción en todo el mundo (Adams, 1991).

1.5.3 Colonización de *Vibrios*

La colonización es un método que se utiliza para el estudio de las distintas enfermedades que se presenta en un medio de producción. Al usar esta metodología permite al investigador buscar soluciones necesarias para combatir la enfermedad y observar su comportamiento dentro del animal y que causa dentro del sistema inmunológico del mismo. El mismo método se puede aplicar en bacterias benéficas que se le aplica al medio de cultivo, utilizando diferentes productos de laboratorio que permitirá realizar la réplica adecuada (Sotomayor et al., 2019).

1.5.4 Enfermedades Causadas por el Patógeno

Dentro de los cultivos de camarón blanco se han observado presencia de diferentes bacterias perjudiciales que pueden dañar los organismos cultivados, en este caso hablaremos del *Vibrio parahemolyticus*, este microorganismo dañino causa una enfermedad conocida como: necrosis hepatopancreática aguda con sus siglas (AHPND), no obstante, puede darse la misma enfermedad por la presencia de otras bacterias como: *Vibrio harveyi*, *Vibrio owensii*, *Vibrio campbelli* (Han et al., 2015).

1.5.5 Distribución del Patógeno en un Estanque de Producción

En el cultivo de camarón blanco se han dado diferentes problemas en la salud del animal, por lo que su sistema inmunológico disminuye causando que el patógeno *Vibrio* se desarrolle en todo el cultivo, es decir, que se aprovecha del animal cuando está bajo de sus defensas para atacar y perjudicar la producción, mostrando algunos síntomas, si no se le da un tratamiento adecuado y a tiempo puede haber altas tasas de mortalidades (Peña & Varela, 2015).

Los investigadores realizaron un estudio en un estanque acuícola, el cual muestra que el camarón blanco tiene al patógeno dentro de su organismo en bajas cantidades (1×10 UFC mL en la hemolinfa) que pueden aumentar cuando dicho animal sufre situaciones de estrés o cambios bruscos en la calidad del agua y suelo, provocando que, al infectarse un camarón con la enfermedad de *Vibrio sp.*, infecta a los demás de forma horizontal (Zermeño et al., 2023).

1.5.6 Cepas de *Vibrios* Resistentes a Antibióticos

En el cultivo de *Litopenaeus vannamei* existe una situación preocupante, la cual es: el consumo excesivo de antibióticos en las piscinas porque con el paso del tiempo los productores han implementado este producto para curar enfermedades y para prevenir que exista la aparición de las mismas, sin antes realizar un estudio adecuado que permita evaluar la receptividad antibiótica de la enfermedad que se presenta en ese medio de cultivo. Manifestando una fuerte resistencia antibiótica en las bacterias patógenas, pero la más conocida es la que provoca la enfermedad de la *Vibriosis sp.* Este patógeno soporta a los siguientes antibióticos, los cuales son: enrofloxacina, oxitetraciclina, norfloxacina y florfenicol (Aguirre et al., 2021).

Según (Tran et al., 2013) nos informa que: En el campo acuícola existe una bacteria patógena *Vibrio parahaemolyticus*, la cual ha causado revuelo en algunos países, porque han existido pérdidas en la producción y en la economía por querer combatirla. Este patógeno es resistente a diferentes antibióticos, los cuales son: oxitetraciclina, magnacina, sulfacloropiridacina, trimetoprim, florfenicol y enrofloxacina. En este patógeno es importante saber que cuando usamos estos antibióticos no se combate la enfermedad, sino que afectara más a la población existente en el medio de cultivo (Galaviz et al., 2021).

1.5.7 Vibriosis en Larvicultura

Dentro del campo acuícola, la etapa más sensible de la producción es cuando se encuentra en larvas, por lo que se presentan diferentes enfermedades que pueden causar daños graves a la especie, las cuales son: vibriosis luminiscentes, bolitas blancas y vibriosis. En la cual las siguientes enfermedades serán dadas por diferentes grupos de bacterias maliciosas, dependerá de la enfermedad, tales como: vibriosis (*Vibrio parahaemolyticus*), *Vibriosis luminiscentes* (*Vibrio harveyi* y *Vibrio campbelli*) (Gomez et al., 2015).

Las bacterias patógenas tienen efectos negativos, cuando se encuentran en grandes cantidades (colonias) ya que se libera toxinas de todos estos organismos, permitiendo observar que la proliferación se da por las alteraciones de los parámetros químicos, biológicos y físicos del medio acuoso, como modificaciones de temperatura, oxígeno, pH y salinidad. Esto provoca que existan altas mortalidades en el estanque (Peña & Varela, 2016).

1.6 Suplementos en el Cultivo de Camarón

1.6.1 Bacterias Probióticas

Antes de analizar el concepto general de las bacterias beneficiosas, se dará a conocer el significado de probióticos, el cual se originan de dos términos griegos “*Pro*” y “*BIOS*”, estas dos palabras dan un significado “para la vida”. Lo que permite decir que es una síntesis de los tejidos que ayuda a la estimulación del desarrollo bacteriano frente a un ecosistema o medio acuático (Knipe et al., 2021).

Dentro de la historia de las bacterias beneficiosas, el primer autor en acuñar la definición fue Parker en 1974, el cual señaló que: son individuos y componentes que colaboran dentro del balance microbiano del intestino. Actualmente, otros autores también han dado otras definiciones para su mejor comprensión y por los diferentes estudios realizados con el pasar del tiempo hasta llegar al año actual (Pérez et al., 2020).

Son organismos microscópicos que ayudan dentro de la especie (camarón blanco), ya que no tienen componentes perjudiciales (toxinas) en el sistema del huésped; al contrario, ayudan a proteger al animal de infecciones fuertes que pueda presentar en el cultivo (aumenta su sistema inmune), a su vez tiene alta tasa de crecimiento y supervivencia dentro del cultivo de la producción (Sorroza et al., 2009).

Los investigadores concluyeron que las bacterias probióticas tienen características beneficiosas, como: no son perjudiciales en el huésped, son admitidos por el animal mediante la colonización, ingestión y reproducción en el interior del organismo y no se opone antimicrobiana. Al escoger un probiótico se debe evaluar las características del patógeno para analizar la aptitud inhibidora (Pérez et al., 2020).

1.6.2 Metabolitos Producidos por las Bacterias Probióticas

En la actualidad existe información sobre los metabolitos que produce la bacteria de la familia *Bacillus*, los cuales son: policetidos, glucopéptidos, péptidos cíclicos, lipopeptidos, bacteriocinas, enzimas líticas y péptidos no ribosomales, razón por la cual son utilizadas comúnmente en el campo acuícola para prevenir las enfermedades por su alta capacidad de estimular el intestino y disminución de enzimas (Phelan et al., 2012).

En el caso de la bacteria *Lactobacillus sp.*, elabora metabolitos bacteriocinas que sirve para combatir microorganismos gram negativos. Este metabolito tiene una clasificación, las cuales son: No lantibioticos y lantibioticos. En las que la división dependerá de la bacteria patógena a la que va dirigida (Liévin, 2016).

Tabla 2. Metabolitos producidos por bacterias probióticas

Organismo bacteriano	Bacteriocinas
<i>Lactobacillus lactis</i>	Nisina
<i>Lactobacillus sake</i>	Sakacina A
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Plantaricina E/F
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Helveticina
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	Lactacina F

Fuente: Vásquez et al. (2009)

1.6.3 Características Generales de los Bacteriófagos

Antes de iniciar con el concepto de los bacteriófagos, se debe conocer un resumen de su historia, estos organismos se usaron por primera vez como terapia en el siglo 20 (principios), pero, al pasar del tiempo, se descubrió una nueva técnica de eliminar el patógeno con antibióticos dejando apartado a estos microorganismos, observando que al final los productos descubiertos no eran tan perfectos presentando dificultades y así los investigadores retomaron las investigaciones de estos (Guevara et al., 2020).

Estos organismos (fagos) son perjudiciales para las bacterias, las propiedades que poseen los vuelven un atrayente como representante antimicrobiano para la intervención

de las enfermedades que se presenten en el medio acuoso. Una de las propiedades esenciales es su enfoque a definidas bacterias hospedadoras (Pacios et al., 2019).

Los probióticos soportan agresiones de los demás agentes (fagos) por mecanismos como: transformaciones inesperadas, métodos de alteraciones de prohibición y defensas adaptativas. Entre los nombrados, tenemos al género mutación, se dará de manera inesperada mediante una transmisión horizontal entre células igual o diferente del organismo, dividida en dos: la generalizada y especializada (Ruiz, 2021).

En el primer elemento, el cual es la generalizada, es el producto de las equivocaciones en el involucramiento del ADN del cromosoma del huésped. Si aparece un elemento viral infectara de inmediato al probiótico porque se vuelven susceptible al fago. El ADN se añade por la recombinación del genoma con posibilidades de transmisión de resistencias y virus (Suárez, 2021).

En la segunda transducción, es la especializada es una combinación de los genomas virales y bacterianos dando una respuesta de un fago con los dos genomas, en caso de que exista una resistencia en el probiótico habrá una transferencia en el siguiente nivel por eso se recomienda el uso de Fal No transductores (Vallenas et al., 2022).

1.6.4 Beneficios

Las bacterias probióticas del animal traen beneficios como el control de los patógenos y una mayor productividad por diferentes acciones, que son: mejora del agua (calidad), mejora la flora intestinal, fomenta el sistema inmunológico del organismo y disminuye los desechos del camarón. Lo que provoca un buen efecto en cuanto costos de producción, ya que disminuye la cantidad de suministro de pienso balanceado y antibióticos en caso de futuras enfermedades que se pueda presentar dentro del cultivo (Delgado et al., 2022).

Los trabajos que se encuentra actualmente son estudios realizados de las bacterias benéficas del entorno donde se encuentra el animal, por eso (Escobar et al., 2006) nos indica que este tipo de microorganismo ayuda al camarón a subir su sistema inmunológico desde su funcionamiento en el microbiota intestinal y mejoramiento de la digestión, dando beneficios reflejados al combatir las enfermedades en el cultivo. Haga clic aquí para escribir texto.

1.6.5 Mecanismos de Acción

Según (Muñoz, 2022), cuando tenemos un consorcio bacteriano existe algunos mecanismos de defensa que ayuda al camarón a enfrentar la enfermedad de la vibriosis, tales como:

- Comprende en el estímulo de pH menor a 4
- Impide el desarrollo bacteriano de los patógenos
- Elaboración de ácidos lácticos
- Reducción de la absorción intestinal
- Incremento del movimiento de lactasa
- Resultado de competencia en las bacterias que causan enfermedades
- Consecuencia en el sistema inmune

1.6.6 Bacterias Probióticas frente a Vibriosis

En el cultivo de camarón blanco existe un sistema preventivo para el control de la especie que causa la patogenicidad, el cual es aplicar bacterias benéficas mediante el alimento balanceado, ya que al estar en el tracto digestivo aumenta el sistema inmunológico por los diferentes procesos que surgen, ayudando a la producción camaronera que no tenga pérdidas por la excesiva mortalidad que puede presentarse dentro del cultivo (Molina et al., 2021).

1.6.7 Mezclas de Cepas Bacterianas

En la acuicultura se han utilizado métodos para combatir las enfermedades del cultivo, por lo que, en los últimos años, se han introducido cepas de bacterias en el organismo mediante el pienso balanceado que se le administra al animal todo el día, pero es necesario tener un control adecuado al suministrarlas para que no se conviertan en toxinas (perjudiciales) para el cultivo (Verschuere et al., 2000a).

Algunos autores han desarrollado distintas mezclas para identificar la adecuada para fortalecer el sistema inmunológico de la especie y pueda combatir el organismo perjudicial que se encuentra en su hábitat. Estas mezclas usadas en la acuicultura de bacterias benéficas son: correspondientes del género *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus* y levaduras. Son las combinaciones más comunes que se encuentra dentro del mercado acuícola (Balcázar & Rojas, 2007).

1.6.8 Efecto de Mezclas Probióticas

Cuando se realiza una mezcla de bacterias beneficiosa (*Vibrio alginolyticus* y *Bacillus sp.*) para la especie, se tiene resultados beneficiosos para la producción. Uno de los resultados es: que tiene mayor capacidad de impedir la proliferación de bacterias patógenas durante el crecimiento, permitiendo reducir la capacidad de patogenicidad en las larvas de camarón blanco y evitar la alta tasa de mortalidad (Sotomayor & Balcázar, 2003).

En el campo acuícola, para que exista los beneficios dados por el autor anterior se debe tener en cuenta que el probiótico que se dará al animal será por vía oral (alimento) para que llegue al tracto digestivo y ahí se reproduzcan para poder mejorar su sistema inmunológico, ayudados con los ácidos presentes en el tracto porque ejercen diferentes mecanismos sobre las bacterias probióticas que se encuentran dentro del animal, gracias a mezclas probióticas son: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis* y *Leuconostoc mesenteroides* (Villamil & Martínez, 2016).

