

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

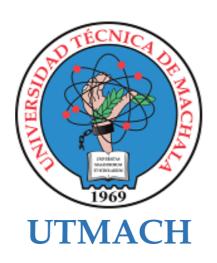
CARRERA DE ACUICULTURA

Uso de bacteriófagos para reducir la carga de Vibrios en postlarvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei).

LOJAN NAGUA EMILY DAMARIS INGENIERA ACUICOLA

MOSQUERA DIAZ ARIANA MILENA INGENIERA ACUICOLA

> MACHALA 2025



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Uso de bacteriófagos para reducir la carga de Vibrios en postlarvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei).

LOJAN NAGUA EMILY DAMARIS INGENIERA ACUICOLA

MOSQUERA DIAZ ARIANA MILENA INGENIERA ACUICOLA

> MACHALA 2025



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Uso de bacteriófagos para reducir la carga de Vibrios en postlarvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei).

LOJAN NAGUA EMILY DAMARIS INGENIERA ACUICOLA

MOSQUERA DIAZ ARIANA MILENA INGENIERA ACUICOLA

SORROZA OCHOA LITA SCARLETT

MACHALA 2025



tesis fagos

3% Textos sospechosos 🖒 < 1% Similitudes

0% similitudes entre comillas 0% entre las fuentes mencionadas

② 2% Idiomas no reconocidos

Nombre del documento: tesis fagos.docx ID del documento: 332e7d042b5230499413882a5c359f31f1e6075f Tamaño del documento original: 8,31 MB Depositante: Sorroza Lita Fecha de depósito: 16/7/2025 Tipo de carga: interface fecha de fin de análisis: 16/7/2025 Número de palabras: 5301 Número de caracteres: 35.380

Ubicación de las similitudes en el documento:

Fuente con similitudes fortuitas

| N° | | Descripciones | Similitudes | Ubicaciones | Datos adicionales |
|----|---|---|-------------|-------------|--|
| 1 | 血 | Documento de otro usuario #4e8ab1 ◆ Viene de de otro grupo | < 1% | | 🖒 Palabras idénticas: < 1% (20 palabras) |

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

Las que suscriben, LOJAN NAGUA EMILY DAMARIS y MOSQUERA DIAZ ARIANA MILENA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Uso de bacteriófagos para reducir la carga de Vibrios en postlarvas de camarón blanco (Litopenaeus vannamei)., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones 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.

LOJAN NAGUA EMILY DAMARIS

0706653250

MOSQUERA DIAZ ARIANA MILENA

Ariana Mosquera Díaz

0706435815

DEDICATORIA

A mi madre, por ser mi guía, mi refugio y mi fuerza silenciosa. Por cada lágrima que escondiste, por cada palabra de aliento cuando sentías que yo quería rendirme, y por creer en mí incluso cuando yo no podía hacerlo. Este logro también es tuyo, porque tu amor y sacrificio han sido la base sobre la que se ha construido cada uno de mis pasos.

A mi padre, por enseñarme a ser firme ante la vida, por tus consejos sabios y por acompañarme desde el ejemplo. Gracias por impulsarme a volar sin soltarme del todo, por tu presencia constante, incluso en el silencio. Hoy, más que nunca, valoro el esfuerzo que hiciste para que yo pudiera llegar hasta aquí.

A mi hijo, el motor que mueve mi mundo. Por tu sonrisa que iluminaba mis días de cansancio, por tu ternura en medio del estrés, y por hacerme recordar el porqué de mis sueños. Este logro no es solo académico, es también una promesa cumplida a ti: demostrarte que todo es posible con amor, esfuerzo y determinación.

A mis hermanas, cómplices de vida, por su apoyo incondicional, por acompañarme con su presencia amorosa en cada etapa de este proceso. Gracias por sostenerme, por creer en mí, por alentarme cuando el camino parecía incierto. En cada palabra de ustedes encontré fuerza.

Y a mi pareja, por caminar conmigo con amor, paciencia y comprensión. Gracias por abrazarme en mis días de duda, por sostener mis emociones cuando la carga era demasiado pesada y por recordarme, una y otra vez, que era capaz de lograrlo. Tu compañía ha sido un faro en medio del cansancio, una voz que me devolvía la confianza.

A todos ustedes, que forman parte esencial de mi historia y de mi corazón, les entrego este trabajo con gratitud infinita. Esta tesis no solo representa un título; es el fruto de un camino recorrido juntos, lleno de amor, desafíos y aprendizajes compartidos

DEDICATORIA

A mi madre, Jaqueline, por ser mi fuerza, mi luz constante y mi mayor amor. Gracias por creer en mí incluso en mis días más oscuros. Todo lo que soy es resultado de tu amor inmenso y de tu fe inquebrantable en mí. Gracias por tu amor, paciencia y sacrificios que me han acompañado en cada paso de este camino. Este logro es tan tuyo como mío, porque sin ti no habría podido llegar hasta aquí.

A Patricio, por estar siempre, por acompañarme sin condiciones y por demostrarme con hechos lo que significa ser un verdadero padre en la vida.

A mis hermanos, Anais y Said, porque son parte de mi esencia, porque cada logro mío es también de ustedes. Son mi hogar, mi raíz y parte esencial de todo lo que soy y todo lo que sueño.

Y a mis compañeros de vida: Duki, Maya, Milo, Milú, Mado y Ares, llegaron cuando más los necesitaba, cuando la casa se sentía vacía. Con su amor sin preguntas, me curaron en silencio.

A mi familia, con todo mi amor y gratitud. Gracias por ser mi base, mi refugio y mi fuerza en cada etapa de este camino. Por creer en mí incluso cuando yo dudaba, por su apoyo incondicional, y por estar presentes de formas que a veces no necesitan palabras. Este logro también es suyo, porque sin ustedes no habría sido posible.

Ariana Milena Mosquera Diaz

AGRADECIMIENTO

Con el corazón lleno de gratitud, deseo expresar mi más profundo agradecimiento a quienes hicieron posible este logro, no solo con su apoyo académico, sino también con su amor, comprensión y compañía a lo largo de este camino.

A mis padres, por ser el cimiento de mi vida. A mi madre, por su amor incondicional, su fe firme en mí y por cada sacrificio que hizo en silencio para que yo pudiera llegar hasta aquí. A mi padre, por su fortaleza, sus consejos sabios y por enseñarme que con esfuerzo todo se puede lograr. Este triunfo es tan suyo como mío.

A mis hermanas, por su cariño inagotable, por estar siempre presentes con palabras de aliento, por sus gestos de apoyo, por sus bromas que aliviaban el cansancio y por darme ánimo cuando más lo necesitaba. Gracias por ser parte fundamental de este logro.

A mi hijo, el motor que impulsa mis sueños. Gracias por enseñarme cada día el verdadero significado del amor, de la paciencia y del sacrificio. Este logro lleva tu nombre, porque por ti luché cada día con más convicción.

A mi pareja, por estar a mi lado con amor, apoyo y comprensión. Gracias por sostenerme en los momentos de cansancio, por tu compañía silenciosa cuando más la necesitaba y por recordarme, siempre, que era capaz de lograrlo.

A mis profesores, por compartir su conocimiento y por guiarnos con pasión y entrega en este proceso formativo. Cada enseñanza recibida ha sido una luz en este camino.

A mi tutora de tesis, la Dra. Lita Sorroza, por su paciencia, dedicación y orientación constante. Gracias por sus observaciones valiosas, su compromiso y por creer en el potencial de este trabajo. Su guía ha sido fundamental para alcanzar este objetivo.

A mis compañeros, por las experiencias compartidas, por las risas, los desafíos superados en grupo y por hacer de esta etapa un viaje más humano y enriquecedor.

A mi amigo Kleimer, por su apoyo leal, por su amistad sincera y por estar presente cuando más lo necesitaba. Gracias por escuchar, acompañar y aportar con tu energía positiva en los momentos clave.

Y a Ariana, mi compañera de tesis, por su compromiso, entrega y trabajo en equipo. Gracias por compartir conmigo este proceso lleno de aprendizajes, por tu apoyo en los días difíciles y por caminar juntas hasta el final. Este trabajo es reflejo del esfuerzo compartido.

A todos ustedes, gracias infinitas. Esta meta alcanzada no sería posible sin cada uno de ustedes.

Emily Damaris Lojan Nagua

Este trabajo representa mucho más que el cierre de una etapa académica. Es la suma de esfuerzos, lágrimas, aprendizajes y, sobre todo, de vínculos que me sostuvieron cuando flaquearon las fuerzas.

Agradezco profundamente a mi madre, Jaqueline Díaz, por ser mi guía, mi motivación y mi refugio seguro.

A Patricio Navarrete, por su apoyo firme, su presencia constante y por ser una figura esencial en mi vida.

A mis hermanos, Anais y Said, por darme razones para seguir y recordarme siempre de dónde vengo y hacia dónde voy.

A mis profesores, en especial a mi tutora de tesis, la Dra. Lita Sorroza, por su paciencia, orientación y dedicación a lo largo de este proceso.

