



Caracterización de bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en Guayas, Ecuador

Caracterización de bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en Guayas, Ecuador

Publicado por: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Dir. Av. Quito km 1½ vía a Santo Domingo de los
Tsáchilas, Quevedo, Ecuador. www.uteq.edu.ec.

Derechos reservados: © Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador 2024.
Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT).
Se autoriza la reproducción de esta publicación con fines
educativos y otros que no sean comerciales sin permiso
escrito previo detentar el derecho de autor, mencionando
la cita.

Cita del libro: Moreira D. y Méndez Y. 2024. Caracterización de bacterias
nativas con potencial probiótico en el cultivo de camarón
(*Litopenaeus vannamei*) en Guayas, Ecuador. Universidad
Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. 82 pp.

Revisión de Pares Externos: Tiago Viana Da Costa
Doctorado en Ciencia Animal
UFAM Brasil

Maritza Soberanes Yepiz
Doctorado en Ciencias Ambientales
CIBNOR, México

Primera Edición: Quevedo, Mayo del 2024.

ISBN: 978-9942-666-08-6

Equipo Editorial: Econ. Carlos Edison Zambrano, Ph.D.
Director

Ing. Javier Patiño Uyaguari, M.Sc.

Revisión y Corrección

Ing. J. Bladimir Mora Macías

Edición y Diagramación

ISBN: 978-9942-666-08-6



Derechos de Autor © 2024
Diego Fernando Moreira Suarez
Yuniel Méndez Martínez

► PRESENTACIÓN

El Comité Editorial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ) es la unidad encargada de promover, gestionar y administrar el conocimiento resultante de las actividades de investigación científica, la docencia y la vinculación de docentes y estudiantes. Dentro del procedimiento para el reconocimiento al profesorado y estudiantado de la UTEQ se contempla la publicación como libros de Tesis de grado y posgrado que se distingan por su innovación, metodología, rigor técnico o impacto social.

El Proyecto de Investigación en opción al grado de Magister en Agroecología y Desarrollo Sostenible de Diego Fernando Moreira Suarez, obtenido en la “Universidad Técnica Estatal de Quevedo”, atiende a la normativa existente para ser publicado como libro y por ello el Comité Editorial de la UTEQ aprueba la visibilidad y acceso a la comunidad académica, científica y sociedad en general.



► **Caracterización de bacterias nativas con potencial
probiótico en el cultivo de camarón
(*Litopenaeus vannamei*) en Guayas, Ecuador**

AUTORES:

Diego Fernando Moreira Suarez

Yuniel Méndez Martínez



AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, a la Unidad de posgrado, por el Programa de Maestría en Acuicultura, con énfasis en los docentes de la maestría de Acuicultura por el conocimiento transmitido durante mi formación.

En especial a mi distinguido director de Tesis, Ing. Yuniel Méndez Martínez, PhD. por ser de guía y enriquecer los conocimientos ya adquiridos.

A mis amigos y colegas Biol. Carlos Reyes, ing. Tayron Vera Msc, ing. Alan Vera. Por el apoyo logístico. Gracias por todo, este logro lo comparto con

PRÓLOGO

En el vasto y dinámico mundo de la acuicultura, la búsqueda de prácticas sostenibles y eficaces es fundamental para garantizar no solo la viabilidad económica de la industria, sino también la salud y el bienestar de las especies cultivadas. En este contexto, la caracterización de bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*, el camarón blanco del Pacífico, en la región de Guayas, Ecuador, emerge como un tema de gran importancia e interés.

El camarón es una de las principales especies cultivadas en el mundo, con un valor económico significativo y una demanda creciente en los mercados globales. Sin embargo, el cultivo intensivo de camarones no está exento de desafíos, desde enfermedades infecciosas hasta la gestión ambiental de los sistemas de producción. En este contexto, el uso de probióticos, especialmente bacterias nativas, ha surgido como una estrategia prometedora para mejorar la salud y el rendimiento de los camarones cultivados.

A través de este libro, los autores no solo nos brindan una comprensión más profunda de la diversidad microbiana en los sistemas acuáticos, sino también una visión de cómo esta diversidad puede ser aprovechada para promover la salud y la productividad en la acuicultura. Además, se exploran temas importantes como la inocuidad alimentaria, la sostenibilidad ambiental y los desafíos prácticos de la aplicación de probióticos en la producción comercial de camarones.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN..... 12