1.7 Probiótico Comercial

1.7.1 Bacillus

Esta especie son preceptoras de esporas, lo que permite observar que tienen resistencias a cualquier condición química o física que se presente en el medio de cultivo. La diversidad que presenta estos microorganismos permite la adaptabilidad no solo de temperaturas, sino variación de salinidades, alcalinidades o pH, exceso de desechos orgánicos y en sustancias super ácidas (tracto intestinal), debido a su excelente capacidad de reproducirse en los medios que ha servido como estudio en diferentes áreas de investigación por la importante función que desempeña, la cual es dar beneficios al medio (Soltani et al., 2019).

Los Bacillus son candidatos para aditivos alimentarios debido a su papel positivo en la promoción del crecimiento, la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades. Una gran cantidad de Bacillus pueden regular el entorno de la flora intestinal de los organismos acuáticos, estimulando selectivamente el crecimiento de otras bacterias beneficiosas e inhibiendo otras que son potencialmente dañinas. Es ideal encontrar la dosis efectiva del probiótico que se aplique, una dosis alta no significa que va a generar una mejor respuesta inmune en los animales cultivados (Cao et al., 2022).

1.7.2 *Bacillus subtilis*

El tratamiento con probióticos puede aumentar la actividad de las enzimas digestivas, promoviendo así el rendimiento del crecimiento y la utilización del alimento. La adición de *Bacillus subtilis* puede desempeñar un papel positivo en el incremento del peso del *Penaeus vannamei*. Además, se pueden observar beneficios en la calidad del agua, la respuesta inmune, crecimiento eficiente y la resistencia a patógenos del camarón (Kewcharoen & Srisapoome, 2019).

Según (Kewcharoen & Srisapoome, 2019), al suplementar probióticos con la cepa de *B. subtilis* en estanques de cultivo de camarón, disminuyó considerablemente la mortalidad de los organismos, regularon la respuesta inmune, es decir el bacillus puede competir con otros microorganismos invasores reduciendo el contagio y las tasas de mortalidad, también hubo influencia positiva en la composición química, enzimas digestivas y resistencia a muchas enfermedades dadas en la producción de camarón blanco.

1.8.3 *Lactobacillus lactis*

Según (Yerlikaya et al., 2021), esta bacteria se usa como probiótico por su capacidad de persistir y colonizar el tracto digestivo. Esto facilita el combate de patógenos que ingresan al organismo al colonizar el intestino. Además, se destaca que su efectividad es mayor cuando se combina con otras bacterias probióticas, como: *Bacillus sp.* y *Streptococcus thermophilus*.

Estas son algunas características de la bacteria probiótica:

Tabla 3. Características de *Lactobacillus lactis*

Características	
• Grampositivas	• Inmóviles
• Anaerobias facultativas	• Carentes de citocromos
• Catalasas negativas	• No forman esporas

Fuente: Bintsis (2018)

Son conocidas como BAL, en la industria acuícola se las suministra en el alimento, ya que le da una buena calidad porque ofrece seguridad y un mejoramiento en la salud. Este tipo de bacteria probiótica ocasiona combinaciones antimicrobianas, tales como: ácidos acéticos, láctico, bacteriocinas antagonistas y diacetilo ofreciendo la rapidez de la

degradación de los alimentos y evitar que el patógeno ingrese en el animal (Amelia et al., 2021).

En el siguiente cuadro explica los beneficios que ofrecen como probióticos este tipo de organismo en los animales de medios acuosos.

Tabla 4. Beneficios de probióticos con *Lactobacillus lactis*

Beneficios	
✓ No son enfermedades	✓ Son adherentes
✓ Funcionales en pH bajos	✓ Colonizadores de células epiteliales
✓ Crecimiento normal en medios salinos	✓ Actividad antibacteriana
✓ Beneficiosas en el sistema inmunológico	✓ Actividad antioxidante

Fuente: Padmavathi et al. (2018)

1.8.4 *Nitrosomonas sp.*

La nitrificación es un proceso natural de limpieza del agua mediante oxidación de amoníaco potencialmente tóxico a nitrato no tóxico, donde la bacteria *Nitrosomonas sp.* desempeña un rol importante en dicho proceso. La presencia de bacterias nitrificantes es esencial en la actividad acuícola para mantener los gases tóxicos nitrogenados a un nivel bajo para no dañar a los organismos cultivados (Amin et al., 2023).

El alimento no consumido y las heces son descompuestas por bacterias dentro de las cuales el carbono orgánico se mineraliza a amoníaco, nitrito y nitrato, lo que aumenta la carga de bacterias patógenas y empeora la calidad del agua. La población de bacterias patógenas como *Vibrio sp.* aumentará a medida que incremente la carga orgánica y es donde la presencia de nitrificados juega un papel importante. Los nitrificados son bacterias quimioautótrofas capaces de sintetizar la materia orgánica mediante procesos de nitrificación (Widigdo et al., 2021).

1.8.5 *Nitrobacter sp.*

Los probióticos que contienen microorganismos como *Nitrobacter* que pueden aumentar la descomposición de los desechos y mejorar la calidad del agua. La adición de la bacteria en el medio acuático puede mejorar la calidad del agua porque puede convertir compuestos tóxicos en no tóxicos como el amoníaco y los nitritos a través del proceso de nitrificación, aumentando la tasa de crecimiento y la supervivencia en la producción de camarón (Samadan et al., 2021).

La presencia de nitrato en las aguas de los estanques de camarones se debe a los niveles de nitrato en los estanques derivados de la oxidación de nitritos por la bacteria *Nitrobacter sp.*, es decir la cantidad de nitrito y amoníaco puede determinar los niveles de nitrato en los estanques de camarones. La acumulación de bacterias heterótrofas y sus desechos impiden la actividad de *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, los heterótrofos asimilan amoníaco y consumen oxígeno antes de llegar a los nitrificadores (Valencia et al., 2019).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Ciencia Agropecuarias con dirección P35P+CCW, E583, El Cambio, en el laboratorio de Maricultura y Sanidad Vegetal, con la siguientes coordenadas 3.2915822334170737, -79.91388666931037.



Fuente: Google (2024)

2.2 Materiales y Equipos

2.2.1. Materiales

- Tachos de 40 L
- Balanza
- Blower
- Manguera
- Alimento balanceado
- Malla roja
- 3 recipientes de plásticos de 5lt
- Sustancias
- Agar TCBS
- Agar nutritivo
- Agar Bacto peptona
- Caldo de soja
- Agua de mar

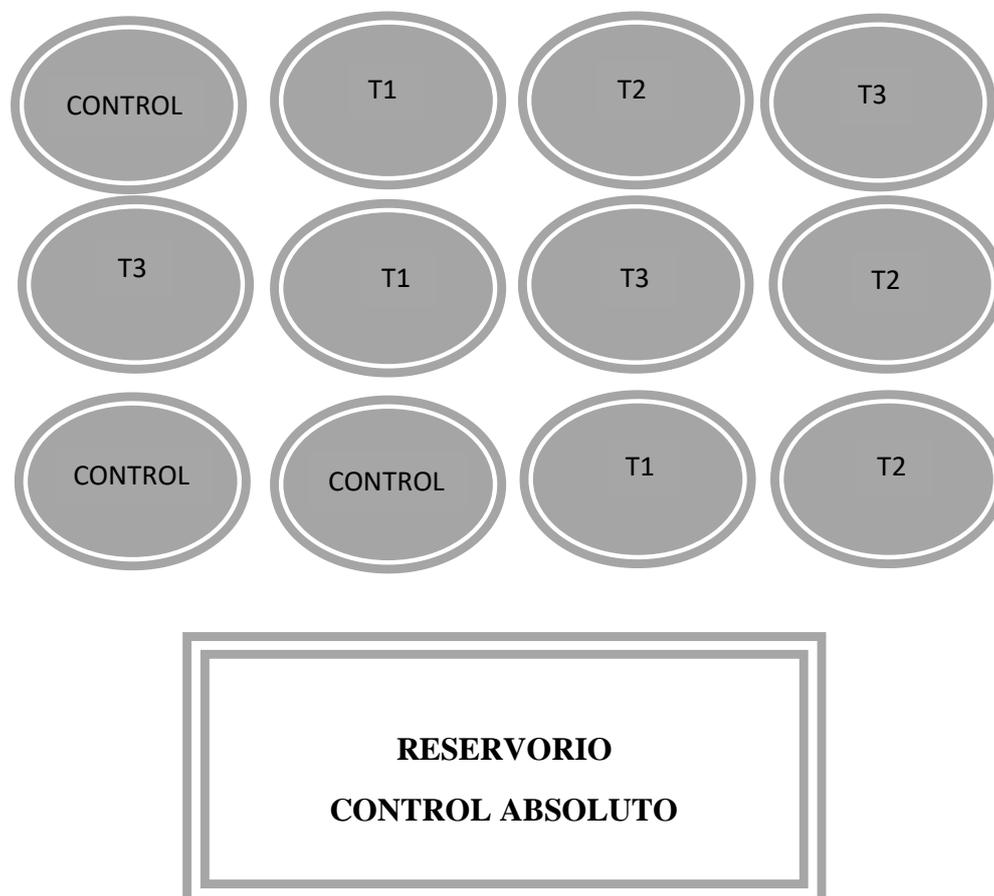
- Probiótico Comercial
- Melaza
- Recipientes de vidrio
- Matraz Erlenmeyer
- Tubos de ensayo de 10ml y de 20ml
- Varita mezcladora
- Aza
- Merchero de alcohol
- Vaso de precipitación
- Herramientas de laboratorio
- Alcohol
- Agua destilada
- Fósforos
- Autoclave
- Centrifugadora
- Hornilla eléctrica
- Agua destilada
- Porta tubos
- Refrigeradora
- Balanza
- Micropipetas de 1000 μL y 100 μL
- Incubadora
- Isopos
- Postlarvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*)
- Cepa *Vibrio sp.*

2.3 Diseño Experimental

En el diseño experimental se establecieron cuatro tratamientos (CC-7; CC14; CC-21 y SC) con tres réplicas cada uno (CC, tratamientos con consorcio bacteriano), dentro de los mismos, contamos con tratamientos de control relativos SC, tratamientos de control sin consorcio contaminados después de los períodos de administración del consorcio bacteriano, y fuera de ellos conservamos un reservorio como tratamiento control absoluto SC-NC (sin consorcio y no contaminado por *Vibrios sp.*). El estudio tiene tres dosis

diferentes de administración del consorcio bacteriano en los 4 tratamientos dependiendo de la biomasa de los organismos que obtiene en el desarrollo del cultivo, junto con cuatro días de desafío.

2.4 Croquis de la Ubicación del Experimento



*Figura 2. Ubicación de los tratamientos experimentales para el cultivo de postlarvas (*Litopenaeus vannamei*)*

2.5 Descripción de los Tratamientos

El estudio comparativo de los tratamientos experimentales se explica en el siguiente cuadro:

Tabla 5. Descripción de los tratamientos experimentales donde indican dosis de alimentación, los días de administración del consorcio bacteriano y los días de infección por Vibrios.

Tratamiento	% Biomasa (Alimento)	Dosis de probiótico	Infección con Vibrio	Días de desafío
T1	20	7 días	Día 8	4 días
T2	20	14 días	Día 15	4 días
T3	20	21 días	Día 22	4 días

Control de relativos y absoluto	20	-	Similar en cada tratamiento	Similar en cada tratamiento
--	----	---	-----------------------------	-----------------------------

2.5.1 Dimensiones de las Unidades Experimentales

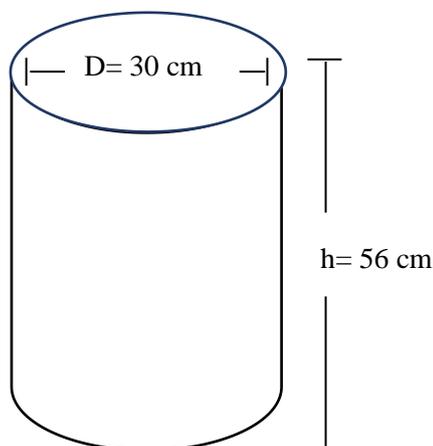


Figura 3. Dimensiones de la unidades para el ensayo experimental

Volumen de un cilindro= πr^2h

r= 15 cm

V= $\pi \times (15 \text{ cm})^2 \times (56 \text{ cm})$

V= 39584,07 cm = 39,58 L

2.6 Preparación de las Unidades Experimentales

Se dispusieron doce tachos de 40 L, cada uno conteniendo 30 L de agua de mar filtrada con salinidad de 35 ppm. Posteriormente, se instaló un sistema de aireación compuesta por doce mangueras en una regleta conectadas a un blower y cada manguera equipada con piedras difusoras para asegurar una adecuada oxigenación del agua, así mismo nos aseguramos de eliminar cualquier contaminación por cloro.