Gracias también a mis compañeros y amigos en especial a Kleimer, por estar presente en cada etapa de mi vida universitaria, por acompañarme con sinceridad y cariño.

A Emily, por ser mi compañera de tesis, por compartir conmigo cada paso, cada obstáculo, cada logro.

A mis adoradas mascotas por estar conmigo, por llenarme de amor y por darme paz sin palabras.

A todas las personas que, de una u otra forma, me acompañaron a lo largo de esta carrera. A quienes compartieron su tiempo, sus palabras, su apoyo y su compañía en los momentos buenos y en los difíciles. Cada gesto, cada conversación y cada muestra de aliento fueron parte fundamental de este camino. Este logro también es suyo.

Ariana Milena Mosquera Diaz

RESUMEN

El presente estudio evaluó la eficacia de un bacteriófago comercial en la reducción de la carga bacteriana de *Vibrio spp.* en postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivadas bajo dos condiciones de salinidad: 20 y 30 ups. Se utilizaron dos tratamientos por salinidad: uno con aplicación del bacteriófago (9mL/kg de alimento) y otro sin aplicación, durante un periodo de 15 días. Se evaluaron la carga bacteriana, crecimiento, supervivencia y estado fisiológico de las postlarvas.

Los resultados mostraron una notable reducción de *Vibrio parahaemolyticus* en los grupos tratados. A 20 ups, la carga bacteriana disminuyó de 1.855.333 a 46.333 UFC/gH (reducción del 97,5%), mientras que a 30 ups pasó de 1.833.667 a 16.800 UFC/gH (reducción del 99,1%). El crecimiento también mejoró: a 20 ups, el peso medio fue de 0,2095 g con bacteriófago frente a 0,1080 g sin tratamiento. A 30 ups, las postlarvas tratadas alcanzaron 0,2089 g frente a 0,1914 g en el control. La supervivencia aumentó levemente a 20 ups con respecto al control 89% y diferencia numérica en 30 ups (81% a 94%).

Además, se observó una recuperación fisiológica visible en los organismos tratados: mejor actividad natatoria, aumento en el consumo del alimento, reducción de la pigmentación anormal y signos clínicos. La eficacia fue más evidente en 30 ups, lo que sugiere que esta salinidad favorece la acción del bacteriófago y la recuperación de la salud en postlarvas infectadas.

Palabras clave: bacteriófagos, *Vibrio parahaemolyticus*, postlarvas, salinidad.

ABSTRACT

The present study evaluated the efficacy of a commercial bacteriophage in reducing

the bacterial load of Vibrio spp. in white shrimp (Litopenaeus vannamei) postlarvae

cultured under two salinity conditions: 20 and 30 ups. Two salinity treatments were

used: one with application of the bacteriophage (9mL/kg of feed) and the other without

application, for a period of 15 days. Bacterial load, growth, survival and physiological

state of the postlarvae were evaluated.

The results showed a remarkable reduction of *Vibrio parahaemolyticus* in the treated

groups. At 20 ups, the bacterial load decreased from 1,855,333 to 46,333 CFU/gH

(97.5% reduction), while at 30 ups it went from 1,833,667 to 16,800 CFU/qH (99.1%)

reduction). Growth also improved: at 20 ups, the mean weight was 0.2095 g with

bacteriophage versus 0.1080 g without treatment. At 30 ups, treated postlarvae

reached 0.2089 g versus 0.1914 g in the control. Survival increased slightly at 20 ups

with respect to the control 89% and numerical difference at 30 ups (81% to 94%).

In addition, a visible physiological recovery was observed in the treated organisms:

improved swimming activity, increased feed consumption, reduction of abnormal

pigmentation and clinical signs. Efficacy was more evident at 30 ups, suggesting that

this salinity favors the action of the bacteriophage and the recovery of health in infected

postlarvae.

Keywords: bacteriophages, *Vibrio parahaemolyticus*, postlarvae, salinity.

INDICE

| RESUMEN | 5 |
|----------------------------|----|
| ABSTRACT | 11 |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| OBJETIVOS | 6 |
| 2.1. Objetivo General | 6 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 6 |
| METODOLOGÍA | 7 |
| RESULTADOS | 14 |
| DISCUSIÓN | 20 |
| CONCLUSIÓN | 22 |
| RECOMENDACIONES | 23 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 24 |
| ANEXOS | 31 |

| Tabla 1 Distribución de los tratamientos en el experimento | 9 |
|--|----|
| Tabla 2 Descripción de características del diseño experimental | 10 |
| Tabla 3 Formulación de dietas para los grupos experimentales | 12 |

INDICE DE ILUSTRACIONES

| Figura | 1 Ubicación del área de estudio Fuente: Google | 7 |
|---------|---|---|
| Figura | 2 Efecto del bacteriófago en la carga bacteriana en hepatopáncreas de | ÷ |
| postlar | vas1 | 4 |
| Figura | 3 Signos de postlarvas enferma (A), camaron tratado con bacteriófago |) |
| (B) | 1 | 5 |
| Figura | 4 Efecto del bacteriófago en peso de postlarvas (g)1 | 7 |
| Figura | 5 Efecto de los bacteriófagos en la supervivencia final (%)1 | 8 |
| Figura | 6 Control y tratamiento de 30 Ups1 | 9 |

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el crecimiento poblacional se ha convertido en un reto que se debe afrontar para responder a la demanda de necesidades de una población (Berger, 2020; Aguirre et al., 2021). La transformación de los sistemas agroalimentarios es esencial para afrontar el aumento del hambre, que en 2021 afectó a más de 828 millones de personas (FAO, 2021). En este contexto, la acuicultura se presenta como una actividad estratégica dedicada al manejo y cultivo de diversas especies acuáticas en condiciones controladas. Los organismos criados bajo este sistema suelen destacar por su resistencia, así como por su capacidad para crecer y desarrollarse rápidamente, contribuyendo a la producción alimentaria y el abastecimiento sostenible de productos acuáticos (Socarras et al., 2019).

En Ecuador, el sector camaronero es de gran relevancia económica, las principales zonas productoras incluyen la provincia de El Oro y el Golfo de Guayaquil (Ullsco et al., 2021), este camarón reconocido mundialmente por su sabor (Aguirre et al., 2019). Actualmente, ocupa el tercer lugar como productor y el primero en América Latina, con una producción de 1,49 MMT a nivel nacional la provincia de El Oro aporta el 15%.

La industria camaronera ecuatoriana ha logrado expandir su presencia en los mercados internacionales, alcanzando más de 60 destinos globales, lo que ha sido clave para la economía del país. Este sector representa el 3,4% del Producto Interno Bruto (PIB) y se ha convertido en el que más empleos genera. Según el Banco Central del Ecuador, en 2019, la pesca y acuicultura contribuyeron con \$575,8 millones de dólares en provincias como Guayas, Manabí, Santa Elena, El Oro, Galápagos y Esmeraldas (Sánchez, 2020). Sin embargo, la crisis sanitaria global de 2020 impactó negativamente la economía, causando una disminución del 12,4% del PIB durante el segundo semestre (Cevallos, 2024).

El cultivo de camarón en Ecuador comenzó a finales de los años 60 en la provincia de El Oro y se consolidó en las décadas de los 70 y 80 como una de las principales actividades exportadoras del país (Castillo & Velásquez, 2021). La acuicultura, particularmente la producción de camarón es un sector de alto impacto en el

desarrollo productivo y comercial del país. Desde hace más de 50 años, el camarón ha sido uno de los productos tradicionales de exportación del país, consolidándose como un pilar en la economía ecuatoriana (Chancay et al., 2021). Sin embargo, el crecimiento del sector ha estado marcado por brotes patológicos que han puesto en riesgo los cultivos (Figueredo et al., 2020).

Entre las principales amenazas que enfrenta el sector camaronero, las enfermedades bacterianas destacan como un desafío crítico. Los vibrios patógenos, que afectan tanto la fase de larvicultura como la de engorde, causan daños en el hepatopáncreas de los camarones. En la fase larval, las enfermedades incluyen el Síndrome Zoea II, infecciones bacterianas, bacterias luminiscentes y la aparición de bolitas blancas asociadas con diversas enfermedades como el camarón manchado, Vibriosis sistémica, síndrome gaviota, Vibriosis luminiscente, hepatopancreatitis necrotizante, entre otras (Tenecota et al., 2018).

La Vibriosis es una de las principales enfermedades que afecta la acuicultura de peces y crustáceos, siendo responsable de la alta mortalidad de los camarones cultivados a nivel global. Provocada por bacterias gramnegativas del género Vibrio, esta enfermedad puede superar las barreras defensivas del camarón, como su exoesqueleto, especialmente cuando factores ambientales favorecen la proliferación bacteriana (Chandrakala & Priya, 2017). Los síntomas clínicos de la vibriosis incluyen anorexia, nado errático, debilidad general, necrosis interna y externa, músculo abdominal opaco y expansión de cromatóforos rojos en los apéndices y pleópodos (Renteria, 2018).