CAPÍTULO 1: Contextualización de la Investigación..... 14

1.1. Problema Científico..... 15

1.2. Hipótesis..... 15

1.3. Objetivo General..... 16

1.4. Objetivo Específicos..... 16

CAPÍTULO 2: Fundamentación Teórica de la investigación..... 17

2.1. *Litopenaeus vannamei*..... 18

2.1.1. Generalidades de *Litopenaeus vannamei*..... 18

2.1.2. Principales enfermedades en *L. vannamei*..... 18

2.1.3. Resistencia a las enfermedades en *L. vannamei*..... 19

2.2. Bacterias probióticas en la acuicultura..... 19

2.2.1. Importancia de los probióticos en acuicultura..... 19

2.2.2. Uso de Probióticos en las dietas..... 21

2.2.3. Acción de probióticos en la microbiota intestinal del
hospedero..... 22

2.2.4. Acción de probióticos en la digestión y absorción de
nutrientes..... 24

2.2.5. Efectos de probióticos en la respuesta inmune en
invertebrados..... 25

2.3. Bacterias nativas gastrointestinales..... 30

2.3.1. Grupos bacterianos..... 30

2.4. Técnica de identificación Bacteriana..... 31

2.4.1. Pruebas Bioquímicas diferenciados..... 21

2.5. Investigaciones sobre el uso de probióticos en *L. vannamei*. 32

CAPÍTULO 3: Metodología..... 34

3.1. Localización..... 35

3.2. Diseño de la investigación y captura de los camarones..... 35

3.3.	Instrumentos de investigación.....	37
3.3.1.	Traslado de camarones.....	37
3.3.2.	Parámetros de calidad de agua de los estanques de cultivo.....	37
3.3.3.	Indicadores biológicos de los camarones.....	37
3.3.4.	Extracción del Tracto Gastrointestinal (TGI).....	38
3.3.5.	Aislamiento bacteriano y siembra.....	38
3.3.6.	Cultivo bacteriano.....	38
3.3.7.	Pruebas de confirmación.....	39
3.3.8.	Prueba de antagonismo.....	39
3.4.	Análisis estadísticos.....	40
CAPÍTULO 4: Resultados.....		41
4.1.	Parámetros fisicoquímicos del agua.....	42
4.2.	Indicadores biológico de los camarones.....	43
4.2.1.	Peso.....	43
4.2.2.	Talla.....	44
4.2.3.	Índice hepatosomático.....	45
4.3.	Aislamiento bacteriano.....	45
4.4.	Selección de cepa de bacterias.....	47
4.4.1.	Prueba de antagonismo.....	47
Discusión.....		49
-Parámetros del Agua.....		49
-Indicadores biológico.....		53
-Aislamiento bacteriano.....		54
-Prueba de Antagonismo.....		56
Conclusiones.....		58
Referencias Bibliográficas.....		59
Anexos.....		75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Condiciones meteorológicas Campus “La María” UTEQ – Mocache.....	35
Tabla 2.	Composición fisicoquímica del agua de las piscinas por zonas.....	43
Tabla 3.	Morfología colonial de cepas bacterianas aisladas del intestino de camarones adultos <i>L. vannamei</i>	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema donde se ilustra los mecanismos potenciales por los cuales bacterias probióticas pueden impactar en la microbiota.....	23
Figura 2.	Activación del sistema profenoloxidasa (Rosa y Barracco 2010).....	26
Figura 3.	Mecanismos degradativos y microbicidas asociados a los hemocitos de crustáceos durante el proceso de fagocitosis.....	29
Figura 4.	Flujograma del experimento.....	62
Figura 5.	En la variable de Peso como factor biológico de <i>L. vannamei</i> , las barras y las barras de desviación estándar Mean $\pm$ Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre zonas.....	43
Figura 6.	En la variable de Talla, como factor biológico de <i>L. vannamei</i> , las barras y las barras de desviación estándar Mean $\pm$ Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre zonas.....	44

Figura 7.	En la variable índice hepatosomatico como factor biológico de L. vannamei. las barras y las barras de desviación estándar Mean $\pm$ Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre zonas.....	45
Figura 8.	Halos de inhibición utilizando la técnica de difusión.....	47
Figura 9.	Efecto antagónico de bacterias con potencial probiótico contra cepas de Vibrio patógeno la mayor actividad antagónica en la inhibición del crecimiento de V. Parahaemolyticus.....	48

INTRODUCCIÓN

El cultivo del camarón blanco *L. vannamei* en el Ecuador inicio a mediados del año de 1968, en el sector de Santa Rosa, en la provincia de El Oro. En 1970 en las provincias de El Oro y Guayas con la disponibilidad de salitres y la abundancia de larvas silvestres la camaronicultura se volvió un negocio rentable en el Ecuador (Bolívar Arguello 2014). En el 2020 se obtuvo una producción de 570.000 toneladas métricas, con un porcentaje mayor del 9,2% entre el 2015 y el 2020. Ecuador continuara representado más de la mitad del suministro de camarón de cultivo en el hemisferio Occidental (Boyd et al. 2021).

En la actualidad existen nuevas enfermedades de crustáceos que han sido declaradas de notificación obligatoria por la Organización Mundial de Sanidad Animal, que incluyen ocho publicadas en el código acuático y la nueva enfermedad de la Necrosis Aguda del hepatopáncreas causada por la bacteria *Hepatobacter penaei*, que fue recientemente incorporada (Valverde y Varela 2018). Peña y Varela (2016), sostienen que el total de enfermedades que afectan la producción de camarón a nivel mundial, las más destacadas son virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa, virus del síndrome de Taura, virus de la mancha blanca, virus de la cabeza amarilla, e virus de la mionecrosis infecciosa estas son causantes de altas mortalidades en las etapas larvarias.

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria perteneciente al género *Vibrio*, gram negativa, halófila, anaerobia facultativa, curva y móvil ampliamente difundida en entornos marinos y costeros, libre o asociada a zooplancton, peces y mariscos. Es un patógeno zoonótico, principal agente implicado en gastroenteritis aguda asociada a alimentos marinos, aunque también afecta a otros hospedadores como el camarón. Es una bacteria predominante del aparato digestivo de moluscos bivalvos que, al alimentarse por filtración, acumulan y concentran contaminantes naturales o antropogénicos (Burgo-Randán y Arias-Rodríguez 2020).

Recientemente se demostró que una cepa de *V. parahaemolyticus* causa enfermedades asociadas a la necrosis del hepatopáncreas del camarón. Esta cepa se caracteriza por producir dos toxinas, ToxA y ToxB, que actúan de forma binaria (ToxAB) para provocar la enfermedad y muerte de los organismos infectados (Guluarte-Vélez 2016). Existen varias soluciones para los problemas antes expuestos, la forma tradicional como el intercambio de agua, uso de antimicrobianos, administración de microorganismos y varios productos comerciales que producen un efecto beneficioso mejorando la calidad de su entorno e incrementando los parámetros productivos del *L. vannamei* (Toledo, 2018).

Una alternativa promisorio y con éxito para el control de enfermedades del camarón y mejorar el estado nutricional de los *L. vannamei* es el uso de probióticos. Este conjunto de microorganismos o sustancias contribuyen al balance de la flora benéfica del individuo, al bienestar y salud de los organismos (Zorriehzahra et al. 2018). Los probióticos, se definen como microorganismos vivos que administrados como suplemento en la dieta actúan como modificadores del microbiota asociada al tracto gastrointestinal del hospedador y generan efectos benéficos como el incremento en la conversión alimentaria, resistencia a enfermedades, además, mejora la calidad del agua (Villamil et al. 2009). Así estos probióticos son empleados para mejorar el crecimiento y producción de diversas especies de animales entre ellas los crustáceos (Maldonado et al. 2016).

El efecto de los probióticos en *L. vannamei* mejora en los parámetros de producción, considerando que la identificación de este tipo de microorganismos depende de la obtención de cultivos puros mediante la utilización de técnicas de aislamiento y purificación. Por tanto, el objetivo de la presente investigación tiene la finalidad de caracterizar las bacterias nativas con potencial probiótico en el *L. vannamei* cultivado en zona de la provincia del Guayas con la finalidad de utilizarlas en un futuro en la elaboración de probióticos que mejoren el sistema inmunológico y mejore los parámetros productivos.

CAPÍTULO I.