2.7 Obtención de los Organismos

Las postalarvas en estadio PL 25 se compraron en un laboratorio especializado ubicado en Puerto Bolívar, Machala, Ecuador. Simultáneamente, se obtuvo agua de mar con una salinidad de 35 ppm, la cual se ajustó cuidadosamente para coincidir con las condiciones de salinidad del agua en la que se mantenían los organismos adquiridos, garantizando así una transición óptima, minimizando el estrés de las postlarvas durante la aclimatación y posterior desarrollo de la investigación.

2.7.1. Aclimatación de los Organismos

Se adquirieron más de mil postlarvas (PL 25), las cuales fueron ubicadas inicialmente en un reservorio para aclimatarlas durante un días completo, mientras se ajustaba la salinidad del agua de las unidades experimentales a 30 ppm. Luego, se dispusieron 30 postlarvas en cada unidad experimental, donde anticipadamente se realizó el pesaje y el conteo para determinar la biomasa correspondiente para ajustar la alimentación de los animales cultivados. Tras un día adicional de aclimatación en sus respectivas unidades, se inició el estudio, asegurando así que las condicionales iniciales de las PL fueran óptimas para la evaluación comparativa de los tratamientos experimentales.

2.8 Obtención del Probiótico

El probiótico comercial empleado en este estudio fue conseguido en un tienda de insumos acuícolas ubicada en Puerto Hualtaco, El Oro, Ecuador. El producto obtenido cuenta con la cantidad de 1 kilogramo y para asegurar la activación del polvo liofilizado se adquirió melaza en el mismo lugar, que es una fuente de carbono fundamental para garantizar la concentración del consorcio bacteriano que se administrará a los organismos.

2.9. Obtención de la cepa de *Vibrio sp.*

La cepa de *Vibrio* utilizada en el estudio fue aislada a partir de 10 juveniles enfermos de aproximadamente 1 gramo provenientes del Laboratorio de Maricultura. Se extrajo el hepatopáncreas de todos los organismos, y las muestras fueron colocadas en una funda plásticas para ser homogenizadas adecuadamente. Luego, se realizaron diluciones seriadas (1/10; 1/100 y 1/1000) para lo cual se utilizaron tres tubos de ensayo, cada uno conteniendo 10 ml de agua de mar previamente esterilizada, ajustada a una salinidad de 30 ppm. Se añadió 1 gramos de la muestra homogenizada al primer tubo (1/10), y se tomó 1 ml de esta dilución para transferirlo al segundo tubo (1/100), repitiendo el proceso hasta obtener la última dilución (1/1000). En cada dilución se tomó una muestra de 1 ml para ser inoculada en cajas Petri. Las cajas Petri fueron esterilizadas mediante la exposición de luz ultravioleta y posteriormente preparadas con agar TCBS (Tiosulfato Citrato Sales Biliares Sacarosa), un medio selectivo para *Vibrios*, permitiendo el aislamiento de la cepa bacteriana necesaria para el desarrollo del desafío experimental.

2.10. Preparación de Agares

2.10.1 Preparación de Caldo de Soja

Primero, se añadieron 10 ml de agua destilada a cada tubo de ensayo. A continuación, se calculó la cantidad precisa de dosificación para cada tubo, resultando en

0.25 g de caldo de soja (polvo) por cada 10 ml de agua destilada. Se incorporó esta cantidad en cada tubo y se procedió a autoclave el caldo. Luego, se permitió que el caldo se enfriara hasta alcanzar una temperatura cercana al ambiente (24°C), para facilitar la proliferación de los *Vibrios*.

En este procedimiento se utilizó caldo de soja y agua de mar destilada, que se sometieron a un proceso de esterilización en la autoclave.

Segundo, se esterilizó el agua de mar del laboratorio de Puerto Bolívar, lo cual tomó dos horas. En el siguiente paso, se vertieron 1000 ml de esta agua de mar en un vaso de precipitación de 2000 ml (la elección del tamaño dependerá del volumen deseado) y se añadieron 25 g de caldo de soja, siguiendo las indicaciones del producto (la cantidad varía según el volumen de agua destilada).

Posteriormente, se colocó el vaso de precipitación en la autoclave durante dos horas. Tras el proceso de esterilización, se dejó enfriar la mezcla para proceder con la masificación. Este procedimiento se repetía semanalmente para asegurar la renovación del agua de los *Vibrios*.

2.11 Preparación del Agar TCBS

El siguiente método se empleó para detectar la presencia de *Vibrios*, obtener las muestras para su masificación y verificar el producto.

El primer paso, se reunieron todos los materiales necesarios y se destiló el agua de mar. Luego, se vertieron 300 ml de agua de mar destilada en un matraz. Se realizaron los cálculos correspondientes, basados en las indicaciones del producto, que especificaban 89.09 g de agar TCBS para 1000 ml de agua destilada. Los cálculos determinaron que se necesitaban 26.72 g de agar TCBS. Se pesó el agar según el resultado obtenido y se añadió al agua destilada.

Al final, la mezcla se preparó y se calentó en un baño María, siguiendo las especificaciones del producto. Después de esperar 10 minutos, se distribuyó el preparado en 27 cajas Petri, y se dejó solidificar el agar durante 15 minutos antes de colocar las muestras en las cajas.

2.12 Preparación de Agar Bacto Peptona

El siguiente procedimiento se empleó para la segunda fase de masificación de los *Vibrios*, con el objetivo de evaluar la viabilidad de obtener *Vibrios* a partir de este tipo de caldo.

En primer lugar, se destiló el agua salada para preparar la mezcla. A continuación, se vertieron 1000 ml de agua salada destilada en un matraz y se añadieron 35 g de caldo Bacto peptonas, siguiendo las instrucciones del producto. La mezcla se sometió a autoclave para eliminar cualquier posible contaminación. Después, se dejó enfriar el caldo durante 15 minutos.

Posteriormente, se transfirió a un recipiente de plástico para continuar con la masificación de los *Vibrios*. Este proceso se repitió semanalmente, un total de cuatro veces, marcando así la culminación del proyecto.

2.13 Preparación de Agar Nutriente

El agar Nutriente, requiere de una preparación minuciosa que implica la suspensión de 23 g del polvo en 1 L de agua esterilizada, seguida de una mezcla exhaustiva y calentamiento hasta la ebullición por 1 minuto para la completa disolución. Para lograr la esterilización, se utiliza el autoclave a 121 °C durante un tiempo de 15 minutos, y se verifica con anticipación su eficacia con cultivos de control. En nuestro caso, se adaptó el procedimiento para un volumen menor de 100 ml de agua de mar esterilizada, usando 2,3 g de polvo de Agar, manteniendo la proporción original para preparar tres placas Petri. Este proceso optimiza recursos mientras preserva la integridad del medio, siendo primordial mantener condiciones asépticas durante la preparación de este para no afectar a los resultados finales.

2.14 Masificación de *Vibrio sp.*

Primer paso, las cajas sembradas para obtener los *Vibrios*, se dejaron incubar durante 48 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se compararon todas las muestras. Se observó que la muestra con la cantidad adecuada de *Vibrio* provenía de los camarones pequeños del laboratorio de Maricultura. Se concluyó que la falta de crecimiento durante un año se debía a la presencia de *Vibrios*.

Segundo paso, en este procedimiento, se utilizó el caldo de soja previamente preparado y se añadió una muestra de *Vibrio* tomada de una caja Petri del laboratorio con la ayuda de un hisopo. Se esperó 2 horas antes de tomar nuevas muestras, las cuales se colocaron en 2 cajas Petri con agar TCBS para observar su curva de crecimiento y evaluar la masificación. Este procedimiento se repitió cada 2 horas durante un total de 12 horas. Luego, las cajas Petri obtenidas se dejaron reposar en la incubadora durante 48 horas. Después de este período, se contabilizaron las colonias en cada caja para determinar cuál

era la más adecuada para el procedimiento. Los resultados fueron insatisfactorios, ya que la cantidad de bacterias no alcanzó el valor deseado de 10^5 . A continuación, se repitió el procedimiento aumentando el tiempo de incubación a 18, 20 y 24 horas. El resultado mostró que, al dejar reposar los *Vibrios* en el caldo durante 20 horas, se lograba obtener la cantidad deseada, ya que la concentración de bacterias comenzaba a decaer con tiempos de incubación más largos.

Tercer paso, en este proceso, se colocaron 100 ml del caldo de soja en un matraz junto con el tubo de ensayo que había estado incubando durante 20 horas para iniciar la masificación. Después de 24 horas, se repitió el procedimiento, incrementando la cantidad de caldo de soja a 250 ml y añadiendo el contenido a un vaso de precipitación de 500 ml, que contenía previamente 100 ml del caldo. En el siguiente paso, se preparó caldo de soja para 500 ml y se transfirió a un vaso de precipitación de 1000 ml. Este proceso se continuó aumentando el volumen hasta alcanzar 2000 ml de caldo con *Vibrio*, que se depositó en un recipiente de plástico de 5000 ml. El caldo se volvió a añadir al recipiente de plástico tras 48 horas, cuando se observó un cambio en la coloración, indicando un descenso en la viabilidad del *Vibrio*. Este proceso se repitió en tres tachos diferentes, ya que el proyecto requería realizar tres ciclos de infección, y cada recipiente se utilizó para un tratamiento específico.

2.14.1 Análisis de Carga Bacteriana

En esta etapa final, se lleva a cabo un plaqueo de la masificación para determinar la cantidad de *Vibrios* presentes en la muestra. El siguiente paso es centrifugar la muestra para separar las bacterias específicas que se desean analizar. Tras la centrifugación, se elimina el líquido sobrenadante. Luego, se agrega agua de mar destilada al residuo y se agita la mezcla hasta lograr una homogenización completa. Esta mezcla de *Vibrio* se transfiere a un recipiente y el proceso se repite hasta obtener un volumen de 1800 ml de *Vibrio*. Como paso final, se distribuye 300 ml de la mezcla de *Vibrios* en cada uno de los baldes que contienen los camarones. El procedimiento se realizó una vez a la semana durante tres semanas consecutivas para alcanzar el objetivo del proyecto.

2.15 Activación del Probiótico Comercial

El protocolo experimental, se adhirió rigurosamente a las especificaciones técnicas proporcionadas por el fabricante del probiótico comercial adquirido. Este

producto, presentado en forma de polvo liofilizado, requería un proceso de activación previo a su aplicación. Siguiendo las directrices establecidas, se utilizó melaza como fuente de carbono para catalizar la activación del probiótico, integrándolo con el agua de mar filtrada utilizada para las unidades experimentales. La dosificación recomendada por el fabricante estipulaba un proporción de 1 Kg del probiótico en polvo por cada 1000 L de agua, complementada con 2 L de melaza por cada 100 L de agua. Adaptando dichas especificaciones en el experimento, debemos considerar la biomasa inicial de los animales, donde se utilizaba 5 gramos de alimento balanceado semanalmente para los 9 tratamientos con probiótico y, el fabricante mencionaba otro dato importante sobre utilizar 0,5 L de melaza en 40 Kg de alimento balanceado y según dicha cantidad se preparaba la cantidad de probiótico activado. Entonces realizamos los siguientes cálculos:

$$\begin{aligned} 0,5 \text{ L de Melaza} & \text{-----} 40000 \text{ g de Balanceado} \\ X & \text{-----} 5 \text{ g de Balanceado} \\ X = 0,0000625 \text{ L} & \text{----} 0,063 \text{ ml de Melaza} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2000 \text{ ml de Melaza} & \text{-----} 100 \text{ L de agua} \\ 0,0625 \text{ ml de Melaza} & \text{-----} X \\ X = 0,003125 \text{ L de agua} & \text{-----} 3,13 \text{ ml de Agua} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ kg de Probiótico} & \text{-----} 1000 \text{ L de agua} \\ X & \text{-----} 0,003125 \text{ L de agua} \\ X = 0,000003125 \text{ kg} & \text{----} 3,13 \text{ mg de Probiótico en polvo} \end{aligned}$$

Tras un análisis detallado de los resultados preliminares, se tomó una decisión metodológica de redondear las cantidades a valores enteros o fracciones manejables, eliminando así la complejidad asociada a los decimales en la dosificación. Esta adaptación resultó en una formulación que comprendía 4 ml de agua del reservorio como vehículo principal, 4 mg de probiótico en polvo como agente activo y 0,10 ml de melaza como fuente de carbono y potenciador de la activación probiótica, este ajuste facilitó la preparación y administración consistente del tratamiento en todas las unidades experimentales.