Los vibrios patógenos más comunes en el cultivo de camarón son *Vibrio* parahaemolyticus, *V. harveyi* y *V. vulnificus*.

Vibrio parahaemolyticus destaca por ser halotolerante y mesofílico, causando necrosis aguda del hepatopáncreas debido a la toxina binaria PirA y PirB (Barrantes, 2023). Vibrio harveyi, por su parte, es el principal patógeno bacteriano que induce mortalidad masiva en camarones cultivados en sistemas intensivos y retrasa su crecimiento en estanques de engorde, está asociado con patologías como vibriosis oral, entérica y sistémica, generando importantes pérdidas económicas (Vinay et al., 2019). Finalmente, Vibrio vulnificus, un patógeno oportunista, se encuentra en

estuarios y zonas costeras a nivel global, afectando al camarón causando daño en los tejidos del huésped a través de la producción de toxinas y exoenzimas (Hernández & Amaro, 2020).

Las larvas y postlarvas de *Litopenaeus vannamei* son particularmente vulnerables a infecciones por *Vibrio spp.*, lo que provoca septicemia y altas tasas de mortalidad. Estas bacterias colonizan el tracto digestivo y el hepatopáncreas, mostrando síntomas como coloración rojiza, músculo opaco, bioluminiscencia y cromatóforos dilatados (Cuellar, 2013; Muñoz, 2022).

Tradicionalmente, los antibióticos han sido el principal recurso para tratar infecciones bacterianas en la acuicultura. Aunque su uso ha sido efectivo en el control de enfermedades, presenta riesgos significativos si no se maneja adecuadamente (Adenaya et al., 2023). Los antibióticos más comunes para controlar vibrios son la oxitetraciclina, florfenicol, sulfamidas y enrofloxacina (Gxalo et al., 2021).

Para controlar la enfermedad los acuicultores recurren excesivamente al uso de antibióticos (Gracia et al., 2024) Sin embargo, el mal manejo de estos medicamentos ha contribuido al desarrollo de resistencia bacteriana (Ríos et al., 2022; Pérez et al., 2020).

Según Aguirre et al., (2021) en la acuicultura la prevención de enfermedades es importante para mantener la salud de los organismos cultivados. Una alternativa sostenible al uso de antibióticos son los probióticos, que mejoran la salud inmunológica y la calidad del agua, reduciendo la proliferación de patógenos como *Vibrio spp.* Estos microorganismos no solo mejoran la salud de los organismos acuáticos, sino que también favorecen la calidad del agua al inhibir el crecimiento de patógenos (Chang et al., 2024; Sorroza et al., 2009). Además, las plantas medicinales también han mostrado un alto potencial en el tratamiento de enfermedades acuícolas, ofreciendo menos efectos secundarios que los fármacos sintéticos además de sus propiedades antimicrobianas, favorecen el crecimiento y la supervivencia de los animales acuáticos (Ghosh et al., 2021; Sorroza et al., 2017). No obstante, una de las estrategias más prometedoras en los últimos años es el uso de bacteriófagos. (Sánchez et al., 2024). Según algunos investigadores, los bacteriófagos muestran mayor eficacia al reducir bacterias patógenas siendo una alternativa sostenible para

cuidar el medio ambiente ya que son una solución natural y menos contaminante, los bacteriófagos son altamente específicos y a su vez no dejan residuos químicos en los organismos a comparación de los antibióticos (Saucedo et al., 2020). Siendo así una estrategia sostenible alineada con las demandas de producción acuícola moderna para garantizar la salud de los cultivos (Ninawe et al., 2020).

Según Jamal et al., (2019) Los bacteriófagos tienen una morfología que se adapta perfectamente a su función. Su estructura básica incluye una cabeza o cápside que protege el material genético del fago, una cola que inyecta este material en la bacteria, una placa basal que ancla la cola en la bacteria y fibras de cola que permiten la adhesión específica a las bacterias. Además, el material genético puede ser ADN o ARN, lo que les permite replicarse dentro de las bacterias y propagarse. Los bacteriófagos siguen un ciclo de vida que puede ser lítico o lisogénico. En el ciclo lítico, el fago infecta la bacteria, se replica dentro de ella y causa la destrucción celular, liberando nuevos fagos (Fernández et al., 2019). En el ciclo lisogénico, el material genético del fago se integra en el ADN bacteriano y permanece latente, transmitiéndose a las generaciones sucesivas de bacterias (Tynecki et al., 2020).

La terapia fágica, que utiliza estos bacteriófagos, ha emergido como una alternativa eficaz frente a los antibióticos. Especialmente ante el problema de la resistencia antimicrobiana que enfrentan muchas bacterias patógenas (Gordillo & Barr, 2019). El mecanismo de acción de los bacteriófagos contra *Vibrio spp* sigue los principios del ciclo lítico, donde el fago se adhiere a la bacteria, inyecta su material genético y, finalmente, provoca la destrucción de la célula bacteriana (Molina-Quiroz et al., 2023). Los fagos pueden ser usados en sistemas intensivos y semi-intensivos por ende también pueden ayudar a controlar enfermedades como la vibriosis, septicemia bacteriana y otras infecciones críticas en peces y crustáceos (Schulz et al., 2022).

En estudios recientes, investigadores han demostrado que los bacteriófagos son efectivos en la reducción de la carga bacteriana en sistemas acuícolas. En un artículo se observó una notable disminución en la concentración de *Vibrio spp* en postlarvas de camarón, donde la concentración inicial de 3,7x10³ UFC/mL redujo a 2,2x10² UFC/mL en tal solo dos días tras la aplicación del bacteriófago. Estos resultados evidencian que los fagos actúan rápidamente sobre las bacterias patógenas y se han

reportado mejoras significativas en los camarones infectados con *Vibrio* parahaemolyticus luego del tratamiento con fagos (Le et al., 2023).

Otro estudio, utilizó un cóctel de bacteriófagos compuesto por fagos líticos denominados vB_Vc_SrVc2 y vB_Vc_SrVc9, en postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. Se incluyó métodos dependientes e independientes de cultivo, y demostró una reducción significativa en la población de *Vibrio spp.* tras la administración del cóctel. Además, mostraron menor daño hepático en las postlarvas tratadas (Lomelí et al., 2023).

La aplicación de bacteriófagos en acuicultura puede realizarse mediante técnicas como incorporación en el agua de cultivo, suplementación en alimentos, bioencapsulación en alimento vivo, baños terapéuticos, recubrimiento de huevos y aplicación localizada en heridas. Cada método busca optimizar la interacción entre los fagos y los patógenos, asegurando su eficacia en la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas (Nachimuthu et al., 2021).

Entre los beneficios del uso de bacteriófagos en la acuicultura se incluye una reducción específica de patógenos, además, ayudan en el control de enfermedades bacterianas, previniendo y tratando infecciones como la vibriosis, lo que reduce la mortalidad en las postlarvas. En cuanto a la salud del camarón, mejoran la recuperación del hepatopáncreas, favoreciendo la función digestiva, reduciendo daños en este órgano. También tienen un bajo impacto ambiental, ya que son biodegradables y no generan residuos tóxicos, a diferencia de los antibióticos (Le Son & Kurtböke, 2019).

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el uso de un bacteriófago comercial que reducirá la carga de Vibrios, mediante la aplicación a postlarvas, en dos salinidades.

Objetivos Específicos

- Determinar la eficacia del bacteriófago comercial en la reducción de la carga bacteriana de Vibrios en postlarvas cultivadas a dos salinidades.
- Comparar el efecto del bacteriófago comercial sobre la salud, crecimiento y supervivencia de las postlarvas sometidas a 20 y 30 ups
- Analizar las interacciones entre las condiciones de salinidad y la acción del bacteriófago comercial en la dinámica poblacional de Vibrios.

METODOLOGÍA

Ubicación

Este estudio se realizó en los establecimientos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala ubicada en el Cantón Machala, Provincia de El Oro, con las siguientes coordenadas: 3°15′52″S 79°57′04″O / - 3.264525, -79.951195.

Figura 1 Ubicación del área de estudio Fuente: Google.



Materiales y Métodos

Insumos

- CHROMagar Vibrio
- Alimento balanceado 22% de proteína
- Bacteriófago

Materiales Biológicos

- Postlarvas Camarones (L. vannamei)
- Cepa de Vibrio parahaemolyticus

Equipos

- Aireadores
- Salinometro
- Balanza gramera
- Estufa
- Autoclave
- Medidor de pH

- Cabina de flujo laminar
- Incubadora
- Microscopio
- Multiparámetro

Materiales

- Agua a 30 ups y 20 ups
- 12 peceras
- Tanque (Reservorio)
- Piedras difusoras
- Manguera para aireación
- Cajas Petri
- Guantes
- Cotonetes
- Cocineta
- Marcador
- Mascarillas
- Papel aluminio
- Varilla de vidrio
- Pipeta de 10 mL
- Asa de Drigalski
- Matraz Erlenmeyer 35
- Mechero de alcohol
- Micropipetas (100 y 1000 μl)
- Espátula
- Mandil

Sustancias

- Alcohol industrial (90%)
- Agua destilada

Métodos

Diseño Experimental

Para el desarrollo del experimento, se empleó un diseño experimental completamente al azar (DCA), con el propósito de garantizar la fiabilidad de los resultados y minimizar los sesgos experimentales, con un total de 12 unidades experimentales. El cual tiene como factor de estudio la aplicación de bacteriófagos, con dos diferentes salinidades (20 y 30 Ups), de la misma manera un testigo absoluto (sin aplicación de tratamiento).