Planteamiento de la investigación

1.1. Problema Científico

El desarrollo de la producción de camarón ha provocado un deterioro en la calidad de las aguas, favoreciendo a la contaminación y la proliferación de algunas comunidades específicas de bacterias; las mismas que pueden ser causantes de graves problemas patológicos para los cultivos, especialmente en los estados larvales de los camarones. Ante esto las patologías de tipo bacteriano han generado un aumento de la incidencia de enfermedades infecciosas. El impacto de las enfermedades bacterianas como *Vibrio* sp, la mancha blanca entre otras ha generado grandes pérdidas económicas.

En cualquier tipo de explotación animal, se emplean antibióticos, que refuerzan y potencien los parámetros productivos, sin embargo, muchas veces el uso excesivo de estos productos causa serios problemas, los más comunes es la resistencia de los patógenos, la contaminación del medio ambiente, llegando alterar los ecosistemas que los rodean.

1.2. Hipótesis

El aislamiento y caracterización de bacterias nativas en *Litopenaeus vannamei* cultivado, podría permitir la obtención de bacterias con potencial probiótico que se valoran como una alternativa profiláctica y terapéutica para ser empleados en los cultivos de camarón.

1.3. Objetivo General

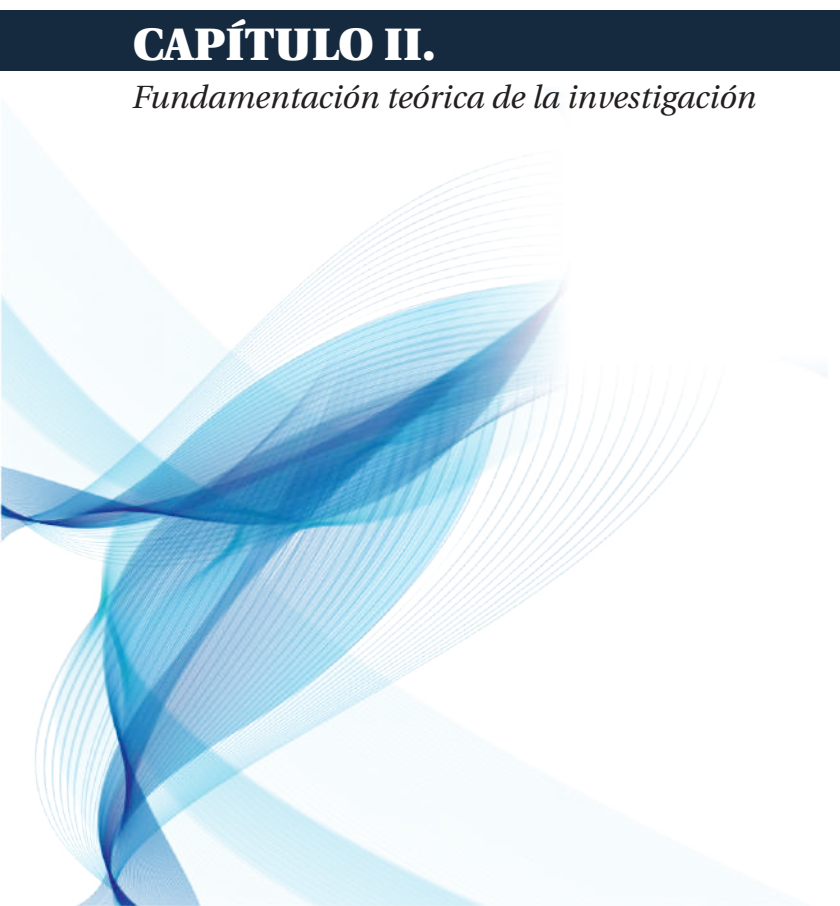
- ☞ Caracterizar bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*, Guayas.

1.3.2. Específicos

- ☞ Aislar bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*.
- ☞ Caracterizar la morfología de bacterias nativas con potencial probiótico en el cultivo de *L. vannamei*.
- ☞ Evaluar la eficacia de los microorganismos con potencial probióticos ante un patógeno (*Vibrio parahaemolyticus*).

CAPÍTULO II.

Fundamentación teórica de la investigación



2.1. Litopenaeus vannamei

2.1.1. Generalidades de Litopenaeus vannamei

El *L. vannamei* es un crustáceo decápodo macruro nadador de mediano tamaño, comestible, apreciado y comercializado en nuestros mercados. Se trata de una especie autóctona, nativa de la costa oriental del océano pacífico, desde Sonora hasta Perú, pero que hoy procede de los cultivos en numerosos países del continente americano (Arias et al. 2019).

La nutrición del camarón está basada en alimentos artificiales suministrados por el granjero y por una importante variedad de organismos (algas, pequeños invertebrados bentónicos, entre otros.) y detritos orgánicos, que son parte de la productividad natural y del ambiente marino (Kiatmetha et al. 2011).

La calidad del agua de la piscina es un punto crítico en el proceso de producción y se deben tener en cuenta algunas variables del ambiente acuático como el pH, la temperatura y la salinidad. El cambio en estos factores favorece la proliferación de determinadas especies de microorganismos patógenos con brotes de enfermedad, eventuales mortalidades y baja calidad del producto final (Toledo 2018).

2.1.2. Principales enfermedades en *L. vannamei*

Las principales enfermedades en el *L. vannamei* son de diversos orígenes tanto bacteriana, fúngicas y parasitarias. A su vez, existe tres enfermedades principales que son de origen viral: Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa IHNV, Virus del Síndrome de Taura TSV y Virus de la Mancha Blanca WSSV. El IHNV puede ocasionar el Síndrome de deformidad y enanismo (RDS); el TSV y causa pérdidas financieras debido a su índice de mortalidad, y el (WSSV) tiende aparecer manchas blancas y anomalías en varias funciones (Montero 2017).

2.1.3. Resistencia a las enfermedades en *L. vannamei*

El tratamiento de la vibriosis en camarón se realiza con antibióticos como oxitetraciclina, enrofloxacin, florfenicol y, en algunas ocasiones, norfloxacin. Sin embargo, dichos antibióticos se aplican a menudo de manera inadecuada, sin hacer análisis de sensibilidad antibiótica, en dosis excesivas y, a veces, como preventivo, lo que propicia el desarrollo de resistencia bacteriana. La resistencia antibiótica de estas cepas hace que la eficacia del tratamiento antibiótico sea cada vez menos eficaz. A su vez, se están ensayando otras opciones terapéuticas, como son los fitobióticos (extractos y aceites esenciales de plantas) (Aguirre et al. 2021).t

2.2. Bacterias probióticas en la acuicultura

La habilidad de las bacterias para adherirse y sobrevivir en el mucus entérico es decisiva en el establecimiento del microbiota intestinal. La medida de adherencia es una función que es utilizada, tanto por las bacterias probióticas como por las patógenas. En cuanto a las probióticas, es uno de los criterios más importantes para su selección y uso en acuicultura (Toledo 2018).