2.16 Preparación de Alimento con Probiótico

De acuerdo a los datos proporcionados por el fabricante del probiótico comercial, se estableció una relación entre la cantidad de probiótico preparado y la cantidad de alimento balanceado dado semanalmente. Concretamente, se indicaba la utilización de 25 L de probiótico activado por cada 40 kg de alimento balanceado. Partiendo de esta información crucial y conjunto con los cálculos previamente realizados, se procedió a determinar con precisión la cantidad de probiótico a implementar en los diversos tratamientos del estudio, donde se aplicó el consorcio bacteriano.

$$\begin{aligned} 25\ 000\ \text{ml de Probiótico} & \text{-----} 40\ 000\ \text{g de Balanceado} \\ X & \text{-----} 5\ \text{g de Balanceado} \\ X & = 3,13\ \text{ml de Probiótico activado} \end{aligned}$$

Se determinó una dosificación semanal de un total de 5 gramos de alimento (0,58 g por los 7 días) complementada con 3,13 ml de probiótico activado.

Tabla 6. Datos de la primera semana de alimentación
ALIMENTACIÓN (SEMANA 1)

BIOMASA TOTAL (g)	2,88
% BIOMASA	20
Balanceado total (g)	0,58
Balanceado x cada balde (g)	0,048
5 Dosis (mg)	9,60

Esta formulación se tradujo en una administración diaria inicial de 0,27 ml de probiótico por cada 0,43 g de alimento, distribuida estratégicamente en cinco dosis equitativas a lo largo del día en aquellos nueve tratamientos que requerían la suplementación probiótica.

0,048 g x 9 tratamientos= 0,432 g de alimento en las unidades experimentales con probiótico.

$$\begin{aligned} 25\ 000\ \text{ml de Probiótico activado} & \text{-----} 40\ 000\ \text{g de Balanceado} \\ X & \text{-----} 0,43\ \text{g Balanceado} \\ X & = 0,27\ \text{ml de Probiótico activado por Unidad experimental} \end{aligned}$$

2.17 Manejo de las Unidades Experimentales

Una vez establecidas las unidades experimentales, se procedió a evaluar el efecto de la administración del probiótico comercial, los tratamientos experimentales (1, 2 y 3), con un el tratamiento control junto con sus réplicas (12 unidades experimentales) se les administraba alimento con probiótico, mientras que los tratamientos de control relativos y absolutos (reservorio de PL) se alimentaban con balanceado sin probiótico, todos los tratamientos se infectaban realizando una prueba de desafío de 4 días. El Tratamiento 1, las postlarvas fueron alimentadas con probiótico hasta el séptimo días y al octavo días se infectaba con 300 ml *Vibrio* masificado; el Tratamiento 2, recibió probiótico hasta el día 14. Finalmente, el Tratamiento 3 se alimentó hasta los 21 días y un día después se infectaba, en cada infección se esperaban los 4 días, las PL se contaban diariamente y se pesaban al final de cada desafío para monitorear su supervivencia.

2.17.1 Alimentación

En el proceso de alimentación de las postlarvas, se implementó un enfoque meticuloso basado en la biomasa, ajustando la cantidad de alimento proporcionado según el estadio (PL 25) y el peso inicial (8 mg) de los organismos. Siguiendo recomendaciones de la literatura científica y las mejores prácticas del sector, se estableció una tasa de alimentación del 20% de la biomasa total. Este régimen alimenticio variaba de acuerdo al crecimiento de los organismos, adaptándose semanalmente en función de los cambios en la biomasa de las postlarva. Durante la primera semana del experimento, que abarcó los primeros siete días, se administraron 48 mg de alimento en cada unidad experimental, distribuidos en cinco dosis diarias para optimizar la ingesta y minimizar desperdicio. En la segunda semana, correspondiente al días 14 del estudio, la cantidad de alimento incrementó a 77,15 mg, reflejando el crecimiento de los organismos. Finalmente, en la tercera semana, al alcanzar el día 21, la administración de alimento alcanzó los 84,82 mg, evidenciando la necesidad de ajustar la alimentación para sostener su crecimiento óptimo.

2.17.2 Recambio de Agua

En la implementación del experimento, se prestó atención al manejo del medio acuático, componente fundamental para garantizar el bienestar y desarrollo óptimo de los organismos objeto de estudio. Al cada unidad experimental fue aprovisionada con un volumen preciso de agua de 30 litros de agua (3%), estableciendo así un entorno controlado y homogéneo para todas las réplicas. Con el propósito de mantener la calidad del agua en condiciones ideales, se instauró un protocolo riguroso de mantenimiento

diario que comprendía el sifoneo minucioso de cada unidad. Esta práctica permitía la remoción eficaz de desechos orgánicos y partículas en suspensión, previniendo la acumulación de compuestos nocivos para los especímenes. Complementariamente, se efectuaba un recambio diario de 1 litro de agua en cada unidad experimental, seguido por la reposición de un volumen equivalente de agua nueva, esta estrategia de renovación parcial y controlada del medio estaba diseñada para regular parámetros críticos, como los niveles de amonio, cuya acumulación podría ser perjudicial para los animales cultivados. Este régimen de manejo contribuye a la estabilización de los parámetros físico-químicos del agua, también asegura el mantenimiento de un hábitat propicio para el desarrollo del experimento.

2.18 Peso y Conteo de las Postlarvas

Inicialmente, se efectuó un pesaje preliminar utilizando tres réplicas de 200 postlarvas cada una, con el propósito de obtener un peso promedio más preciso. Este enfoque permitió determinar la biomasa inicial directa de 2,88 gramos, lo que se tradujo en un peso individual estimado de 8 mg por organismo, según los cálculos realizados. Para minimizar el estrés en los animales, se estableció un régimen de pesaje semanal y al término de los desafíos experimentales para cada unidad experimental. El procedimiento del pesaje se llevaba a cabo con sumo cuidado, empleando una malla roja para extraer las postlarvas de su medio y transferirlas a una caja Petri, donde se determinaba su peso mediante una balanza de precisión. Paralelamente, se implementó un protocolo de monitoreo diario de la supervivencia, que implicaba el conteo meticuloso de los organismos, este proceso se realizaba utilizando la misma malla roja para transferir temporalmente las PL a una caja Petri, donde se procedía al conteo individual, retornando inmediatamente cada espécimen a su unidad experimental correspondiente, dicha metodología se diseñó con el objetivo de minimizar el tiempo de manipulación y consecuentemente, reducir el riesgo de mortalidad asociada al manejo.

III. RESULTADOS

3.1 Supervivencia de PL de *L. vannamei* en Razón del Tiempo de Administración de un Consorcio Bacteriano, Previo al Desafío por *Vibrios*.

3.1.1 Supervivencia de PL en 7 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-7-NC)

En la tabla 7, se presenta la tasa de supervivencia en 7 días de administración de un Consorcio bacteriano. Donde se observa que el tratamiento de control sin Consorcio (SC) la supervivencia a los 7 días fue de 76,67%, mientras que el tratamiento con Consorcio bacteriano la supervivencia fue más elevada con un porcentaje de 96,67%.

Tabla 7. Supervivencia de lo tratamiento 1 durante 7 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío

SUPERVIVENCIA DEL TRATAMIENTO 1 (7 DÍAS)		
DÍAS	SIN CONSORCIO (SC) (%)	CON CONSORCIO (CC) (%)
DÍA 1	100,00	100,00
DÍA 2	100,00	100,00
DÍA 3	85,56	96,67
DÍA 4	82,22	96,67
DÍA 5	78,89	96,67
DÍA 6	78,89	94,44
DÍA 7	76,67	93,33

3.1.2 Supervivencia de PL en 14 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-14-NC)

En la tabla 8, se presenta la tasa de supervivencia en 14 días de administración de un Consorcio bacteriano. Donde se observa que el tratamiento de control sin Consorcio (SC) la supervivencia a los 14 días fue de 83,33%, mientras que el tratamiento con Consorcio bacteriano (CC) la supervivencia fue más elevada con un porcentaje de 90%.

Tabla 8. Supervivencia de lo tratamiento 2 durante 14 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío

SUPERVIVENCIA DEL TRATAMIENTO 2 (14 DÍAS)		
DÍAS	SIN CONSORCIO (SC) (%)	CON CONSORCIO (CC) (%)
DÍA 1	100,00	100,00
DÍA 2	100,00	100,00
DÍA 3	96,67	98,89
DÍA 4	95,56	97,78
DÍA 5	95,56	97,78
DÍA 6	95,56	96,67
DÍA 7	93,33	94,44

DÍA 8	88,89	94,44
DÍA 9	88,89	94,44
DÍA 10	87,78	93,33
DÍA 11	86,67	92,22
DÍA 12	85,56	91,11
DÍA 13	83,33	91,11
DÍA 14	83,33	90,00

3.1.3 Supervivencia de PL en 21 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-21-NC)

En la tabla 9, se presenta la tasa de supervivencia en 21 días de administración de un Consorcio bacteriano. Donde se observa que el tratamiento de control sin Consorcio (SC) la supervivencia a los 21 días fue de 90%, mientras que el tratamiento con Consorcio bacteriano (CC) la supervivencia fue más elevada con un porcentaje de 94,44%.

Tabla 9. Supervivencia de lo tratamiento 3 durante 21 días de administración del consorcio bacteriano previo al desafío

SUPERVIVENCIA DEL TRATAMIENTO 2 (21 DÍAS)		
DÍAS	SIN CONSORCIO (SC) (%)	CON CONSORCIO (CC) (%)
DÍA 1	100,00	100,00
DÍA 2	100,00	100,00
DÍA 3	98,89	100,00
DÍA 4	97,78	100,00
DÍA 5	97,78	100,00
DÍA 6	96,67	100,00
DÍA 7	94,44	97,78
DÍA 8	93,33	97,78
DÍA 9	93,33	97,78
DÍA 10	93,33	97,78
DÍA 11	93,33	96,67
DÍA 12	92,22	95,56
DÍA 13	92,22	95,56
DÍA 14	92,22	94,44
DÍA 15	91,11	94,44
DÍA 16	91,11	94,44
DÍA 17	91,11	94,44
DÍA 18	91,11	94,44
DÍA 19	91,11	94,44
DÍA 20	91,11	94,44
DÍA 21	90,00	94,44

La Tabla 10 muestra la comparación entre tasas de supervivencia según el análisis de varianza Tukey, considerando al tratamiento CC-21-NC como referencia, ya que presentó la mayor tasa de supervivencia (96,93 %). En este contexto, el tratamiento CC-7-NC mostró una diferencia mínima de solo 0,11 % respecto al CC-21-NC, lo que indica una alta supervivencia en períodos cortos de exposición. Por su parte, el CC-14-NC presentó una diferencia algo mayor de 1,53 %, indicando una ligera reducción de la supervivencia en dicho período del estudio. En contraste, los tratamientos sin consorcio bacteriano (SC) mostraron diferencias más pronunciadas, como SC-21-NC, con la menor diferencia entre los SC de 8,36 %, lo que revela el incremento significativo de la supervivencia a lo largo del tiempo. SC-14-NC y SC-7-NC presentaron las mayores diferencias, con 18,35 % y 16,33 % respectivamente.

Tabla 10. Relación del tratamiento con mejor resultado (CC-21-NC) entre los demás tratamientos que indican la diferencia porcentual de la supervivencia de PL de *L. vannamei*.

Tratamientos	Supervivencia (%)	Diferencia porcentual con CC-21-NC (96,93%)
CC-7-NC	96,82 ± 6,67	0,11
CC-14-NC	95,40 ± 3,33	1,53
SC-7-NC	80,60 ± 14,53	16,33
SC-14-NC	78,58 ± 3,33	18,35
SC-21-NC	88,57 ± 6,67	8,36

La diferencia más notable entre CC y SC (Tabla 11), se observa en los primeros 7 días (16,22 %), dichos resultados evidencian resultados demuestran una ventaja consistente del CC en todos los períodos, con diferencias de supervivencia del 16,22 %, 16,82 % y 8,36 % respectivamente. La mejor tasa de supervivencia se observa en las etapas finales de los tratamientos CC-21-C y SC-21-C, muestra alta supervivencia bajo el tratamiento de un consorcio bacterianos previo a la exposición por *Vibrios* y también resalta una mejor supervivencia en los tratamientos sin consorcio (SC).

Tabla 11. Comparación entre tratamientos con consorcio (CC) y sin consorcio (SC), previo al desafío, que revelan la supervivencia y diferencia porcentual de PL de *L. vannamei*.

Comparación	Tratamientos	Supervivencia (%)	Tratamientos	Supervivencia (%)	Diferencia porcentual (%)
1	CC-7-NC	96,82 ± 6,67	SC-7-NC	80,60 ± 14,53	16,22
2	CC-14-NC	95,40 ± 3,33	SC-14-NC	78,58 ± 3,33	16,82
3	CC-21-NC	96,93 ± 3,85	SC-21-NC	88,57 ± 6,67	8,36

La Tabla 12, según el análisis ANOVA de una vía, indica diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de las postlarvas entre los tratamientos experimentales, presentando un p-valor bajo de 0,001 valor menor que alfa (0,05). La suma de cuadrados entre grupos fue considerablemente mayor que la suma de cuadrados dentro de grupos, lo que se demuestra en el alto valor del estadístico F. Los resultados sugieren que al menos uno de los tratamientos estudiados difiere significativamente de los demás en términos de supervivencia de las postlarvas.