- ightharpoonup T0₁ Sin tratamiento (20 ups)
- ➤ T0₂ Sin tratamiento (30 ups)
- \rightarrow T1 20 ups
- ightharpoonup T2 30 ups

Modelo del Diseño Experimental

Tabla 1 Distribución de los Tratamientos en el Experimento.

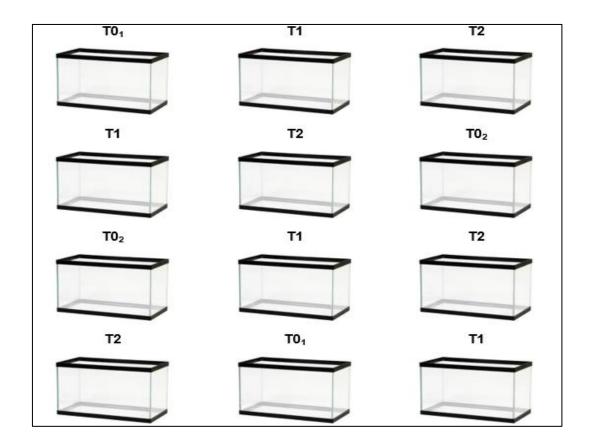


Tabla 2 Descripción de características del diseño experimental.

| CARACTERÍSTICAS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL | | |
|---|---------|--|
| Unidades experimentales | 12 | |
| Cantidad de organismos | 450 | |
| Número de organismos por tratamiento | 112 | |
| Número de organismos por réplica | 37 | |
| Tratamientos | 4 | |
| Replicas | 3 | |
| Duración del experimento | 15 días | |

Obtención de las Postlarvas de Camarón

Se adquirió las postlarvas de un laboratorio ubicado en el sector de Puerto Bolívar, en estadío PL12. Para el experimento, un total de 450 postlarvas fueron, distribuidas en peceras a una densidad de 37 postlarvas. Esta cantidad de organismos fue seleccionada para garantizar condiciones óptimas para el desarrollo de las postlarvas y la recolección de datos confiables.

Aclimatación de Postlarvas

En las unidades experimentales, las postlarvas fueron sometidas a un proceso de aclimatación durante un periodo de cinco días. Durante esta fase, se mantuvieron en condiciones controladas para minimizar el estrés fisiológico asociado con la transición al nuevo entorno. Las postlarvas se las alimento diariamente con dietas formuladas y raciones ajustadas según su peso corporal. Se monitorearon parámetros fisicoquímicos del agua, como temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto, para mantenerlos dentro de los rangos ideales recomendados para la especie.

Este manejo cuidadoso fue fundamental para asegurar la adaptación exitosa de las postlarvas antes de iniciar las intervenciones experimentales.

Análisis de Vibrio parahaemolyticus en Postlarvas

En el experimento se empleó CHROMOGENIC Vibrio Agar, un medio de cultivo cromogénico diseñado específicamente para la identificación diferencial de *Vibrio spp.* mediante la coloración característica de sus colonias. Según las especificaciones del fabricante, las colonias de *Vibrio parahaemolyticus* desarrolla un color verde azulado, lo que permitió su identificación rápida y precisa.

Este método representa una herramienta confiable y eficaz para evaluar la presencia de *Vibrio spp.* en muestras provenientes del sistema experimental.

Infección Experimental

Siguiendo el protocolo descrito por Le et al., (2023) en caso de que las postlarvas no presenten evidencia de *Vibrio spp.* de manera natural, utilizamos una cepa previamente identificada y caracterizada de *Vibrio parahaemolyticus* que será cultivada bajo condiciones estériles en un medio de cultivo adecuado. Con un asa previamente esterilizada, se aislaron colonias bacterianas del género *Vibrio parahaemolyticus*, provenientes de organismos clínicamente afectados. Posteriormente, dichas colonias fueron cultivadas para el ensayo de infección experimental, una vez alcanzada la concentración bacteriana requerida de 1,1x10¹¹ UFC/ml, se inoculó 1 ml a cada pecera.

Además, realizamos muestreos periódicos durante tres días para confirmar la presencia y concentración de *Vibrio parahaemolyticus* en las postlarvas.

Alimentación con Bacteriófagos

A las postlarvas previamente infectadas se les administro un bacteriófago comercial específico, dosificado a razón de 9 mL/kg de alimento. El bacteriófago fue preparado en una solución acuosa y aplicado al 100% del alimento mediante un proceso de saturación, utilizando una relación de 0,6 litros de solución/kg de alimento, para garantizar una distribución uniforme del tratamiento.

Para la preparación del alimento suplementado con bacteriófagos, se procedió a mezclar la suspensión fágica con el balanceado comercial destinado a la alimentación

de las postlarvas. Esta mezcla se realizó de manera cuidadosa, asegurando que el alimento absorbiera uniformemente toda la preparación de bacteriófagos, lo cual permitió una distribución homogénea del tratamiento sobre el pellet.

Una vez mezclado, el alimento fue extendido en capas delgadas sobre bandejas previamente desinfectadas y se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Este proceso de secado se llevó a cabo en un ambiente limpio y protegido, alejado de animales, insectos, polvo o cualquier otro factor que pudiera comprometer la esterilidad y calidad del producto final.

Luego del secado, el alimento tratado con bacteriófagos fue almacenado en condiciones adecuadas hasta el momento de su uso. Posteriormente, fue suministrado a las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* en las dosis establecidas según el protocolo experimental, garantizando así una exposición segura, constante y controlada al tratamiento fágico.

La alimentación se realizó tres veces al día, con horario de 8:00am, 11:00 am y 15:00 pm basándose en la biomasa total de las postlarvas y se implementó un proceso estandarizado para aplicar un pegante al alimento balanceado el cual se aplicó 1mL por cada 100 g de alimento (Barros & Correa, 2024). Garantizando que el bacteriófago quede adecuadamente adherido a la superficie del pellet, optimizando su eficacia durante el consumo por parte de las postlarvas. Para este propósito, se utilizó un alimento balanceado de origen comercial, con un contenido proteico del 22% en base seca.

Tabla 3 Formulación de dietas para los grupos experimentales.

| Identificación | Grupos Experimentales | Contenido |
|-----------------|-----------------------|---|
| T0 ₁ | Control 20 Ups | Balanceado + Almidón de yuca |
| T0 ₂ | Control 30 Ups | Balanceado + Almidón de yuca |
| T1 | Tratamiento 20 Ups | Balanceado + Almidón de yuca + Bacteriófago |
| Т2 | Tratamiento 30 Ups | Balanceado + Almidón de yuca + Bacteriófago |
| | | |

Análisis del Hepatopáncreas (HP)

Se seleccionaron 17 ejemplares por cada grupo experimental (controles y tratamientos). A cada uno se le extrajo el hepatopáncreas hasta pesar 1 gramo, destinado a los análisis microbiológicos respectivos. Las muestras se manipularon en fresco, con el uso de pinzas estériles, y se colocaron en fundas tipo Ziploc previamente esterilizadas. En estas fundas s se realizó la maceración manual del tejido. Luego, se prepararon diluciones en serie (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³) con solución salina.

Preparación de Medios de Cultivos

El medio de cultivo utilizado para los tratamientos fue agar TCBS, la preparación del medio de cultivo siguió las indicaciones del fabricante donde se pesó 89,1 gramos del agar y se disolvieron en 1 litro de agua destilada. La mezcla se dejó en reposo durante 5 minutos, luego se aplicó calor con agitación frecuente hasta alcanzar la ebullición y lograr la disolución completa Después del enfriamiento a temperatura adecuada, se distribuyó el medio en cajas Petri estériles para su posterior uso.

Para los grupos control, se empleó el medio CHROMOGENIC Vibrio Agar, su preparación fue similar al TCBS, se pesaron 67,5 gramos y se disolvieron en 1 litro de agua destilada. La mezcla se dejó en reposo durante 5 minutos, luego se aplicó calor con agitación frecuente hasta alcanzar la ebullición y lograr la disolución completa. Luego de realizar este proceso se pondrá 10 mL de agar en las cajas Petri para su respectiva siembra.