La información disponible indica que las bacterias aisladas de animales cultivados o de su entorno tienen mayor capacidad de adhesión al mucus gastrointestinal y a los tejidos, respecto a bacterias foráneas. Por ese motivo, los efectos de muchos probióticos suelen ser de corta duración y deben administrarse de manera continua, ya sea como suplemento en la alimentación o a través del agua de cultivo para mantener sus efectos biológicos, a menos que sean desarrollados a partir de cepas aisladas del propio ecosistema acuático (Sánchez et al. 2018).

2.2.1. Importancia de los probióticos en acuicultura

Si bien la definición inicial de los probióticos propuesta en 1965 se refería a sustancias secretadas por los microorganismos que estimulan el crecimiento de otros (en oposición a los antibióticos), la definición de la OMS

de probiótico se refiere a microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del huésped (Oliveira y González-Molero 2016).

La mayoría de los microorganismos probióticos propuestos para su uso en la acuicultura pertenecen al grupo de bacterias ácido-lácticas (LAB), de las cuales los géneros más utilizados son *Lactobacillus* y *Lactococcus* (Villamil Díaz y Martínez-Silva 2009). Estos son considerados como GRAS ("Generally recognized as safe"), reduciendo la necesidad de ensayos de seguridad biológica, inevitables para garantizar que la implementación de aislados probióticos no va a causar daños colaterales a los organismos cultivados ni al consumidor final (Villamil et al. 2009).

El efecto benéfico de la administración de probióticos depende de la especie de interés, de la misma forma otros factores deben ser considerados para la administración de los suplementos probióticos como el microbioma y la abundancia relativa. Con relación al microbioma del tracto gastrointestinal, este puede estar conformados por bacterias, arqueas, hongos, levaduras, protozoos, y virus. Entonces, los tratamientos con probióticos pueden ser considerados como métodos de control biológicos y por ello se les ha llamado organismos de bio-control, los cuales limitan o eliminan plagas por la introducción de organismos adversos, parásitos libres o patógenos específicos (Opazo et al. 2020).

Muchos mecanismos tuvieron que ser postulados por los cuales los probióticos incrementan la salud del organismo huésped. Estos mecanismos incluyen la creación de un ambiente hostil para patógenos por la producción de compuestos inhibitorios (bacteriocinas, lisosinas, proteasas y peróxido de hidrógeno), competencia por nutrientes esenciales y sitios de adhesión, suministro de nutrientes y enzimas; resultando en el incremento nutricional de animales cultivados, absorción directa de materia orgánica disuelta por bacterias y la modulación de las interacciones con el medio ambiente así como el desarrollo de la respuesta inmune (Irianto y Austin. 2002; Balcázar et al. 2006).

En este sentido, los probióticos se presentan como una alternativa potencial y efectiva, tanto como promotores de crecimiento así como sustancias que previenen la proliferación de enfermedades en los sistemas de cultivo, ya sea provocando modificaciones en la microbiota intestinal, lo cual influye positivamente en numerosos procesos incluyendo la digestión, la inmunidad y la resistencia a enfermedades, de tal manera que funcionan adecuadamente como promotores de crecimiento (Vaughan et al. 2002).

Entre los principales mecanismos de acción descritos para probióticos que se emplean en la acuicultura se incluyen: la capacidad para colonizar y adherirse al tracto intestinal, la modulación del sistema inmune, la producción de compuestos benéficos, la producción de sustancias antagónicas contra patógenos y la mejora de la calidad del medio acuático. El levantamiento de probióticos es con el propósito de llevar el cultivo a una producción en mayor escala para establecer si estos podían crecer en biorreactores específicos para cada microorganismo (Toledo 2018).

La biodiversidad y la capacidad biosintética de los microorganismos en condiciones ambientales específicas los convierten en candidatos para resolver problemas de escasez de alimentos, el control de plagas y la biodegradación de xenobióticos, entre otros. Los microorganismos ofrecen un enorme potencial en el estudio de moléculas y procesos. Pueden integrarse mediante técnicas recombinante en especies biológicamente ya conocidas, como *E. coli* y *S. cerevisiae*, para la producirse a gran escala de productos (Ortíz 2019).

2.2.2. Uso de Probióticos en las dietas

En general, el uso de probióticos en el cultivo de camarón ha tenido buenas perspectivas; diversas publicaciones científicas han demostrado efectos positivos de la aplicación de probióticos. Sin embargo, los resultados obtenidos en algunas granjas pueden ser variables debido a diferentes factores, que pueden afectar el resultado de las operaciones a largo plazo, como la calidad del probióticos, el modo de administración,

la talla y las especies de camarón (Villamil et al. 2009). Algunas características deseables de los probióticos incluyen su origen, la adhesión a la mucosa intestinal, la seguridad del huésped, el antagonismo a los patógenos, la estimulación del sistema inmunológico del huésped y la eliminación de materia orgánica. Recientemente, hay una atención especial en la búsqueda de *Bacillus spp.* y levaduras (para cultivar muchas especies de interés acuícola. *Bacillus spp.* (Morales-Cristóbal et al. 2022).

2.2.3. Acción de probióticos en la microbiota intestinal del hospedero

La microbiota intestinal de los organismos acuáticos, representa un factor importante el mantenimiento de la salud del organismo previniendo la colonización de patógenos, la degradación de los alimentos, la formación de compuestos antimicrobianos, producción de nutrientes y manteniendo la mucosa normal inmunitaria (Escobar Briones et al. 2006).

Otra característica importante ha surgido en los últimos años como la microbiota comensal influencia procesos como son el metabolismo de lípidos del huésped, así como el desarrollo de la respuesta inmune. La interrelación entre el huésped y los microorganismos son claramente importantes para la salud y el desbalance entre estos sistemas ocasiona el desarrollo de enfermedades. Méndez-Martínez et al. (2022) Menciona que la mezcla de probiótico induce a una respuesta en la sangre que mejora los indicadores biológicos y nutricionales.