Tabla 12. Análisis ANOVA de una vía previo a la contaminación por *Vibrios*

ANOVA DE UNA VÍA

Supervivencia (%).

	Suma de Cuadrados	df	Cuadrado medio	F	p-valor
Entre Grupos	11618.545	6	1936.424	4.842	.000
Dentro de Grupos	87591.360	219	399.961		
Total	99209.905	225			

Los resultados de la prueba de Tukey HSD (Tabla 13), se obtuvo que los tratamientos (CC-7-NC: 96,82%; CC-14-NC: 95,40%; CC-21-NC, 96,63% y SC-21-NC: 88,57%). son los mejores resultados sin diferencias entre ellos, pero si presentan diferencias que revelan diferencias significativas en la supervivencia de postlarvas entre los tratamientos con y sin consorcio bacteriano comercial (CC-14-NC: 95,40%; SC-21-NC: 88,57% y SC-7-NC: 80,60%). Los tratamientos con consorcio bacteriano (CC) mostraron consistentemente tasas de supervivencia superiores al 95% Notablemente, la supervivencia en tratamientos CC, se mantuvo estable a lo largo del tiempo (7, 14 y 21 días), mientras que en los tratamientos SC, se observó una tendencia ascendente, aunque

sin alcanzar los niveles de los tratamientos CC, mostrando los valores más bajo que aunque muestras similitud entre ellos, son diferentes a los demás resultados (SC-21-NC:88,57%; SC-7-NC: 80,60% y SC-14-NC: 78,58%).

Tabla 13. Supervivencia de postlarvas de *L. vannamei* bajo tratamiento con un consorcio bacteriano y sin períodos de exposición por *Vibrios*, según el Análisis de varianza Tukey.

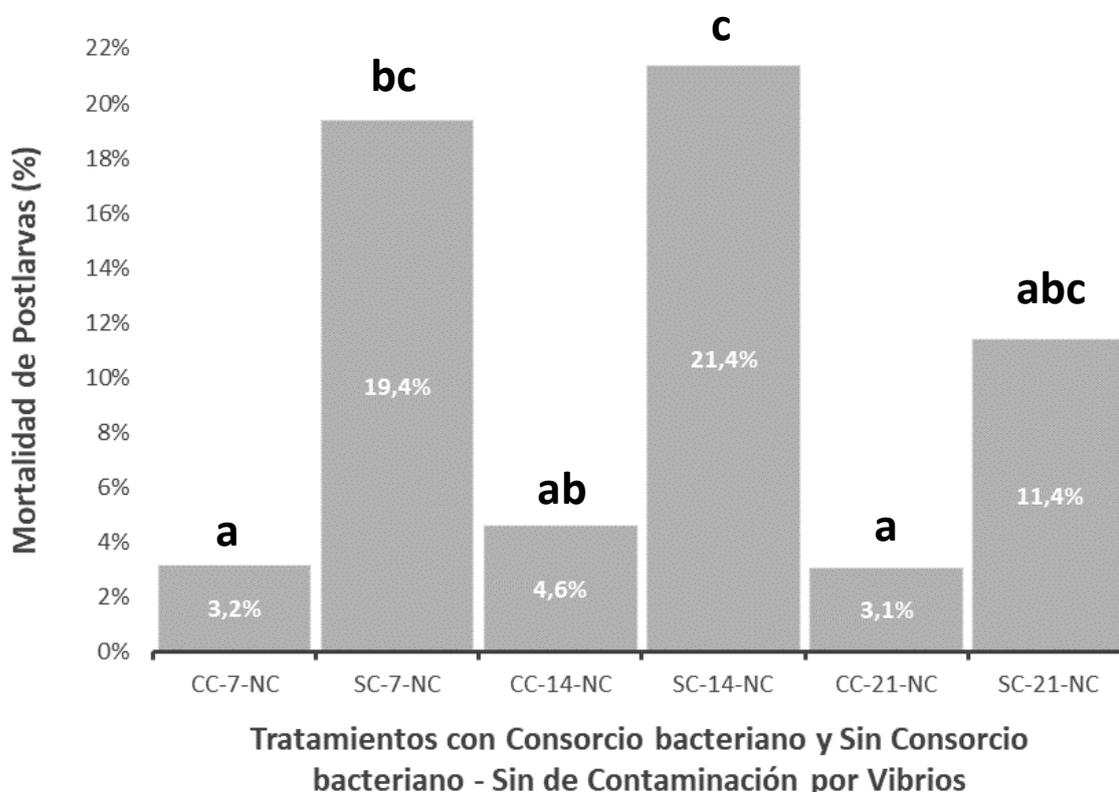
Supervivencia (%).

Tukey HSD^{a,b}

Consortio bacteriano- sin contaminación con <i>Vibrios</i>	n	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SC-14-NC.	21	78.58		
SC-7-NC.	21	80.60	80.60	
SC-21-NC.	21	88.57	88.57	88.57
CC-14-NC.	42		95.40	95.40
CC-7-NC.	21			96.82
CC-21-NC.	63			96.93
Significance		.510	.091	.623

La Fig. 4 ilustra la mortalidad de las postlarvas de *L. vannamei* bajo diferentes condiciones de tratamiento con consorcio bacteriano (CC) y sin consorcio (SC) en los tres momentos de contaminación (11, 18 y 25 días). Los tratamientos CC-7-NC y CC-21-NC, muestran baja mortalidad (3,2 % y 3,1 % respectivamente), sin diferencias significativas entre sí, el tratamiento CC-14-NC con 4,6 % de mortalidad es estadísticamente similar a estos y a SC-21-NC (11,4 %). Los tratamientos SC-7-NC y SC-14-NC presentan la más elevada mortalidad (19,4 % y 21,4 %), sin diferir significativamente entre ellos. En todos los casos, los tratamientos con consorcio superan con bajas mortalidades a sus contrapartes sin consorcio, siendo esta diferencia más marcada a los 11 días (CC-7-NC y

SC-7-NC), y aumentando la mortalidad gradualmente a los 18 días (CC-14-NC y SC-17-NC) y disminuyendo a los 25 días (CC-21-NC y SC-21-NC).



*Figura 4. Mortalidad de PL de *L. vannamei* bajo la administración de un consorcio bacteriano y sin contaminación por *Vibrios**

3.2 Supervivencia de PL de *L. vannamei* en Razón del Tiempo de Administración de un Consorcio Bacteriano tras el Desafío por *Vibrios*.

3.2.1 Supervivencia de PL en 7 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-7-C)

Después de los 7 días se aplicó un desafío con *Vibrios* por 96 horas con una concentración de 300×10^5 UFC/ml en el tratamiento de control sin consorcio (SC) y con consorcio (CC). En la tabla 14, resalta que el tratamiento sin consorcio presentó mortalidad después de la contaminación, disminuyendo su supervivencia del 76,7% al 71,10%, mientras que el tratamiento con consorcio bacteriano las PL tuvieron mayor resistencia, registrando un porcentaje final de 93,3%.

Tabla 14. Supervivencia de lo tratamiento 1 durante 7 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío

DESAFIO DEL TRATAMIENTO 1		
DIAS	SIN CONSORCIO (%)	CON CONSORCIO (%)
DÍA 8	71,1	93,3
DÍA 9	71,1	93,3
DÍA 10	71,1	93,3
DÍA 11	71,1	93,3

3.2.2 Supervivencia de PL en 14 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-14-C)

Después de los 14 días se aplicó un desafío con *Vibrios* por 96 horas con la misma concentración de 1×10^5 UFC/ml en 300 ml en el tratamiento de control sin consorcio (SC) y con consorcio (CC). En la tabla 15, resalta que el tratamiento sin consorcio presentó mortalidad después de la contaminación, disminuyendo su supervivencia del 83,33% al 73,33%, mientras que el tratamiento con consorcio bacteriano las PL tuvieron mayor resistencia, registrando un porcentaje final de 90%.

Tabla 15. Supervivencia de lo tratamiento 2 durante 14 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío

DESAFIO DEL TRATAMIENTO 2		
DIAS	SIN CONSORCIO (%)	CON CONSORCIO (%)
DÍA 15	76,7	90
DÍA 16	74,4	90
DÍA 17	73,3	90
DÍA 18	73,3	90

3.2.3 Supervivencia de PL en 21 días de administración de un Consorcio bacteriano (CC-21-C)

Después de los 21 días se aplicó un desafío con *Vibrios* por 96 horas con la misma concentración de 1×10^5 UFC/ml en 300 ml en el tratamiento de control sin consorcio (SC) y con consorcio (CC). En la tabla 16, resalta que el tratamiento sin consorcio presentó mortalidad después de la contaminación, disminuyendo su supervivencia del 90% al 84,4%, mientras que el tratamiento con consorcio bacteriano las PL tuvieron mayor resistencia, registrando un porcentaje final de 94,44%.

Tabla 16. Supervivencia de lo tratamiento 3 durante 21 días de administración del consorcio bacteriano tras el desafío

DESAFIO DEL TRATAMIENTO 3		
DIAS	SIN CONSORCIO (%)	CON CONSORCIO (%)
DÍA 22	86,7	94,4

DÍA 23	84,4	94,4
DÍA 24	84,4	94,4
DÍA 25	84,4	94,4

La Tabla 17 indica un análisis comparativo entre los tratamientos contaminados por *Vibrios* según los resultados del análisis de varianza Tukey, utilizando al tratamiento con mejor supervivencia CC-21-C (94,43 %) como referencia, se observan diferencias porcentuales significativas. Los tratamientos con consorcio bacteriano mostraron una supervivencia superior, con CC-7-C presentando solo una diferencia del 1,10 % y CC-14-C del 4,43 %. En cambio, los tratamientos sin consorcio exhibieron diferencias más pronunciadas, SC-7-C con 23,33 %, SC-14-C con 19,98 % y SC-21-C con 9,44%. Estos resultados revelan el aumento de la supervivencia con consorcio bacteriano, especialmente en la etapa final los tratamientos experimentales (CC-21-C). La reducción de las diferencias en los tratamientos SC se observan a medida que avanzaba la finalización de la observación del último tratamiento experimental.

Tabla 17. Relación del tratamiento con mejor resultado (CC-21-C) entre los demás tratamientos que indican la diferencia porcentual de la supervivencia de PL de *L. vannamei*.

Tratamientos	Supervivencia (%)	Diferencia porcentual con CC-21-C (94,43%)
CC-7-C	93,33 ± 6,67	1,10
CC-14-C	90 ± 3,33	4,43
SC-7-C	71,10 ± 10,18	23,33
SC-14-C	74,45 ± 6,67	19,98
SC-21-C	84,99 ± 1,92	9,44

Los resultados de la Tabla 18 comparan y demuestran una ventaja consistente del tratamiento CC en todos los períodos, con diferencias de supervivencia del 22,23 %, 15,55 % y 9,44 % a los 7, 14 y 21 días, respectivamente. La más alta supervivencia se observa en las etapas finales de los tratamientos CC-21-C y SC-21-C, donde los resultados muestran un incremento de la tasa de supervivencia frente a los tratamientos con exposición a *Vibrios* con una diferencia menor de 11,94 %.

Tabla 18. Comparación entre tratamientos con consorcio (CC) y sin consorcio (SC), previo al desafío, que revelan la supervivencia y diferencia porcentual de PL de *L. vannamei*.

Comparación	Tratamientos	Supervivencia (%)	Tratamientos	Supervivencia (%)	Diferencia porcentual (%)
1	CC-7-C	93,33 ± 6,67	SC-7-C	71,10 ± 10,18	22,23
2	CC-14-C	90 ± 3,33	SC-14-C	74,45 ± 6,67	15,55
3	CC-21-C	94,43 ± 5,09	SC-21-C	84,99 ± 1,92	11,94

El análisis ANOVA de una vía revela diferencias altamente significativas en la supervivencia de las postlarvas entre los diferentes tratamientos (Tabla 19). La suma de cuadrados entre grupos fue considerablemente mayor que la suma de cuadrados dentro de grupos, lo que se refleja en el alto valor del estadístico F. Los resultados indican que al menos uno de los tratamientos difiere significativamente de los demás en términos de supervivencia de las postlarvas. El p-valor bajo ($p < 0.001$) proporciona fuerte evidencia estadística de que las diferencias observadas no son producto del azar, sino que refleja un efecto real de los tratamientos aplicados. Los datos reflejados apoyan que el uso del consorcio bacteriano y el tiempo de exposición tienen un impacto significativo en la supervivencia de las postlarvas frente a la contaminación por *Vibrios*.