Siembra de Diluciones en Cajas Petri

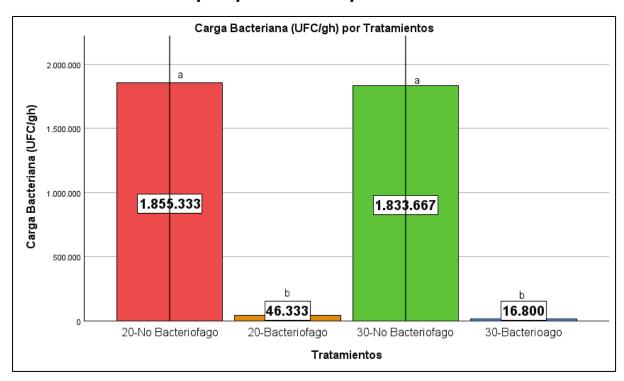
Se realizó la siembra por extensión para distribuir una muestra diluida sobre la superficie del agar sólido. Donde se tomó un volumen de 100 microlitros (µI) con una micropipeta provista de una punta estéril y se depositó en el centro de una caja Petri con agar previamente solidificado. Se utilizó un asa de Drigalski, esterilizada previamente, para extender la muestra por toda la superficie del medio. Las cajas se dejaron secar durante unos minutos en condiciones estériles y se colocaron en posición invertida dentro de fundas estériles se incubaron a una temperatura de 28 °C durante 24 horas y luego se contabilizaron las unidades formadoras de colonias (UFC), lo que proporciono una estimación precisa de la carga bacteriana.

RESULTADOS

Los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo se pueden observar en la Figura 2, en el grupo control (20 No Bacteriófago), se registró una carga bacteriana promedio de 1.855.333 UFC/gHp, mientras que en el grupo tratado la carga se redujo drásticamente a 46.333 UFC/gHp. Esta diferencia representa una reducción absoluta de 1.809.000 UFC/gH, lo que equivale a una disminución del 97,5%. Este resultado demuestra una eficacia significativa (p<0.05) del bacteriófago en condiciones de 20 ups.

En el tratamiento sin bacteriófago (30 No Bacteriófago), se observó una carga media de 1.833.667 UFC/gHp. En el grupo tratado, la carga disminuyó a 16.800 UFC/gHp, lo que representa una reducción absoluta de 1.816.867 UFC/gHp, correspondiente a una disminución del 99,1%. Esto indica que, a pesar de una carga inicial similar, el bacteriófago mostró una eficacia significativa (p<0.05) a 30 Ups, aunque no existe diferencia significativa con respecto a la salinidad.

Figura 2 Efecto del bacteriófago en la carga bacteriana en el hepatopáncreas de postlarvas.



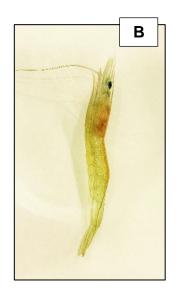
Estas diferencias, señaladas por el análisis post hoc (Tukey), indican que la aplicación de bacteriófagos fue efectiva para reducir la carga bacteriana de forma significativa en ambos niveles de salinidad con respecto al control sin el bacteriófago.

Para evaluar el efecto del bacteriófago comercial sobre la salud de las postlarvas de camarón, se analizó su condición fisiológica durante dos momentos clave del experimento: fase inicial de infección, tras la exposición controlada a *Vibrio parahaemolyticus* durante los primeros tres días; y fase de recuperación, posterior a la aplicación del bacteriófago bajo condiciones de cultivo con salinidad de 20 y 30 ups.

Durante la fase de infección, transcurridos los tres primeros días, se evidenciaron visualmente diversas afectaciones fisiológicas en las postlarvas. Entre los signos clínicos más notables se observaron letargo generalizado, nado errático, disminución del apetito y menor consumo del alimento administrado. Asimismo, se registró una coloración rojiza en los urópodos (Figura 3A), lo cual es un indicativo de estrés. También se detectó pigmentación anormal en la región cefalotorácica y en las extremidades, posiblemente asociada a alteraciones metabólicas inducidas por la infección bacteriana. Además, se identificaron signos externos de daño tisular, como erosión en los bordes del exoesqueleto y pérdida parcial de apéndices, lo que sugiere un avance de la infección.

Figura 3 Signos de postlarvas enferma (A), camarón tratado con bacteriófago (B).





Durante la fase de recuperación, posterior a la aplicación del bacteriófago comercial, se evidenció una mejora progresiva en la condición fisiológica de las postlarvas. Desde el tercer día de tratamiento, disminuyeron visiblemente los signos clínicos. Las postlarvas recuperaron su comportamiento natatorio normal, con mayor actividad y coordinación. También se observó un aumento en el consumo de alimento, lo que sugiere una reactivación del metabolismo digestivo. Estos cambios indican una respuesta positiva al tratamiento aplicado.

Asimismo, la coloración rojiza en los urópodos y las zonas de pigmentación anormal se redujeron (Figura 3B), reflejando una disminución del estrés y la inflamación. En casos con melanización, el proceso se estabilizó sin mayores complicaciones. Algunos apéndices comenzaron a regenerarse y mejoró la integridad del exoesqueleto. La recuperación fue más notoria en las postlarvas cultivadas a 30 ups, lo que sugiere que esta salinidad favorece la eficacia del bacteriófago y el restablecimiento de la salud de los organismos.

Con respecto al segundo objetivo, los resultados obtenidos para el crecimiento de las postlarvas, a una salinidad de 20 ups tratadas con bacteriófago alcanzaron una media de peso de 0,2095 g, valor considerablemente superior al registrado en el grupo sin bacteriófago, el cual presentó una media de 0,1080 g. Esta diferencia representa un incremento de 0,1015 g en el peso larval asociado al uso de bacteriófagos bajo la misma condición de salinidad.

De manera similar, a una salinidad de 30 ups, se observó una tendencia positiva en el peso promedio con la aplicación del bacteriófago. Las postlarvas tratadas alcanzaron un peso medio de 0,2089 g, frente a los 0,1914 g obtenidos en el grupo control. Aunque la diferencia en este caso fue menos marcada, igualmente refuerza la tendencia positiva del tratamiento.

Sin embargo, a pesar de que estas diferencias numéricas sugieren una posible mejora en el crecimiento asociado al uso de bacteriófagos, el análisis estadístico mediante la prueba HSD de Tukey ($\alpha=0.05$) determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los tratamientos (p=0.435). Todos los grupos se ubicaron dentro del mismo subconjunto homogéneo, lo que indica que las variaciones observadas podrían deberse al azar o a variabilidad natural dentro de los grupos

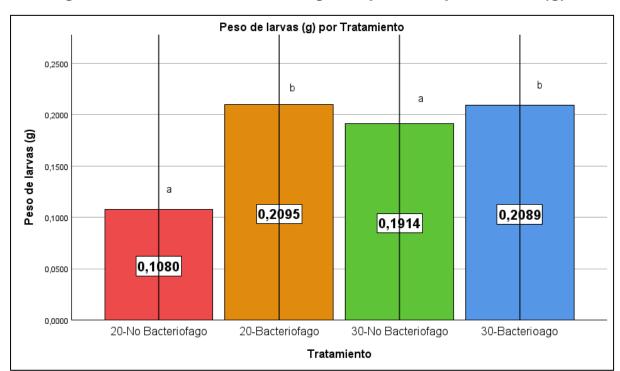


Figura 4 Efecto del bacteriófago en peso de postlarvas (g).

En cuanto a la supervivencia de las postlarvas, los resultados presentados en la Figura 5, a una salinidad de 20, la supervivencia en el grupo sin bacteriófago fue del 89%, mientras que en el grupo tratado con bacteriófago se registró una leve mejora, alcanzando el 90%. Aunque la diferencia fue mínima, esta indica una tendencia positiva del tratamiento, incluso en condiciones donde la carga bacteriana fue más moderada.

En condiciones de 30 ups, se evidenció una mayor diferencia: el grupo sin bacteriófago presentó una supervivencia del 81%, mientras que el grupo tratado con bacteriófago alcanzó un 94%, representando un incremento del 13% en la supervivencia, con respecto al control.

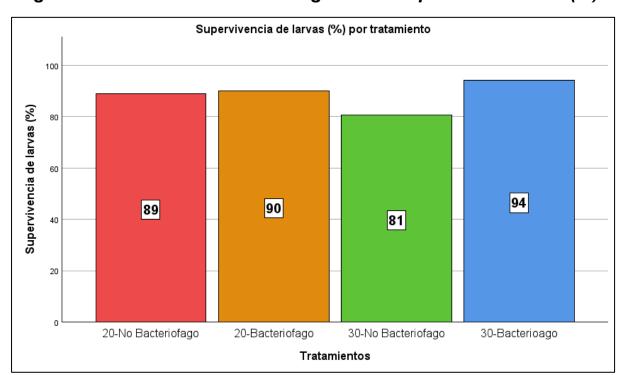


Figura 5 Efecto de los bacteriófagos en la supervivencia final (%).

Los resultados obtenidos permiten identificar una clara interacción entre los niveles de salinidad y la acción del bacteriófago comercial sobre la dinámica de población de *Vibrio parahaemolyticus* en las postlarvas expuestas.

En la figura 6 se puede evidenciar que en condiciones de salinidad 20, la población media de *V. parahaemolyticus* alcanzó 1.855.333 UFC/gHp en ausencia del bacteriófago, mientras que con su aplicación se redujo drásticamente a 46.333 UFC/gHp.