Las funciones potenciales por los cuales los probióticos influyen sobre la microbiota intestinal. El consumo de probióticos puede modular la microbiota o cambiar sus propiedades metabólicas por competición por sustratos nutricionales y por alteración de la dinámica de la utilización de carbohidratos por parte de la microbiota intestinal. La aplicación de métodos para determinar perfiles metabólicos en modelos animales ha sugerido otra ruta indirecta por lo cual las bacterias probióticas pueden

impactar en la microbiota, ya sea por producción de un microambiente diferente debido a un rango diverso de rutas metabólicas.

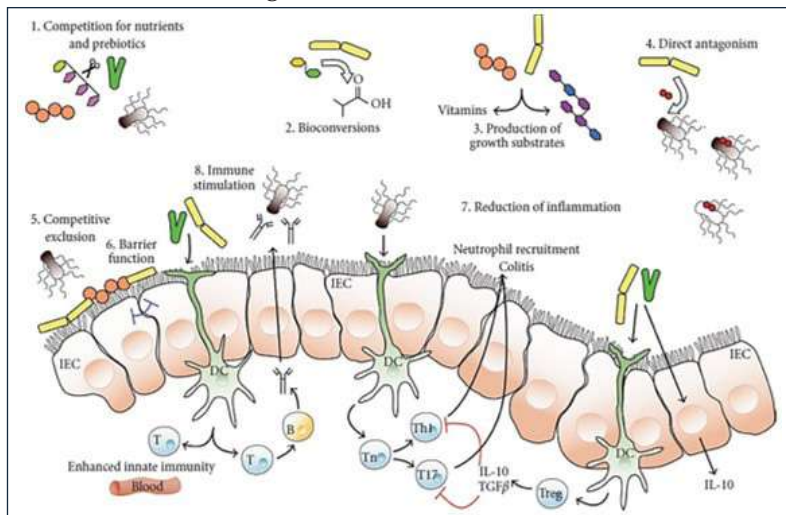


Figura 1. Esquema donde se ilustra los mecanismos potenciales por los cuales bacterias probióticas pueden impactar en la microbiota.

Estos mecanismos incluyen (1) competición por ingredientes de la dieta con sustrato de crecimiento, (2) bioconversión de productos fermentados, por ejemplo, azúcares con propiedades inhibitorias, (3) producción de sustrato de crecimiento, por ejemplo Exopolisacaridos o vitaminas, para el uso de otras bacterias, (4) antagonismo directo por bacteriocinas, (5) exclusión competitiva por sitios de adhesión, (6) incremento de la función de barrera, (7) reducción de inflamación, (8) estimulación de la respuesta inmune innata (O'Toole y Cooney 2008).

Así mismo, algunas bacterias probióticas también producen vitaminas y exopolisacáridos producidos por bacterias ácido lácticas que sirven como sustrato para crecimiento de microorganismos comensales. De igual forma se ha demostrado que probióticos pueden impactar la microbiota general por antagonismo directo y/o exclusión competitiva con bacterias probióticas que presenten la capacidad de adhesión haciendo

una exclusión de bacterias de la microbiota sobre el epitelio. Además, el efecto de barrera al colonizar el epitelio logra evitar la adhesión de microorganismos patógenos al hospedero siendo uno más de los mecanismos de acción de los probióticos (O'Toole y Cooney 2008). Diversos trabajos enlistan los beneficios que aportan estos probióticos a los organismos de cultivo, sin embargo, son pocos los trabajos que estudian el tipo de modulación que se realiza a la microbiota intestinal y sus efectos en la salud del organismo huésped. El interés de investigar la microbiota intestinal está basado en la necesidad de un mejor entendimiento de cómo los probióticos pueden influenciar en la composición bacteriana. Este tipo de estudios han sido ampliamente realizados en vertebrados (Luis-Villaseñor et al. 2012), pero en invertebrados está muy limitado (Villaseñor 2018).

2.2.4. Acción de probióticos en la digestión y absorción de nutrientes

El uso de probióticos como promotores de crecimiento en alimentación animal se debe principalmente a la mejora reportada en producción, asociada con un aumento en la digestión y absorción de nutrientes. En pollos de engorde que recibieron *L. bulgaricus* en la dieta, aumentó la proteína y grasa, incremento de peso y aumento en la disponibilidad del calcio; en cerdos que recibieron probiótico a base de diferentes especies de *Lactobacillus* hubo un aumento significativo en la ganancia de peso diaria, reducción en la incidencia de diarrea en comparación con el grupo control y aumento en la digestibilidad de nutrientes. Además, investigaciones han reportado un aumento en la actividad enzimática de la amilasa al agregar *Lactobacillus* a la dieta de pollos de engorde, y aumento en la actividad de la sucrosa y la lactasa al agregar *Lactobacillus* en la dieta de cerdos *Bacillus amyloliquefaciens*, la cual se ha utilizado como probiótico en alimentación animal, produce enzimas extracelulares como amilasa, celulasa, proteasas y metaloproteasas, lo que podría favorecer la digestión de nutrientes (Molina 2019).

Cabe considerar que los efectos de diferentes suplementos de probióticos dietéticos en juveniles de *L. vannamei* fueron evaluados

por ocho semanas con una dieta de control basal sin probióticos (CON) y otras cinco dietas complementando *Bacillus subtilis* a 10^7 CFU/g de dieta (BS₇), *B. subtilis* (BS8), *Pediococcus pentosaceus* (PP₈) y *Lactococcus lactis* (LL₈) a las 10^8 utilizaron UFC/g de dieta y oxitetraciclina (OTC) a 4 g/kg de dieta. El crecimiento de los camarones alimentados con las dietas BS8 y LL8 fue significativamente mayor que los camarones alimentados con la dieta CON. La histología intestinal mostró tripas más sanas para los camarones alimentados con dietas probióticas, asimismo, la expresión génica relacionada con la inmunidad en los camarones alimentados con dietas BS, PP y LL 8 tuvo la misma tendencia. Por lo tanto, estos resultados indicaron que *L. lactis* a 108UFC/g podría ser un probiótico ideal para el camarón patiblanco, y también *B. subtilis* WB60 y *P. pentosaceus* a 10 8CFU/g podría mejorar el crecimiento, la inmunidad, la histología, la expresión génica, la actividad de las enzimas digestivas y la resistencia a las enfermedades, al tiempo que reemplaza a los antibióticos (Wang et al. 2020).