Tabla 19. Análisis ANOVA de una vía tras la contaminación por *Vibrios*.

ANOVA DE UNA VÍA

Supervivencia (%).

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	p-valor
Entre Grupos	5849.614	5	1169.923	40.259	.000
Dentro de Grupos	1917.932	66	29.060		
Total	7767.547	71			

La prueba de Tukey HSD revela diferencias significativas en la supervivencia de postlarvas expuestas a la contaminación *Vibrios* por 96 horas (4 días). Se identificaron tres subconjuntos estadísticamente diferentes. Los tratamientos sin consorcio bacteriano a los 7 y 14 días (SC-7-C y SC-14-C) mostraron la menor supervivencia (71,10 % y 74,45 % respectivamente), sin diferir significativamente entre sí. El tratamiento sin consorcio a los 21 días (SC-21-C) y con consorcio a los 14 días (CC-14-C) formaron un grupo

intermedio (84,99 % y 90 %) Los tratamientos con consorcio bacteriano en todos los períodos (CC-7-C, CC-14-C Y CC-21-C) exhibieron la mayor supervivencia (Tabla 19), sin diferencias significativas entre ellos. Notablemente, CC-14-C no difirió significativamente de SC-21-C ni de los otros tratamientos con consorcio.

Tabla 20. Supervivencia de postlarvas de *L. vannamei* bajo tratamiento con un consorcio bacteriano y después de la exposición por *Vibrios*, según el Análisis de varianza Tukey.

Supervivencia (%).

Tukey HSD^a

Consortio bacteriano- momento de contaminación con <i>Vibrios</i>	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SC-7-C.	12	71.10		
SC-14-C.	12	74.45		
SC-21-C.	12		84.99	
CC-14-C.	12		90.00	90.00
CC-7-C.	12			93.33
CC-21-C.	12			94.43
Significance		.651	.219	.345

La Fig. 5, muestra una clara diferencia en la mortalidad de postlarvas entre los tratamientos con consorcio bacteriano (CC) y sin consorcio (SC) en tres períodos de exposición del probiótico. En el período de 7 días, CC-7-C registró una baja mortalidad, superando significativamente el tratamiento SC-7-C (28,9 %) con una diferencia de 22,2 %. Dicha tendencia se mantuvo a los 14 días, donde CC-14-C alcanzó una mortalidad del 10 % frente al incremento del 25,6 % de SC-14-C. A los 21 días, CC-21-C mostró la menor mortalidad, mientras que SC-21-C logró un 15%. Es notable que todos los tratamientos CC mantuvieron consistentemente una baja mortalidad menor del 10% en todos los períodos. En contraste, los tratamientos SC mostraron una tendencia descendente, iniciando en 28,9 % a los 7 días y decreciendo hasta el 15 % a los 21 días.

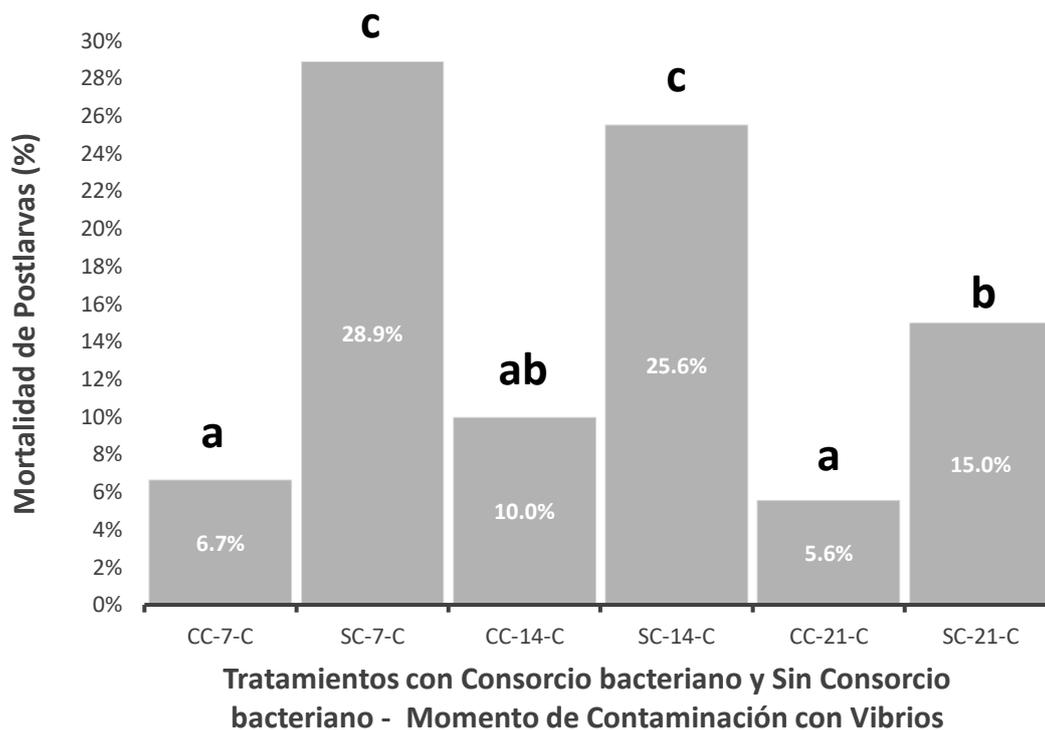


Figura 5. Mortalidad de PL de *L. vannamei* bajo la administración de un consorcio bacteriano y ante la contaminación por *Vibrios*

La Figura 6 ilustra la mortalidad de postlarvas de *L. vannamei*, bajo la administración de un consorcio bacterio, previo y ante la contaminación por *Vibrios*. Se observa una variación significativa en las tasas de mortalidad entre los tratamientos, indicando una baja mortalidad (3,1 %) en el tratamiento CC-21-C hasta un incremento en el tratamiento SC-7-NC de 28,9 %. Los tratamientos con el consorcio bacteriano (CC) exhibe una tasa de mortalidad más baja en comparación con los tratamientos sin consorcio (SC), independientemente del período de tiempo. Además, se revela un patrón donde la contaminación por *Vibrios* (NC) tiende a incrementar la mortalidad en comparación con los tratamientos no contaminados (C).

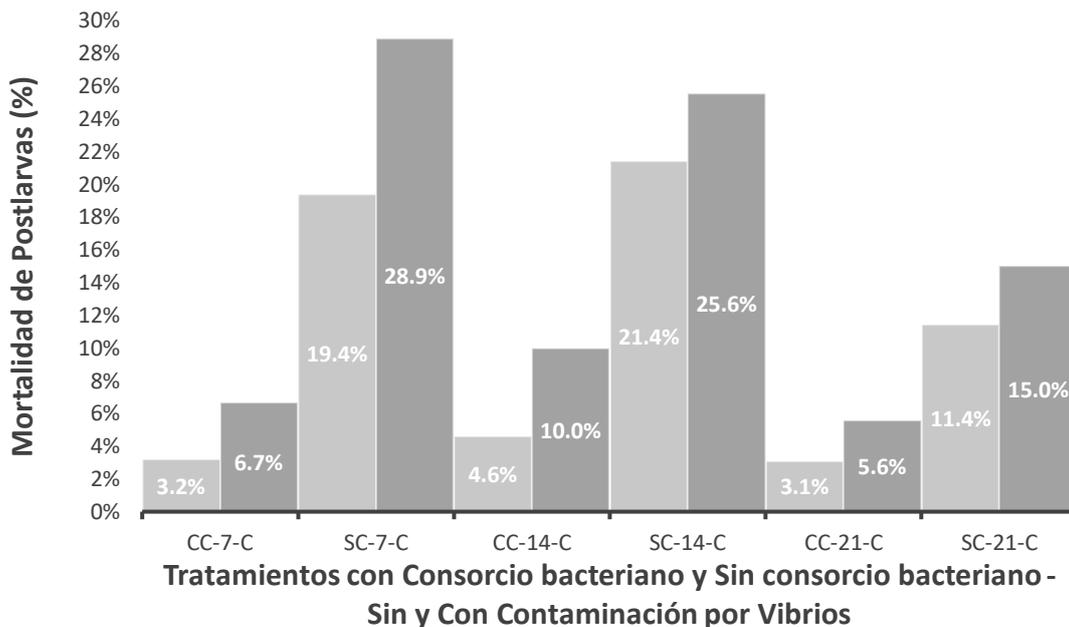


Figura 6. Mortalidad de PL de *L. vannamei* bajo la administración de un consorcio bacteriano. Comparación de los tratamientos previo y tras la contaminación por *Vibrios*

Los resultados de la Figura 7, muestran una variación en el peso y la supervivencia de postlarvas (PL) a través de tres tratamientos. Inicialmente, cada tratamiento comenzó con 30 PL, todas con un peso promedio inicial de 48 mg. Al final, el Tratamiento 1 (7 días de consorcio bacteriano) resultó con un peso promedio de 90,8 mg con una supervivencia promedio de 26 PL (86,67 %); el Tratamiento 2 (14 días de consorcio bacteriano) alcanzó un peso de 101,6 mg con 27 PL (90 %) y el Tratamiento 3 logró el mayor peso promedio final con 142 mg con la supervivencia más alta de 28 PL (93,33%). Se observa una relación positiva entre el incremento de peso y la tasa de supervivencia a través de los tratamientos, donde el Tratamiento 3 (21 días de consorcio bacteriano) resalta el mejor crecimiento como supervivencia, el incremento en peso también se pronunció con un aumento de 94 mg por PL; seguido del Tratamiento 2 con 53,6 mg por PL y el Tratamiento 1 con 42,8 mg. Los datos indican una eficiencia diferencial entre los tratamientos en términos de aumento del crecimiento y mantenimiento de las PL.

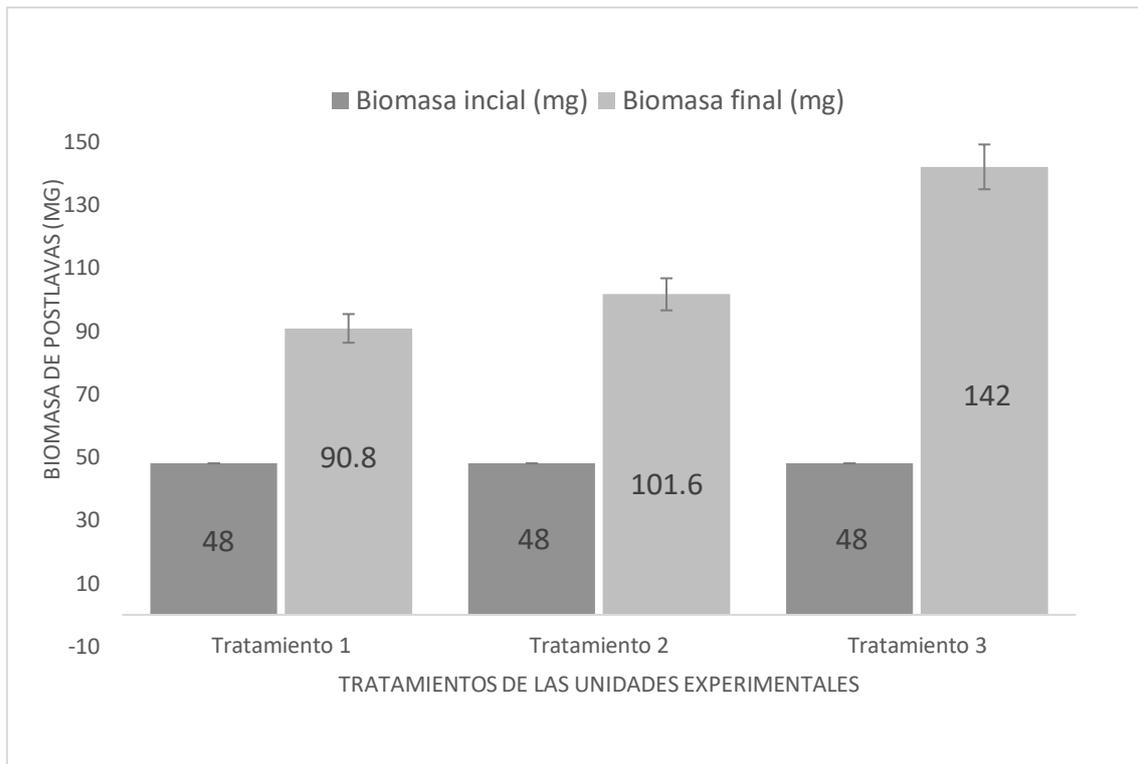


Figura 7. Biomasa promedio de las PL de *L. vannamei* en los tratamientos experimentales al inicio y final de la investigación