En contraste la salinidad 30, se observó el mayor crecimiento poblacional de *V. parahaemolyticus* sin tratamiento, alcanzando un valor de 1.833.667 UFC/gHp. lo que representa un incremento exponencial respecto a los demás tratamientos. No obstante, la adición del bacteriófago en esta misma condición redujo la población bacteriana a 16.800 UFC/gHp, logrando una disminución del 99,1%, aún más eficiente que a salinidad 20.

Estos resultados indican que la salinidad de 30 favorece significativamente la proliferación de *Vibrio parahaemolyticus*, mientras que la salinidad de 20 limita parcialmente su desarrollo. Sin embargo, en ambos niveles de salinidad, la aplicación del bacteriófago comercial fue efectiva en modular la dinámica poblacional del

patógeno, reduciendo su carga a niveles bajos, con mayor impacto en condiciones donde su crecimiento era más elevado.

Por tanto, se confirma que existe una interacción directa entre la salinidad y la acción del bacteriófago: a mayor salinidad, mayor proliferación de *Vibrio parahaemolyticus*, y mayor necesidad de intervención para su control. La efectividad del bacteriófago fue constante, aunque con mayor eficiencia en condiciones de salinidad alta, donde el riesgo de proliferación del patógeno es más elevado.

Figura 6 Control y tratamiento de 30 ups – 20 ups.



DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la aplicación de bacteriófagos en postlarvas de Litopenaeus vannamei mostró efectos diferenciados en función de la salinidad del sistema. En ambos ambientes, el bacteriófago comercial fue altamente efectivo en la reducción de Vibrios. Aunque la carga inicial fue muy similar en ambos casos (alrededor de 1.8 millones UFC/gHp), el tratamiento redujo la concentración bacteriana a menos de 50.000 UFC/gHp en 20 ups y menos de 17.000 UFC/gHp a 30 ups. Esta disminución fue ligeramente superior en 30 ups, lo que podría indicar una mejor acción del bacteriófago en condiciones de mayor salinidad, posiblemente por una mayor estabilidad viral o susceptibilidad bacteriana. De acuerdo con lo planteado por Lomelí et al., (2023), se evidencia una tendencia similar en cuanto a la eficacia de los bacteriófagos para reducir selectivamente poblaciones del género Vibrio en postlarvas de Litopenaeus vannamei. En su estudio, se observó una disminución significativa en la carga bacteriana en los grupos tratados con un cóctel fágico, sin efectos adversos sobre otras bacterias benéficas. Además, los fagos mostraron una notable estabilidad en condiciones variables, operando eficientemente en un amplio rango de temperaturas (20-60 °C) y salinidades (5-35 ppt), lo que refuerza su aplicabilidad en sistemas de cultivo con condiciones ambientales fluctuantes.

Estos hallazgos coinciden con los de Le et al., (2023), quienes reportaron que los bacteriófagos no solo disminuyeron la carga de *Vibrio parahaemolyticus*, sino que también promovieron la recuperación histológica de los tejidos afectados en *L. vannamei*, especialmente de el hepatopáncreas. De manera similar, en el presente estudio se evidenció una mejora fisiológica en las postlarvas tratadas, observándose la reducción de síntomas clínicos como nado errático, letargo y pigmentación anormal, así como una recuperación progresiva del comportamiento y del apetito. Además, se documentó regeneración de apéndices y mejoría en la integridad del exoesqueleto, lo que, en conjunto, sugiere que los bacteriófagos inciden no solo en la reducción bacteriana, sino también en la restauración de la salud estructural de los camarones, reforzando su potencial como una herramienta terapéutica integral en la acuicultura.

En condiciones de 20 ups, se evidenció un aumento en el peso promedio de las postlarvas de 0,1080 g (sin tratamiento) a 0,2095 g con bacteriófago, representando casi un doble incremento en el crecimiento. Este efecto fue más moderado a 30 ups,

donde el peso pasó de 0,1914 g a 0,2089 g, sugiriendo que, a mayor salinidad, el efecto positivo del bacteriófago sobre el crecimiento se estabiliza ya que hubo menor mortalidad. En términos de crecimiento, los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con los reportados por Karunasagar et al. (2006), quienes evaluaron el uso de bacteriófagos específicos contra *Vibrio* en larvas de *Litopenaeus vannamei*, observando una mejora significativa en la ganancia de peso y el estado general de los organismos, lo que respalda la hipótesis de que el control específico de patógenos mediante fagoterapia puede favorecer indirectamente el crecimiento al reducir el estrés inmunológico y mejorar la eficiencia alimenticia.

En cuanto a la supervivencia en salinidad de 20 sin bacteriófago fue de 89% mientras que con bacteriófago fue de 90%. Por otro lado, en condiciones de 30 ups, en el grupo sin bacteriófago fue de 81% mientras que con bacteriófago fue 94%. Estos resultados se alinean con los de Lomelí & Martínez (2014), quienes demostraron que la aplicación de bacteriófagos específicos produjo una significativa mejoría en la supervivencia (de 59 % a 77-80 %) en postlarvas de L. vannamei infectadas con V. parahaemolyticus. En este estudio, se observa un efecto similar, con un incremento del 13 % en la supervivencia a 30 ups (81 \rightarrow 94 %) y del 1 % a 20 Ups (89 \rightarrow 90 %). Los datos mostraron que el bacteriófago comercial mantuvo su viabilidad en las dos salinidades, pero su efectividad para reducir la población de Vibrio se incrementó significativamente a mayor salinidad. Este comportamiento coincide con lo reportado por Silva et al., (2014), quienes demostraron que, si bien la supervivencia del fago no se ve afectada por cambios salinos, su actividad lítica sí se potencia en ambientes marinos. Por tanto, la interacción entre salinidad y fagoterapia sugiere que optimizar la salinidad del sistema acuícola puede amplificar el control biológico sobre Vibrio, lo que refuerza la viabilidad de protocolos modulados para entornos salobres o de alta salinidad. Este comportamiento sugiere que el ajuste de la salinidad puede ser una estrategia adicional para potenciar la acción del bacteriófago en entornos acuícolas controlados.

CONCLUSIÓN

Tras finalizar el experimento se concluyó que:

- ➤ La aplicación de bacteriófago comercial demostró ser altamente eficaz en la en la reducción de la carga bacteriana de *Vibri*os en postlarvas de camarón cultivadas a salinidades de 20 y 30 ups. En ambos casos, la disminución fue significativa, alcanzando una reducción del 97,5% a 20 ups y del 99,1% a 30 ups.
- ➤ La mayor eficacia observada a 30 ups sugiere que la salinidad podría influir positivamente en el desempeño del bacteriófago, posiblemente porque las condiciones más salinas favorecen su actividad o porque las bacterias del género *Vibrio* se vuelven más susceptibles al ataque del bacteriófago en ese entorno.
- Luego de la aplicación del bacteriófago se observó una mejora significativa en la condición fisiológica de las postlarvas. Los signos de infección y estrés como: nado errático, letargo, pigmentación y daño tisular. Disminuyeron progresivamente, evidenciando una recuperación general del estado de salud. Esta recuperación fue más evidente en el grupo expuesto a salinidad de 30 ups.
- ➤ El tratamiento con bacteriófagos favoreció el crecimiento de las postlarvas, reflejado en un mayor incremento de peso promedio en ambos niveles de salinidad.
- ➤ La supervivencia de las postlarvas también se vio favorecida por el uso del bacteriófago. En 30 ups, la diferencia fue mayor, con un aumento del 13% en comparación con el grupo sin tratamiento. Esto refuerza la utilidad del bacteriófago como herramienta preventiva en condiciones de mayor riesgo.
- ➤ Finalmente, se evidencio una interacción significativa entre los niveles de salinidad y la dinámica poblacional de *Vibrio parahaemolyticus*. En 30 ups favorece su proliferación, mientras que en 20 ups actúa como un factor limitante parcial. En ambos casos el bacteriófago logró reducir eficazmente la carga bacteriana, con una eficiencia aun mayor en condiciones de salinidad alta

RECOMENDACIONES

- Explorar la eficacia del bacteriófago comercial en un rango más amplio de salinidades, incluyendo niveles inferiores a 20 ups y superiores a 30 ups, con el fin de determinar los umbrales óptimos de acción y evaluar si existen condiciones límite donde la efectividad del fago se vea comprometida o potenciada.
- Ampliar la investigación a diferentes condiciones ambientales, como variaciones de temperatura o pH, para evaluar si influyen en la eficacia del bacteriófago comercial y su capacidad de reducir Vibrio parahaemolyticus en distintos escenarios de cultivo.
- Realizar estudios a mayor escala, tanto en condiciones controladas como en sistemas productivos reales (estanques o piscinas de engorde), para validar la efectividad del bacteriófago comercial en condiciones más cercanas a la realidad de campo.
- Promover el uso de fagoterapia como alternativa sostenible al uso indiscriminado de antibióticos, difundiendo los resultados obtenidos a productores, técnicos y laboratorios larvarios como una opción ecológica, eficiente y segura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adenaya, A., Berger, M., Brinkhoff, T., y Ribas, M. &. (2023). *Usage of antibiotics in aquaculture and the impact on coastal waters*. Marine Pollution Bulletin, Volume 188: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114645
- Aguirre Celi, D., Maridueña Arroyave, M., y Pérez Perdom, O. (2019). *Métodos de producción en el cultivo intensivo de camarón blanco (litopenaeus vannamei) en baja salinidad, una opción para familias emprendedoras.* Revista Científica Ciencia Y Tecnología, 19(23): https://doi.org/10.47189/rcct.v19i23.256
- Aguirre, L., Sáchez, H., y 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: https://doi.org/10.15381/rivep.v32i4.19386
- Barrantes, E. (2023). Efectos de la bacteria patógena Vibrio parahaemolyticus en camarones (Litopenaeus vannamei) de cultivo y en la salud del consumidor.