2.2.5. Efectos de probióticos en la respuesta inmune en invertebrados

En crustáceos decápodos, los hemocitos circulantes son generalmente clasificados en tres tipos, hialinos, semigranulares y granulares. Los hemocitos están involucrados no solo en la coagulación sino también en la producción de melanina vía el sistema profenoloxidasas (proPO), los cuales juegan un importante rol en la defensa contra patógenos. Ambos hemocitos granulares y semigranulares llevan a cabo funciones como son de reconocimiento y defensa. La presencia de compuestos microbianos en el sistema inmune puede activar directamente las funciones celulares de defensa tales como fagocitosis, melanización, encapsulación y coagulación; las proteínas reconocedoras presentes en el plasma amplían ese estímulo (Rendón y Balcázar 2016). Estas proteínas son LPS-binding protein, peptidoglycan-binding protein, and LPS- and b-1,3-glucan-binding protein (LGBP), y PGRP presente en el plasma.

El sistema proPO puede ser activado en forma natural por componentes microbianos, como los β -glucanos de hongos, los peptidoglicanos y los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos.

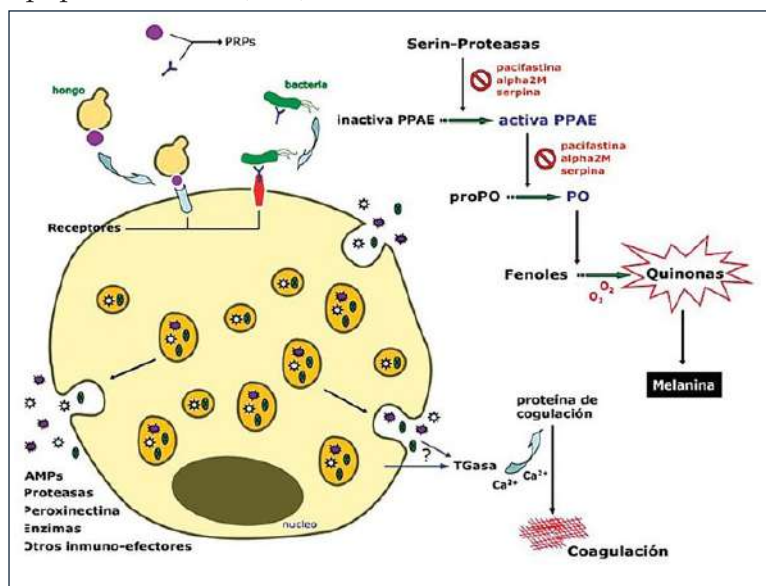


Figura 2. Activación del sistema profenoloxidasa (Rosa y Barracco 2010)

Los cuales se unen a estas proteínas de reconocimiento desencadenando la liberación del contenido granular, donde la proPO es convertida a PO mediante una serin- proteinasa, llamada enzima activadora de la profenoloxidasa (EaproFO). La PO promueve la oxidación de fenoles a quinonas, que se polimerizan de manera no enzimática formando depósitos insolubles de melanina (Campa-Córdova et al. 2002). Además de su papel en la melanización, el sistema proPO está involucrado en algunas reacciones celulares de defensa como son, la fagocitosis, la formación de nódulos, la encapsulación, la adhesión y la locomoción de hemocitos (Le Moullac y Haffner 2000).

Así mismo, la peroxinectina (PE), una proteína asociada a el sistema proPO, esta sintetizada y almacenada en los hemocitos granulares

y semi-granulares en una forma inactiva, respondiendo a estímulos por algún elemento extraño. PE tienen múltiples funciones como son adhesión celular, opsonificación, desgranulación, actividad peroxidasa e incremento de la encapsulación. Después del proceso de invasión por microorganismos patógenos, los hemocitos migran a los sitios de infección generando una respuesta inflamatoria, en estos sitios ocurre entonces la fagocitosis de los microorganismos y/o formación de agregados celulares que envuelven a las partículas invasoras, con la subsecuente liberación de moléculas inmune-efectoras que neutralizan y degradan a los patógenos. Durante el proceso de fagocitosis, el patógeno es envuelto e interiorizado dentro de un fagosoma, que luego se funde con las vesículas/gránulos presentes en el citoplasma en vacuolas fagocíticas intracelulares que se unen con los gránulos lisosomales, estos se caracterizan por un pH ácido y por la presencia de una amplia variedad de enzimas hidrolíticas, capaces de matar y degradar al patógeno (Barracco et al. 2008).

Debido a la fagocitosis puede ocurrir la liberación del contenido enzimático de los lisosomas hacia el plasma, a partir de la desgranulación de los hemocitos granulares. Entre las enzimas liberadas se destaca la lisozima, capaz de romper polisacáridos complejos o peptidoglicanos (PGs) aunado a esta destrucción por las enzimas lisosomales, se presenta la producción de moléculas altamente tóxicas, que ocurre con el aumento en el consumo de oxígeno a nivel intracelular (Choque respiratorio) que resulta en la producción de una variedad de radicales intermedios altamente reactivos, tanto de oxígeno (ROIs) como de nitrógeno (RNIs) (Rosa y Barracco 2010).

Los ROIs son radicales de oxígeno que poseen electrones libres o no apareados en su órbita más externa, lo que les confiere una elevada capacidad de reacción con las estructuras y compuestos próximos, tales como membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos, esta producción de radicales está ligada a la activación de un complejo enzimático denominado NADPH oxidasa, localizado en la membrana celular y en la superficie de los gránulos lisosomales y es activado por lipopo-

lisacáridos, lipoproteínas de bacterias y β -glucanos de hongos (Rosa y Barracco 2010).

Esta activación resulta en la reducción del oxígeno molecular al anión superóxido (O_2^-) subsecuentemente inicia la producción de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y otros compuestos reactivos como son radical hidroxilo ($-OH$) y en aniones hidroxilo (OH^-) por la reacción Haber-Weiss o, luego de la disminución en H_2O_2 , en ácido hipocloroso ($HOCL$), oxígeno singlet (1O_2) y en cloraminas por la acción de la mieloperoxidasa (MOP) (Bogdan et al. 2000; Chiu et al. 2007) (Figura 3). El anión superóxido es el primer producto libre del choque respiratorio y juega un importante rol en la actividad microbicida (Barracco et al. 2008).