IV. DISCUSIONES

Los resultados mostraron tasas de supervivencia notablemente altas en los tratamientos con consorcio y sin desafío por *Vibrios* (96,93 % en CC-21-NC, 96,82% en CC-7-NC y 95,4 % en CC-14-NC) incluso con una densidad baja de siembra de 1PL/L, superando incluso las tasas reportadas por Luna y colaboradores. En su estudio, Luna et al. (2013) reportaron una supervivencia del 100% en todos sus tratamientos sin aplicar un desafío de infección, donde se introdujeron bacterias probióticas, específicamente ácidos lácticos y levaduras, a un grupo de 10 organismos de *Litopenaeus vannamei* con un peso promedio de 9.96 ± 3.18 g. El probiótico se administró a una dosis de 8.5 mg/kg de alimento durante un período de 25 días, utilizando tinajas ovaladas con una capacidad total de 120 L, aunque solo se usaron 80 L de su capacidad y, implementaron cuatro tratamientos: control (sin probiótico), alimento + probiótico (administrado diariamente desde el inicio hasta el final), alimento + probiótico (cada 3 días) y alimento + probiótico (cada 6 días). Los resultados mostraron una supervivencia mayor en todos los tratamientos hasta el fin de la administración del probiótico, con el mayor crecimiento observado en los camarones del tratamiento con aplicación de probiótico cada 3 días. Estos resultados están en línea con Maura (2023) que investigó el uso de dos enfoques probióticos en *Litopenaeus vannamei* (PL5). En el primer enfoque se utilizó *Bacillus sp.*, mientras que en el segundo se aplicó una combinación de *Bacillus*, betaglucanos, levaduras y complejos enzimáticos. Se emplearon 133 organismos por litro y se llevaron a cabo en seis tanques de concreto con capacidad de 30 toneladas cada uno. El experimento incluyó tres tratamientos con dos réplicas cada uno, y se dividió en cuatro ciclos: los primeros tres de 17 días cada uno y el cuarto de 19 días. El tratamiento combinado (tercero) mostró una supervivencia del 70% en la etapa larval, demostrando que la aplicación de bacterias beneficiosas como *Bacillus*, contribuyen de manera positiva en el crecimiento y supervivencia de los organismos. Así mismo al aplicar una continua dosificación del probiótico hasta los 21 días, generó una buena carga de bacterias beneficiosas, tal como lo menciona Verschuere et al. (2000b), quién menciona que para obtener una colonización continua a altas densidades y por lo tanto conseguir mejores resultados en la supervivencia del camarón, es necesario suministrar el probiótico de forma regular durante todo el cultivo.

Un hallazgo importante del estudio experimental es la eficacia del consorcio bacteriano incluso en períodos cortos de exposición. El tratamiento donde se aplicó consorcio bacteriano hasta los 7 días tras la contaminación por vibrios (CC-7-C) mostró una diferencia mínima de solo 1,10% en la tasa de supervivencia respecto al CC-21-C, sugiriendo que incluso una semana de administración del consorcio puede proporcionar una protección significativa contra *Vibrio sp.*, mientras que los resultados (Intriago et al., 2018) obtuvieron tasas de supervivencia del 81% y 87% en los tratamientos con probióticos, comparando con un 77% en el grupo de control, el estudio contaba con una densidad de siembra de 30 PL/L por tratamiento con un peso de 0,61 gramos/PL en cubetas de 18 L, y la administración de probiótico se realizó con una dosis de 0,01ml/g de alimento, donde los autores atribuyen la diferencia en los resultados de supervivencia a varios factores, incluyendo la composición específica del consorcio bacteriano utilizado, la dosis aplicada, y las condiciones experimentales particulares de cada estudio. Por otro lado, aunque utiliza una concentración de infección de *Vibrio* más alta en el estudio (10^5 vs 10^4 en el estudio de los autores), los resultados de las tasas de supervivencia fueron superiores al 90% tras la infección con *Vibrio*.

En cuanto al crecimiento, aunque la investigación se enfocó en la supervivencia, es notable que los pesos finales (0,091 g en T1, 0,1016 g en T2 y 0,142 g en T3) fueron menores que los reportados por Melgar et al. (2013), quienes utilizaron PL de *Litopenaeus vannamei* a una densidad de 45 postlarvas/m², con un peso inicial de 0.002 g. El experimento tuvo una duración de 120 días, lo cuales reportaron un peso final de 11,7 g y 8,06 g en sus dos tratamiento realizados (EM1 y EM2) con tasas de supervivencias de 61 y 60% respectivamente, está diferencia es esperada dado que en el experimento se realizó con menos densidad de siembra en un período más corto de cultivo y en pocos volúmenes de agua. Al tener una densidad de cultivo baja de 1 PL/Litro en 30 L de agua, tuvimos mejores condiciones, por lo tanto, una mejor supervivencia, los resultados de Mendoza & Párraga (2021) refuerzan la importancia de la densidad de cultivo en la tasa de supervivencia del *L. vannamei*, su estudio utilizó una densidad mucho mayor de 20,000 nauplios distribuidos equitativamente entre el grupo de control y el de tratamiento, en un tanque de 3 toneladas. El probiótico se administró mediante alimento orgánico a una dosis de 1.5 mL/L durante 105 días, y obtuvo tasas de supervivencia significativamente más bajas de 65,19% en tratamiento con probióticos y 48% en el control.

La combinación del consorcio bacteriano que incluye *Bacillus*, se utiliza como microorganismos benéficos en los sistemas acuícolas, los resultados indican que contribuyeron en el efecto antagónico con los *Vibrios*, y según lo que relata Villaseñor et al. (2011), los aislamientos de *Bacillus* que probaron inhibieron a las cepas patógenas de *Vibrio* y no dañaron a sus larvas en el proceso. Sin embargo, la mortalidad presentados en los resultados pudo ser causada por otros parámetros como el oxígeno, pH, salinidad o amonio, tal como lo muestra Mugnier et al. (2013) que factores externos pueden llegar a ser estresantes para el animal y llegan a anticipar la incubación del patógeno, manifestando síntomas en etapas iniciales. La manipulación causada en el estudio por la medición de las variables como el peso, pudo causar efectos estresantes en el cultivo, lo que provocaría parte de la mortalidad antes de aplicar el desafío, como mencionan los resultados de Wenlong et al. (2023) donde se aplicaron administraron *Lactobacillus*, y que demostraron que el estrés conduce a un crecimiento lento y reduce la tasa de crecimiento como la supervivencia de camarón, lo que causa daño tisular severo en la hepatopáncreas y los intestinos del camarón.

Otro punto crucial para conseguir estos resultados fue la calidad de agua. El consorcio bacteriano estaba compuesto con *Nitrosomonas sp.* y *Nitrobacter sp.*, lo que nos brindó una mejor calidad de agua, ya que dichas bacterias juegan un papel crucial en el ciclo del nitrógeno, ayudando a la disminución de amoníaco que es tóxico para los organismos acuáticos, tal como lo sugiere Soltani et al. (2019) la aplicación de bacterias benéficas al agua puede eliminar productos de desecho de los entornos del cultivo, lo que mantiene la calidad y reduce el estrés, lo que conduce a un mejor equilibrio fisiológico, un mejor crecimiento y mayor tasas de supervivencia. La reducción de la concentración de compuestos nitrogenados tóxicos es importante, esto contrasta como lo revelado por Qiufen (2022) quien indica en sus resultados utilizando probióticos disminuyó significativamente los compuestos nitrogenados tóxicos, reduciendo los niveles de materia orgánica, y los microorganismos patógenos, logrando modular la comunidad microbiana del agua y los sedimentos, mejorando el medio de cultivo.

V. CONCLUSIONES

- De acuerdo con los objetivos planteados, todos los tratamientos con consorcio bacteriano (CC) mostraron una alta supervivencia superior al 90%. El tratamiento 3, que incluyó consorcio bacteriano hasta los 21 días y con desafío por *Vibrios*, tuvo la mayor supervivencia con un 93,33%. Aunque la diferencia entre tratamiento fue modesta, se destaca la importancia de usar consorcios bacterianos en etapas tempranas y a largo plazo para mejorar la supervivencia y el crecimiento del Camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).
- La administración del consorcio bacteriano durante 21 días (CC-21) demostró ser la más efectiva para la inhibición de *Vibrios*, con una tasa de supervivencia del 94,43%. Aunque incluso períodos cortos fueron eficaces, estos resultados sugieren que 21 días de administración ofrecen la mejor protección con dicho patógeno.
- Por último, los datos presentados comprueban que el crecimiento y el peso de las postlarvas son factores determinantes en su supervivencia. Algunos tratamientos que lograron promover un aumento de peso más significativo, como el Tratamiento 3 (CC-21), que registraron las tasas de supervivencia más elevadas, lo que resalta la importancia del crecimiento de los organismos junto con la administración de un consorcio bacteriano para favorecer el desarrollo saludable de las postlarvas en un cultivo.
- Así como obtuvimos buena supervivencia en el tratamiento 3 (21 días), los resultados en la mortalidad fue alta en las primeras semanas del tratamiento 1 y 2, por lo tanto, parte de la esa alta tasa de mortalidad se debe a la excesiva manipulación de los organismos para la medición de las variables como el pesaje y conteo de los organismos diariamente para medir la supervivencia, como también el diario recambio de agua (3%), dicha manipulación causó estrés por lo que, probablemente influyó en mortalidad alta en las primeras semanas al previo y al momento de la contaminación por *Vibrios*.

VI. RECOMENDACIONES

- Para futuros trabajos se recomienda tener más cuidado en la medición de variables, ya que la manipulación de los organismos de estudio puede causar problemas como enfermedades y altas mortalidades.
- Evaluar el consorcio bacteriano seleccionado en mayores densidades de cultivo, para tener resultados más exactos para la práctica en campo.
- Realizar análisis de la carga bacteriana del agua, y los organismos antes de iniciar cultivo, para tener un mayor conocimiento de la carga antes de realizar la administración de un consorcio bacteriano.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, A. (1991). Detection of *Vibrio parahaemolyticus* biotype *alginolyticus* in penaeid shrimps using an amplified enzyme-linked immunosorbent assay. *Aquaculture*, *93*(2), 101–108. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90209-P](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90209-P)
- Aguirre, G., López, E. A., & Vázquez, M. de la L. (2013). *Efecto de Vibrio harveyi en la sobre vivencia de larvas de Litopenaeus vannamei*. www.sci-agropecu.unitru.edu.pe
- Aguirre, L. E., Sánchez, H. A., & Ordinola, A. (2021). Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *32*(4), 2–11. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i4.19386>
- Amelia, R., Philip, K., Pratama, Y. E., & Purwati, E. (2021). Characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from dadiah sampled in West Sumatra. *Food Science and Technology*, *41*(suppl 2), 746–752. <https://doi.org/10.1590/fst.30020>
- Amin, M., Pramujisunu, Y., Cahyani, N. K. D., Mukti, A. T., Lamid, M., Ali, M., & Eroldoğan, O. T. (2023). The structure, composition, and predicted microbiome functional genes in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) grow-out ponds with different survival rates through high-throughput sequencing. *Aquatic Sciences*, *85*(3), 84. <https://doi.org/10.1007/s00027-023-00979-3>
- Balcázar, J. L., & Rojas, T. (2007). Inhibitory Activity of Probiotic *Bacillus subtilis* UTM 126 Against *Vibrio* Species Confers Protection Against Vibriosis in Juvenile Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Current Microbiology*, *55*(5), 409–412. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9000-0>
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, *4*(4), 665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
- Camacho, J. D., & Prado, M. L. (2019). *Supervivencia y respuestas inmunitarias de juveniles Litopenaeus vannamei mejorados genéticamente, infectados con vibrio sp. y pseudomonas sp.* [Tesis de Grado, Universidad Nacional de Tumbes]. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/284/TESIS%20-%20CAMACHO%20Y%20PRADO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cao, H., Chen, D., Guo, L., Jv, R., Xin, Y., Mo, W., Wang, C., Li, P., & Wang, H. (2022). Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance and intestinal flora of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, *23*, 101070. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101070>
- Casas, M., & Ponce, G. (2018). *Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur*. <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/888/1/Estudio%20del%20Potencial%20Pesquero%20y%20Acuicola%20de%20BCS%20Volumen-II.pdf#page=206>
- Castillo, B. del C., & Velásquez, P. C. (2021). Manejo estacional de los sistemas de producción de camarón en el Ecuador. *Sociedad & Tecnología*, *4*(3), 447–461. <https://doi.org/10.51247/st.v4i3.151>
- Delgado, L. M., Paz, N. E., Molina, N. E., & Navarrete, A. (2022). Incorporación de bacterias ácido lácticas nativas como probióticos en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus*