 Pensamiento Actual: DOI 10.15517/PA.V23I40.55171
- Barros, O., y Correa, Y. (2024). Efecto del extracto de oreganón (Plectranthus amboinicus) en fresco, aplicado sobre la dieta para la reducción Vibrios spp en Litopenaeus vannamei. https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/23455/1/Trabajo_Titulaci on_3660.pdf
- Berger, C. (2020). La acuicultura y sus oportunidades para lograr el desarrollo sostenible en el Perú. https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/southsustainability/article/view/585/640
- Castillo, B. d., y Velasquez, P. C. (2021). Manejo estacional de los sistemas de producción de camarón en el Ecuador. *Sociedad & Tecnologia, 4*(3), 447-461. https://doi.org/https://doi.org/10.51247/st.v4i3.151

- Cevallos, N. (2024). Análisis financiero del sector pesca y acuicultura del Ecuador.

 Tesis de Grado Universidad Tecnica de Ambato:

 https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/d7058cfb-402f-4a348325-e54a940edae0/content
- Chancay, G., Avila, M., y Conforme, D. (2021). Comportamiento del sector camaronero como determinante en la generación de empleo en el Cantón Jama. *Polo del Conocimiento, 6*(9), 1897- 1914. https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3146
- Chandrakala, N., y Priya, S. (2017). Vibriosis in shrimp aquaculture a review.

 International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/53205059/2297-libre.pdf?1495266020=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DVibriosis_in_Shrimp_Aquaculture_A_Review.pdf&Expires=1736734571&Signature=WtseLWIBAdU23EUnl6-k3PkiBwkYWKB4lAcKQTeaVKMgguTEsGr6~c~wn
- Chang, A., Tung Chang, H., Yu Lee, T., Seng Lin, J., y Hung Liu, C. (2024). SYNLAC prime probiotics enhances growth performance, and resistance of white shrimp, Penaeus vannamei to Enterocytozoon hepatopenaei and Vibrio alginollyticus: Insights into immune and metabolic pathway modulations. Fish & Shellfish Immunology: https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.110016
- Cuellar, J. (2013). *Vibriosis*. The Center for Food Security & Public Health: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/48428288/vibrios_y_vibriosis_Cuellar-libre.pdf?1472537744=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DVibriosis.pdf&Expires=1736748905&Sign ature=bzo6C8ZMDVIoDvRXbnYI7IuZtwqvwvvGVXNX45cTT5M-C5W9LxIrnUTzHWnw4M0U2
- FAO. (2021). Food and Agriculture Organization of The United Nations. https://www.fao.org/interactive/state-of-food-security-nutrition/2021/en/
- Fernández, L., Gutiérrez, D., García, P., y Rodríguez, A. (2019). *The Perfect Bacteriophage for Therapeutic Applications—A Quick Guide*. Antibiotics, 8(3), 126: https://doi.org/10.3390/antibiotics8030126

- Figueredo, A., Fuentes, J., Cabrera, T., León, J., Patti, J., Silva, J., . . . Marcano, N. (2020). *Bioseguridad en el cultivo de camarones penaeidos: una revisión*. AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura: https://doi.org/10.33936/at.v2i1.2409
- Ghosh Kumar, A., Panda Kumar, S., y Luyten, W. (2021). *Anti-vibrio and immune-enhancing activity of medicinal plants in shrimp: A comprehensive review.* Fish & Shellfish Immunology: https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.08.006
- Gordillo, F., y Barr, J. (2019). *Phage Therapy in the Postantibiotic Era*. Clin Microbiol Rev: https://doi.org/10.1128/cmr.00066-18
- Gracia Valenzuela, M., Márquez Castillo, J., Leyva, J., Ortega Ramirez, L., Cardoso Antonio, J., Sital Gastelum, M., . . . Gutiérrez Pacheco, M. (2024). Resistencia a antibióticos de vibrios aislados durante el cultivo de camarón blanco (Litopenaeus vannamei). Revista Latinoamericana de Recursos Naturales: https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/343
- Gxalo, O., Digban, T., Igere, B., Olapade, O., Okoh, A., y Nwdo, U. (2021).) Virulence and Antibiotic Resistance Characteristics of Vibrio Isolates From Rustic Environmental Freshwaters. Front.Cell. Infect. Microbiol: https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.732001
- Hernandez, C., y Amaro, C. (2020). Phylogeny and life cycle of the zoonotic pathogen Vibrio vulnificus. *Environmental Microbiology*, 22, 4133-4148. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1462-2920.15137
- Jamal, M., Bukhari, S., Ali, M., Andleeb, S., Raza, S., Nawaz, S., . . . Shah, S. (2019).

 Bacteriophages: an overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. J Basic Microbiol: https://doi.org/10.1002/jobm.201800412
- Karunasagar, I. S. (2006). *Bacteriophage-mediated control of bacterial pathogens in aquaculture*. Aquaculture: https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.049
- Kim, S., Young, H., Kwon, J.-G., Ho, S., y Lee, J.-H. (2021). Fresh crab plays an important role as a nutrient reservoir for the rapid propagation of Vibrio

- vulnificus. Frontiers in Microbiology, 12, 645860. https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.645860
- Le Son, T., y Kurtböke, İ. (2019). *Bacteriophages as biocontrol agents in aquaculture*.

 . Microbiology Australia 40, 37-41.: https://doi.org/10.1071/MA19003
- Le, H. B., Le, V. D., Tran, T. L., y Truong, T. B. (2023). Effect of bacteriophage on histopathology and disease resistance of Whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) infected by Vibrio parahaemolyticus. Veterinary Integrative Sciences, 22(2), 511–523.: https://doi.org/10.12982/VIS.2024.036
- Lomelí-Ortega, C., Barajas-Sandoval, D., y Quiroz-Guzmán, E. (2023). *A Broad-Host-Range Phage Cocktail Selectively and Effectively Eliminates Vibrio Species from Shrimp Aquaculture Environment.* . Microb Ecol 86, 1443–1446: https://doi.org/10.1007/s00248-022-02118-1
- Lomelí-Ortega, C., y Martínez-Díaz, S. (2014). *Phage therapy against Vibrio parahaemolyticus infection in the whiteleg shrimp (Litopenaeus vannamei) larvae*. Aquaculture: https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.08.018
- Luo, K., Zhao, P., El, Y., Kang, S., Yu, C., y Shuo, W. (2022). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano contra Vibrio vulnificus y su mecanismo. *Foods,* 11(3), 403. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11030403
- Martín Ríos, L., Espinosa López, G., y Carrillo Farnés, O. (2022). Sistema inmune de camarones peneidos de cultivo: Una revisión. Revista de Producción Animal, 34(1), 127-153: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202022000100127&lng=es&tlng=es.
- Molina-Quiroz, R., Camili, A., y Silva-Valenzuela, C. (2023). *Role of Bacteriophages in the Evolution of Pathogenic Vibrios and Lessons for Phage Therapy*. Vibrio spp. Infections. Advances in Experimental Medicine and Biology: https://doi.org/10.1007/978-3-031-22997-8_8
- Muñoz, D. (2022). Validación de estrategias profilacticas en larvicultura de camarón Penaeus vannamei en la provincia de Santa Elena, Mar Bravo. Tesis de grado Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena:

- https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/8074/1/UPSE-TBI-2022-0020.pdf
- Nachimuthu, R., Royam, M., Manohar, P., y Leptihn, S. (2021). Application of bacteriophages and endolysins in aquaculture as a biocontrol measure.
 Biological Control, 160, 104678: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104678
- Ninawe, A., Sivasankari, S., y Ramasamy, P. (2020). *Bacteriófagos para el control de enfermedades en la acuicultura*. Aquacult Int 28 , 1925–1938: https://doi.org/10.1007/s10499-020-00567-4
- Pérez, M., Alvarez Cisneros, Y., Soriano Santos, J., y Pérez Hernández, M. (2020).

 Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión.