De igual forma, las proteínas y péptidos antimicrobianos o AMPs son componentes esenciales del sistema inmune innato, pudiendo presentar una actividad microbicida rápida y potente contra un amplio espectro de microorganismos (Barracco et al. 2008). El mecanismo de acción de los AMPs es a nivel de membrana del patógeno, provocando su desestabilización, ocasionado por una actividad detergente, a través de la interacción electrostática con los fosfolípidos aniónicos de la membrana, llevando a un desequilibrio de sus funciones (Barracco et al. 2008). También pueden insertarse en la bicapa lipídica, formando grandes poros, lo que lleva a un flujo incontrolado de solutos del contenido citoplasmático, resultando en la muerte del organismo. En penaeidos, tres familias de AMPs fueron descritas y caracterizadas a partir de los hemocitos: peneidinas (Destoumieux et al 1997); crustinas (Gross et al. 2001, Bartlett et al. 2002) y factores anti- lipopolisacáridos (ALFs) (Gross et al. 2001, Supungui et al. 2002).

Las peneidinas son péptidos antimicrobianos de 5 a 8 kDa; moléculas altamente catiónicas, compuestas por una región N-terminal rica en residuos de prolina y una región C-terminal conteniendo seis residuos de cisteína unidos por tres puentes de disulfídicos (Destoumieux et al. 1997). Las peneidinas están subdivididas en varios subgrupos (peneidinas 2 a 5) siendo que cada una contiene varias isoformas distintas (Gueguen

et al. 2006), son expresadas en forma constitutiva en los hemocitos y presenta una actividad potente contra bacterias Gram- positivas y hongos filamentosos (Destoumieux et al. 2000).

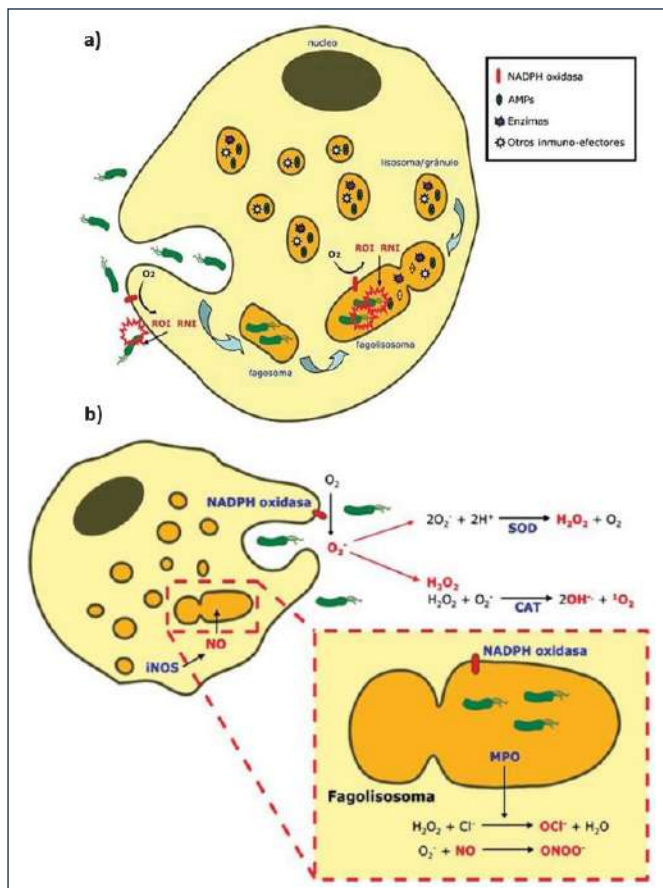


Figura 3. Mecanismos degradativos y microbicidas asociados a los hemocitos de crustáceos durante el proceso de fagocitosis.

ROI: especies reactivas de oxígeno; RNI: especies reactivas de nitrógeno; AMP: péptidos antimicrobianos. **b)** Producción de especies reactivas de oxígeno (ROI) y nitrógeno (RNI) por los hemocitos (Barracco et al. 2008).

2.3. Bacterias nativas gastrointestinales

En el medio marino, las bacterias son importantes actores en los procesos ecológicos ya que realizan distintas funciones vitales para el buen funcionamiento de los ecosistemas, pero también tienen un importante rol metabólico como simbioses que conforman la microbiota residente y transitoria en el TGI de moluscos camarones y otras especies de invertebrados. De manera general, la microbiota contribuye a la degradación del alimento, participa en procesos oxidativos y proporciona diversos beneficios al hospedero, que le permiten desarrollarse en diferentes ambientes. (Gurrola y Andrés 2016).

Algunas cepas de bacterias nativas se pueden encontrar:

- *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*
- *Lactobacillus plantarum*
- Levadura la *Saccharomyces cerevisiae* (Maldonad-Bassantes 2012).

2.3.1. Grupos bacterianos

Las bacterias involucradas en las enfermedades del camarón pueden ser patógenas u oportunistas. Las principales enfermedades bacterianas de los camarones son:

- Vibriosis sistémica
- Síndrome de Zoea II
- Enfermedad de luminiscencia
- Enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas
- Necrosis del hepatopáncreas bacteriana
- Bacteria filamentosa (*Leucothrix mucor*)
- Erosión bacteriana del caparazón (Zambrano-Vera 2023).

Desarrollando mortalidad, heridas cuticulares, necrosis, opacidad de los músculos, blanqueamiento de las branquias, intestino blanco, crecimiento lento, cutícula suelta letargo y menor aprovechamiento del alimento (Zambrano-Vera 2023).

2.4. Técnica de identificación Bacteriana

Las técnicas bacteriológicas habituales, basadas en el uso en medios de cultivos, y las pruebas de perfil bioquímico, han reconocido el desarrollo de conocimientos de gran valor en lo referente a brotes por bacterias extracelulares (Varela et al. 2020). (“Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos ...”) Los protocolos tradicionales de fenotipado bacteriana se basan en las características “observables” de las bacterias, como sus características morfológicas bioquímicas y metabólicas. El cultivo, cuando es desarrollado continúa siendo el método preferido de diagnóstico de elección; permite el aislamiento de los microorganismo implicado, su identificación, el estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos y facilita el uso de marcadores epidemiológicos (Bou et al. 2011). En el cultivo es esencia la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación (Bou et al. 2011).