- vannamei (Boone 1931) en la camaronera Las Ánimas, El Salvador. *Revista Minerva*, 3(1), 81–97. <https://doi.org/10.5377/revminerva.v3i1.12473>
- Escobar, L., Olvera, M. A., & Puerto, C. (2006). *Avances Sobre la Ecología Microbiana del Tracto Digestivo de la Tilapia y Sus Potenciales Implicaciones*. <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/164>
- FAO. (1988). *Manual para la cría de camarones peneidos*. <https://www.fao.org/3/AB466S/AB466S00.htm#TOC>
- FAO. (2009). *Penaeus vannamei*. In *Cultured Aquatic Species Fact Sheets*. , 1–14. https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_whitelegshrimp.htm
- Galaviz, L., Robles, A., Sánchez, R., Ibarra, J. C., Gómez, B., & Molina, Z. J. (2021). Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que causan necrosis hepatopancreática aguda en camarón cultivado de Sonora, México y su resistencia a antibióticos. *Hidrobiológica*, 31(2), 111–123. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dCBS/hidro/2021v31n2/Galaviz>
- Godínez, D. E., Chávez, M. C., & Gómez, S. (2011). Acuicultura epicontinental del camarón blanco del pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(1), 55–62. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93915703004>
- Gomez, B., Roque, A., & Soto, S. A. (2015). *Vibriosis en camarones y su diagnóstico*. https://www.researchgate.net/profile/Bruno-Gomez-Gil/publication/235636525_Vibriosis_en_camarones_y_su_diagnostico_vibriosis_in_shrimp_and_its_diagnosis/links/0fcfd51224b70b98a0000000/Vibriosis-en-camarones-y-su-diagnostico-vibriosis-in-shrimp-and-its-diagnosis.pdf
- Goytortúa, E., Andrade, K., Cadena, M. A., & Civera, R. (2023). *Manual para la identificación de estadios larvales del camarón blanco del pacífico Litopenaeus vannamei*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, SC. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/3175>
- Han, J. E., Mohny, L. L., Tang, K. F. J., Pantoja, C. R., & Lightner, D. V. (2015). Plasmid mediated tetracycline resistance of *Vibrio parahaemolyticus* associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimps. *Aquaculture Reports*, 2, 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.04.003>
- Intriago, J., Quimi Mujica, J., Risco, J., Lopez, J., Yalta, J., Bermudez, M., Lindo, E., Lajones, G., Sernaque, V., Dominguez, L., Martinez, Z., Darricau, E., Cedeño, V., & Mialhe, E. (2018). Metagenómica de la microbiota de juveniles del *Litopenaeus vannamei* inoculados con bacterias probióticas y patógenas. *Revista AquaTIC*, 51, 16–29. <http://www.revistaaquatic.com>
- Kewcharoen, W., & Srisapome, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 175–189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>
- Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., Bass, D., & Tyler, C. R. (2021). Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 324–352. <https://doi.org/10.1111/raq.12477>

- Leyton, Y., & Riquelme, C. (2008). Vibrios en los sistemas marinos costeros. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3), 441–456. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572008000300004>
- Liévin, V. (2016). A gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agent: the heat-treated *Lactobacillus* LB. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 9(1), 57–75. <https://doi.org/10.1177/1756283X15602831>
- Luna, A., Moreno, J., Campa, Á., González, H., Fierro, J., Álvarez, P., & Bueno, M. (2013). Respuesta inmune y expresión de genes en el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) inducida por inmunoestimulantes microbianos. *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 41(5), 898–907.
- Maura, G. (2023). *Evaluación De Probióticos Comerciales En El Crecimiento, Supervivencia Y Estado Sanitario Del Camarón Blanco (Litopenaeus Vannamei) Cultivado Bajo Condiciones De Laboratorio* [Biología, Universidad Estatal de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/10132>
- Melgar, C., Macías, E., Álvarez, C., Tovilla, C., & Sánchez, A. (2013). *Revista de Biología Tropical*, 61(3), 1215–1228.
- Mendoza, J., & Párraga, J. (2021). *Actividad Probiótica Del Cóctel Microbiano (Lactobacillus Plantarum Y Acidophilus, Bacillus Subtilis, Saccharomyces Cerevisiae, Chlorella Vulgaris) En Sanidad Y Producción Del Camarón (Litopenaeus Vannamei)* [Veterinaria, Escuela Superior Politécnica Agropecuarias de Manabí Manuel Félix López]. <http://repositorio.esпам.edu.ec/handle/42000/1615>
- Molina, Z. J., Cázares, G. E., Ibarra, J. C., & Galaviz, L. (2021). Actividad antagónica de bacterias aisladas de ecosistemas marinos frente a *Vibrio parahaemolyticus* AHPND como patógeno de camarón en cultivos. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura*, 3(2), 78–90. <https://doi.org/10.33936/at.v3i2.3800>
- Mugnier, C., Justou, C., Lemonnier, H., Patrois, J., Ansquer, D., Goarant, C., & Lecoz, J. (2013, April). Evaluación de los parámetros biológicos, fisiológicos, inmunológicos y nutricionales en camarones *Litopenaeus* afectados por vibriosis. *Revista Aquaculture*. https://www.academia.edu/67833154/Evaluaci%C3%B3n_de_los_par%C3%A1metros_biol%C3%B3gicos_fisiol%C3%B3gicos_inmunol%C3%B3gicos_y_nutricionales_en_camarones_Litopenaeus_stylirostris_afectados_por_vibriosis
- Muñoz, D. A. (2022). *Validación de estrategias profilácticas en larvicultura del Camarón Penaeus vannamei en la provincia de Santa Elena, Mar Bravo* [Biología, Universidad Estatal Península de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/8074/1/UPSE-TBI-2022-0020.pdf>
- Pacios, S., Rodríguez, R., Flores, A. C., Chávez, M. L., Ramos, R., Segura, E. P., & Iliina, A. (2019, March). Alternativas para el control de bacterias transmitidas por alimentos. *CienciAcierta*, 2–8. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2019/01/10/alternativas-para-el-control-de-bacterias-transmitidas-por-alimentos/>
- Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P. R., Niranjan, N. R., & Pavitra, P. V. (2018). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 357–362. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.03.005>

- Peña, N., & Varela, A. (2015). Análisis histopatológico en *Litopenaeus vannamei* infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 43–53. <https://doi.org/10.15517/am.v26i1.16892>
- Peña, N., & Varela, A. (2016). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 51(3), 553–564. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300007>
- Pérez, M. de L., Alvarez, Y. M., Soriano, J., & Pérez, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 95–105. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/Perez>
- Phelan, R. W., O'Halloran, J. A., Kennedy, J., Morrissey, J. P., Dobson, A. D., O'Gara, F., & Barbosa, T. M. (2012). Diversity and bioactive potential of endospore-forming bacteria cultured from the marine sponge *Haliclona simulans*. *Journal of Applied Microbiology*, 112(1), 65–78. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05173.x>
- Qiufen, L. (2022). Probiotics for Biofloc System and Water Quality. In C. Saltador (Ed.), *Probiotics in Aquaculture* (pp. 193–202). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-98621-6_9
- Ringø, E., Harikrishnan, R., Soltani, M., & Ghosh, K. (2022). The Effect of Gut Microbiota and Probiotics on Metabolism in Fish and Shrimp. *Animals*, 12(21), 3016. <https://doi.org/10.3390/ani12213016>
- Rodríguez, J. C., Méndez, E., Rivas, A. M., & Cortés, J. A. (2014). Evaluación de la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) silvestre estuarino en el sur de Sinaloa y norte de Nayarit, mediante análisis microbiológico y PCR. *Revista Bio Ciencias*, 2(4), 282–292. <https://doi.org/https://doi.org/10.15741/revbio.02.04.06>
- Ruiz, A. (2021). *Tratamiento con Fagos para Bacterias Multiresistentes* [Ingeniería, Universidad Miguel Hernández]. <http://dspace.umh.es/handle/11000/25908>
- Samadan, G. M., Yuliana, Masril, R., Syazili, A., & Supyan. (2021). Effects of different times of probiotic additions on floc abundance and growth of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Laboratory scale cultivation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 890(1), 012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/890/1/012028>
- Soltani, M., Ghosh, K., Hoseinifar, S. H., Kumar, V., Lymbery, A. J., Roy, S., & Ringø, E. (2019). Genus bacillus, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 27(3), 331–379. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1597010>
- Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Acosta, B., & Real, F. (2009). *Uso de probióticos en Acuicultura*. <https://accedacris.ulpgc.es/handle/10553/12399>
- Sotomayor, M. A., & Balcázar, J. L. (2003). *Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas probióticas* (Vol. 19). <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=156>
- Sotomayor, M. A., Reyes, J. K., Restrepo, L., Domínguez, C., Maldonado, M., & Bayot, B. (2019). Efficacy assessment of commercially available natural products and antibiotics,

- commonly used for mitigation of pathogenic *Vibrio* outbreaks in Ecuadorian *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* hatcheries. *PLoS ONE*, *14*(1), 1–19.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210478>
- Suárez, L. (2021). *El Papel de los Bacteriófagos en la Dispersión de la Resistencia a Antibióticos en el Queso* [Máster universitario, Universidad de Oviedo].
<https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/60227>
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R. M., Mohney, L. L., Pantoja, C. R., Fitzsimmons, K., & Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, *105*(1), 45–55. <https://doi.org/10.3354/dao02621>
- Türkmen, G. (2003). Larval development of the grooved shrimp (*Penaeus kerathurus* Forskal, 1775) under laboratory conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *3*(2), 97–103. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/142006>
- Valencia, G., Frías, M. G., Vanegas, R. C., Chávez, M. C., & Páez, F. (2019). Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *70*, 103193. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.05.002>
- Vallenas, Y. P. A., Bautista, M. F., Llaque, F., & Mendoza, M. E. (2022). Cóctel de bacteriófagos como sustituto de antimicrobianos en dermatología de animales de compañía. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, *9*(2), 97–117.
<https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2022.090200097>
- Vásquez, S. M., Suárez, H., & Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, *36*(1), 64–71. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182009000100007>
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *64*(4), 655–671. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.655-671.2000>
- Villamil, L., & Martínez, M. A. (2016). Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón: Reseña. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, *38*(2), 165–187. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2009.38.2.177>
- Villaseñor, Luis., Macías, María., Gómez, B., Ascencio, F., & Campa, Ángel. (2011). Beneficial effects of four *Bacillus* strains on the larval cultivation of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, *321*(1–2), 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.036>
- Wenlong, X., Xiaoman, H., Hao, L., Xiangrong, T., Zhihang, O., Yang, D., & Jiong, C. (2023). Effects of *Lactobacillus plantarum* Ep-M17 on growth, immunity and intestinal microbiota of *Penaeus vannamei* under Microcystin-LR stress. *Aquatic Toxicology*, *265*, 106763. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106763>
- Widigdo, B., Yuhana, M., Iswantari, A., Madonsa, C., Sapitri, I. D., Wardiatno, Y., Hakim, A. A., & Nazar, F. (2021). The impact of nitrifying probiotic to population growth of pathogenic bacteria, *Vibrio* sp., and toxic nitrogen gasses in marine shrimp culture media under laboratory condition. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of*

Natural Resources and Environmental Management), 11(1), 130–140.

<https://doi.org/10.29244/jpsl.11.1.130-140>

Yerlikaya, O., Saygili, D., & Akpınar, A. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology*, 41(2), 418–425. <https://doi.org/10.1590/fst.03920>

Zermeño, L. A., Barraza, A., González, H. A., Martínez, S. F., & Cardona, C. S. (2023). *Penaeus vannamei* challenged with a *Vibrio parahaemolyticus* AHPND strain shows hepatopancreatic microbiota imbalance. *Ciencias Marinas*, 49. <https://doi.org/10.7773/cm.y2023.3234>

ANEXOS



Anexo 1: Preparación y ubicación de las unidades experimentales



Anexo 2: Aclimatación de los organismos



Anexo 3: Preparación del agar para sembrar las colonias de Vibrios



Anexo 4: Siembra en placa para obtener las colonias de Vibrio



Anexo 5: Preparación del Caldo de soja y Agar Bacto peptona utilizadas para la masificación de Vibrios.



Anexo 6: Infección con Vibrios en las unidades experimentales con PL



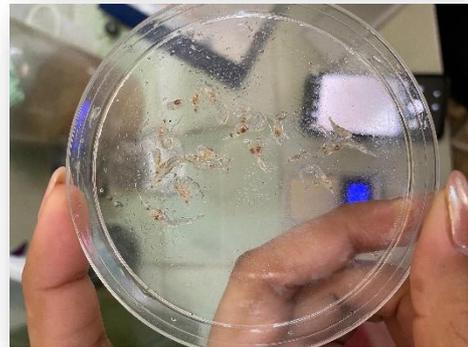
Anexo 7: Preparación del balanceado en polvo con probiótico para la alimentación



Anexo 8: Alimentación de los organismos – alimento en polvo para Postlarvas



Anexo 9: Recambio de agua y sifoneo diario en cada unidad experimental



Anexo 10: Conteo de postlarvas realizadas en cajas Petri después de cada desafío



Anexo 11: Peso de postlarvas realizado semanalmente a cada tratamiento



Anexo 12: Resultados del análisis de carga bacteriana en organismos antes del desafío