 Hidrobiológica vol.30 no.1:

 https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/Perez
- Renteria, F. (2018). Obtención y evaluación de fagos para el control de bacterias patógenas tipo Vibrio en camarón blanco Litopenaeus vannamei. Tesis de grado Universidad Estatal de Sonora: http://investigacionyposgrado.ues.mx/archivos/repositorio/07182018%20Rent er%C3%ADa-Flores.pdf
- Sánchez Martínez, J., Rábago Castro, J., Pérez Castañeda, R., Benavides González, F., y Vázquez Sauceda, M. &. (2024). *Acuacultura sostenible: salud en peces cultivados y alternativas a los compuestos químicos*. Ciencias Veterinarias Y Producción Animal, 2(1), 60–73.: https://doi.org/10.29059/cvpa.v2i1.24
- Sánchez, A. M. (2020). *Pesca y Acuicultura en Ecuador*. Pesca y Acuicultura en Ecuador: https://obest.uta.edu.ec/wp-content/uploads/2020/08/Pesca-y-acuicultura-en-Ecuador-1.pdf
- Saucedo, J., Honorio Javes, C., Vallenas Sáchez, Y., y Acuña Leiva, A. (2020). Bacteriófagos: aliados para combatir enfermedades bacterianas en acuicultura. Un primer punto de partida en la acuicultura ecológica. Journal of the Selva Andina Animal Science, 7(2), 107-121: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2311-25812020000200008&Ing=es&tIng=es.

- Schulz, P., Pajdak-Czaus, J., y Siwicki, A. (2022). *In Vivo Bacteriophages' Application for the Prevention and Therapy of Aquaculture Animals—Chosen Aspects*.

 Animals, 12(10): https://doi.org/10.3390/ani12101233
- Socarras, D., Sanchez, A., y Gonzalez, O. (2019). Riesgo, vulnerabilidad e incertidumbre en la acuicultura. *REVISTA CUBANA DE FINANZAS Y PRECIOS*, 3(1), 102-113. https://doi.org/http://www.mfp.gob.cu/revista_mfp/index.php/RCFP/article/view /03_V3N12019_DSyOtros
- Sorroza, L., Campoverde, M. I., y Santacruz-Reyes, R. (2017). Estudio preliminar del extracto de dos plantas medicinales con efecto antibacteriano para uso en acuicultura . AquaTIC, 49, 1-7.: https://www.redalyc.org/journal/494/49463406001/49463406001.pdf
- Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Acosta, B., y Real, F. (2009). Uso de probióticos en Acuicultura. Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias: https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/12399/1/0280574_0006_0010.pdf
- Tenecota, R., Mite, J., y Alcivar, S. (2018). Enfermedades, tratamientos y recomendaciones en el cultivo del camarón. *Espirales*, 2(22), 93-107. https://doi.org/https://doi.org/10.31876/re.v2i22.379
- Tynecki, P., Arkadiusz, G., Kazimierczak, J., Jadczuk, M., Dastych, J., y Onisko, A. (2020). *PhageAI Bacteriophage Life Cycle Recognition with Machine Learning and Natural Language Processing*. bioRxiv: https://doi.org/10.1101/2020.07.11.198606
- Ullsco Azuero, E., V, G. M., Quezada Campoverde, J., y Barrezueta Unda, S. (2021).

 Análisis del comportamiento económico de la exportación en el sector camaronero en el Ecuador, periodo 2015- 2019. Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas, 4(S1), 112-119.:

 https://www.researchgate.net/publication/354006487_Analisis_del_comporta miento_economico_de_la_exportacion_en_el_sector_camaronero_en_el_Ecu ador_periodo_2015-_2019
- Vinay, T., Ray, A., Avunje, S., Thangaraj, S., Krishnapa, H., Viswanathan, B., . . . Patil, P. (2019). *La biopelícula de Vibrio harveyi como candidato inmunoestimulante*

para el cultivo de camarón blanco del Pacífico, Penaeus vannamei, de alta salud. Inmunología de pescados y mariscos: https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.004

ANEXOS

| Descriptivos | | | | | | | | |
|---------------------------|----|---------------|-------------------|-------------------|---|-----------------|-------------|-------------|
| Carga Bacteriana (UFC/gh) | | | | | | | | |
| | N | Media | Desv. estándar | Error estándar | 95% de intervalo de confianza para la media | | Mínim o | Máxim o |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | - | |
| 20- Bacteriofago | 3 | 4,63E+ 004 | 8,505E+0 03 | 4,910E+0 03 | 2,52E+00 4 | 6,75E+00 4 | 4,E+0 04 | 6,E+0 04 |
| 20-No Bacteriofago | 3 | 1,86E+ 006 | 1,512E+0 06 | 8,730E+0 05 | - 1,90E+00 6 | 5,61E+00 6 | 3,E+0 05 | 3,E+0 06 |
| 30- Bacterioago | 3 | 1,68E+ 004 | 1,200E+0 03 | 6,928E+0 02 | 1,38E+00 4 | 1,98E+00 4 | 2,E+0 04 | 2,E+0 04 |
| 30-No Bacteriofago | 3 | 1,83E+ 006 | 1,630E+0 06 | 9,411E+0 05 | - 2,22E+00 6 | 5,88E+00 6 | 2,E+0 05 | 3,E+0 06 |
| Total | 12 | 9,38E+ 005 | 1,340E+0 06 | 3,868E+0 05 | 8,67E+00 4 | 1,79E+00 6 | 2,E+0 04 | 3,E+0 06 |

Anexo 1 Resultado descriptivo Carga bacteriana de Vibrios (UFC)

| ANOVA | | | | | | | |
|---------------------------|------------|----|------------|-------|------|--|--|
| Carga Bacteriana (UFC/gh) | | | | | | | |
| | Suma de | gl | Media | F | Sig. | | |
| | cuadrados | | cuadrática | | | | |
| Entre grupos | 9862194306 | 3 | 3287398102 | 2,660 | ,119 | | |
| | 666,666 | | 222,222 | | | | |
| Dentro de | 9886518880 | 8 | 1235814860 | | | | |
| grupos | 000,000 | | 000,000 | | | | |
| Total | 1974871318 | 11 | | | | | |
| | 6666,664 | | | | | | |

Anexo 2 Anova de carga bacteriana

| +.0 | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------|--------|-------------------|-------------------|---|--------------------|------------|------------|
| | | | | | | | | |
| +Descriptivo | | (0() | | | | | | |
| Supervivencia | a de larv | as (%) | | | | | | |
| | N | Media | Desv. estándar | Error estándar | 95% de intervalo de confianza para la media | | Mínim o | Máxim o |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| 20- Bacteriofago | 16 | 90,00 | 4,993 | 1,248 | 87,34 | 92,66 | 86 | 100 |
| 20-No Bacteriofago | 16 | 88,88 | 6,712 | 1,678 | 85,30 | 92,45 | 80 | 100 |
| 30- Bacterioago | 16 | 94,13 | 2,125 | ,531 | 92,99 | 95,26 | 93 | 100 |
| 30-No Bacteriofago | 16 | 80,50 | 10,532 | 2,633 | 74,89 | 86,11 | 66 | 100 |
| Total | 64 | 88,38 | 8,309 | 1,039 | 86,30 | 90,45 | 66 | 100 |

Anexo 3 Resultados descriptivos de la supervivencia

| ANOVA | | | | | | | | |
|-----------------------------|-------------------|----|---------------------|--------|-------|--|--|--|
| Supervivencia de larvas (%) | | | | | | | | |
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. | | | |
| Entre grupos | 1567,500 | 3 | 522,500 | 11,271 | <,001 | | | |
| Dentro de grupos | 2781,500 | 60 | 46,358 | | | | | |
| Total | 4349,000 | 63 | | | | | | |

Anexo 4 Anova de supervivencia





Anexo 6 Obtención de postlarvas.

Anexo 5 Acondicionamiento de Unidades Experimentales.



Anexo 7 Manejo de calidad de agua.



Anexo 8 Conteo y ubicación de postlarvas.



Anexo 10 Preparación de alimento balanceado.



Anexo 9 Balanceado.



Anexo 12 Postlarvas infectadas.



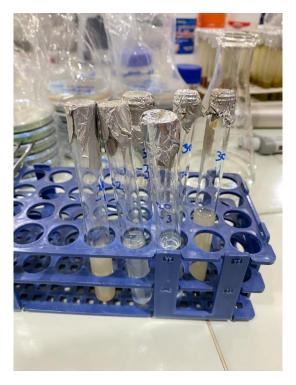
Anexo 13 Esterilización en cámara de flujo.



Anexo 11 Preparación de medio de cultivo.



Anexo 14 Extracción de Hepatopáncreas.



Anexo 15 Preparación de diluciones seriadas.



Anexo 16 Siembra en cajas Petri.



Anexo 18 Conteo de colonias.



Anexo 17 Conteo de colonias.



Anexo 21 Selección de postlarvas para extracción de hepatopáncreas.



Anexo 20 Medio de cultivo.



Anexo 22 Siembra de controles en cajas Petri.



Anexo 19 Siembra de cepa.



Anexo 24 Peso de postlarvas.



Anexo 23 Preparación de tratamiento.