2.4.1. Pruebas Bioquímicas diferenciados

Las pruebas bioquímicas se han utilizado ampliamente para diferenciar bacterias. Estas pruebas fueron fundamentadas en demostrar si el microorganismo puede realizar la fermentación de azúcares, la descomposición de compuestos, y la producción de compuestos colorados, etc. Aún existen bacterias fuertemente relacionadas a la separación de dos especies diferentes con base a pruebas bioquímicas (ukowska 2021)

Estas pruebas que son utilizadas en la identificación rápida y de lectura inmediata como la catalasa y oxidasa; otras pruebas preliminares, con resultados en menos de 6 h como la hidrólisis del hipurato, la β - galactosidasa (ONPG), las aminopeptidasas, la ureasa y el indol; 3) prueba lentas, con lectura de 18 a 48 h que incluirían la oxido-fermentación, reducción de nitratos, rojos de metilo, Voges-Proskauer, Agar hierro de Kliger, fermentación de azúcares, hidrólisis de la esculina, coagulasa, fenilalanina desaminasa, DNasa, hidrólisis de la gelatina, decarboxilasas, lipasa, lecitinasa, utilización de citratos, utilización de malonato, y pruebas de CAMP entre las más frecuentes, y 4) pruebas basadas en

caracteres de resistencia a ciertas sustancias tal y como optoquina, bacitracina, solubilidad en bilis, y crecimiento en caldo hipersalino (Aguilera-Arreola 2015).

2.5. Investigaciones sobre el uso de probióticos en *L. vannamei*

Hu et al. (2023) midieron el efecto de un compuesto probiótico de *Bacillus* sobre la supervivencia, la calidad del agua y las comunidades microbianas de *Penaeus vannamei* y evidenciaron que el probiótico *Bacillus*, BG4, tiene un cierto efecto de degradación sobre factores de calidad del agua como el nitrógeno amoniacal, el fosfato y la DQO en el sistema de agua esterilizada de acuicultura, y sus tasas de degradación fueron del 36,3%, 28,9% y 15,2%, respectivamente. Sin embargo, la tasa de supervivencia de *P. vannamei* y la calidad del agua no difirieron significativamente entre los grupos y el control del experimento de cultivo de camarón.

Novriadi et al. (2023) valoraron la eficacia de la alimentación con probióticos multiespecies comerciales con enzimas y procesos de fermentación sobre los parámetros de crecimiento y el ambiente de cultivo del camarón blanco del Pacífico, *L. vannamei* (Boone, 1931), en un sistema de cultivo intensivo. Demostrando, que la aplicación continua de probiótico y enzimas (PE) comerciales aumentó significativamente el rendimiento del crecimiento del camarón en comparación con el grupo de control. Las condiciones de calidad del agua en el sistema de cultivo en tanques de concreto, especialmente para el número de *Vibrio sp.*, nivel de TAN, NO₂-N y NO₃-N, fueron mejores en los tanques tratados con PE en comparación con el grupo de control. A pesar de muchas variaciones dentro de los tratamientos, biológicamente, la combinación de PE podría mejorar la utilización de nutrientes como se muestra en la composición proteica (%) de todo el cuerpo del camarón.

Thompson et al. (2022) evaluaron el efecto antagónico de los sobrenadantes de cultivos de bacterias del ácido láctico sobre el crecimiento de patógenos conocidos del camarón, *Vibrio (Listonella) anguillarum*,

Vibrio alginolyticus y *V. harveyi*. Concluyeron que las bacterias del ácido láctico analizadas aquí produjeron factores inhibidores que interfirieron con el crecimiento de varios *Vibrios* patógenos in vitro. Una prueba a corto plazo alimentando con *L. plantarum* a camarones juveniles no tuvo efectos significativos sobre el crecimiento y la supervivencia de dichos animales. Estos resultados resaltan que las bacterias seleccionadas como posibles probióticos mediante ensayos in vitro no siempre demuestran capacidades de promoción del crecimiento in vivo.

Nimrat et al. (2021) Analizaron Los efectos de los probióticos microbianos mixtos como suplemento dietético sobre el crecimiento, la supervivencia y los cambios microbiológicos de los juveniles de camarón patiblanco (*L. vannamei*). Demostrando que los probióticos liofilizados mejoraron la microbiota beneficiosa, redujeron el número de *Vibrionaceae* y promovieron la supervivencia y el crecimiento de *L. vannamei* juveniles. Las dietas que contienen una mezcla liofilizada de *Bacillus* (FB) dieron como resultado el mayor rendimiento de crecimiento en comparación con la de una mezcla liofilizada de *Bacillus* y levadura (FBY) y una mezcla liofilizada de levadura (FY) sola.

(Zheng et al. (2020) determinaron el efecto de la administración de *Lactobacillus plantarum* sobre la microbiota intestinal del camarón patiblanco *L. vannamei*, elaborando 4 dietas, con una duración del experimento de 15 días. El presente estudio reveló que el intestino de los camarones de pierna blanca alberga una microbiota beneficiosa específica que puede cambiar cuando los camarones reciben una dieta complementada con *L. plantarum*. De particular interés para modular positivamente la microbiota intestinal en los camarones, y para servir como paraprobiotic.

CAPÍTULO III.

Metodología



3.1. Localización

El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológicas (FCPB), Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus experimental “La María”, ubicada en el km 7 ½ de la Vía Quevedo – El Empalme, Recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. En las coordenadas 01° 06’ de latitud Sur y 79° 29’ de Longitud Oeste. A una altura de 73msnm. La Tabla 1 detalla las condiciones climáticas del Campus Universitario “La María”.

Tabla 1. Condiciones meteorológicas de “Chongo – Guayaquil

Parámetros	Promedios
Temperatura ° C	31 - 33
Humedad relativa, %	83
Precipitación, anual. Mm	343
Heliofanía, Horas / luz / año	1230
Evaporación, promedio anual (%)	80.00
Zona ecológica	bh-T
Topografía	Ligeramente ondulada

Fuente: (INIAP 2023).

3.2. Diseño de la investigación y captura de los camarones

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA). Las capturas de los camarones se realizaron en tres Zonas: Zona 1 (2°31’18” S, 79°54’51” W), Zona 2 (2°30’09” S, 79°54’07” W) y Zona 3 (2°31’49” S, 79°55’38” W) en Golfo de Guayaquil, Ecuador. En cada Zona se muestreo 1 estanques, para un total de 3 estanques muestreados. En cada estanque se lanzaron cinco atarrayados y se recolectaron veinte organismos al azar por lanzamiento de atarraya (2.5 metros de diámetro), para un total de cien juveniles de *L. vannamei* por estanque (Cuéllar-Anjel et al. 2010).

Los estanques en tierra tenían las siguientes dimensiones: 2 hectáreas constituidos de 200 m de largo x 100 m de ancho con una profundidad

de 1.2 m, con un volumen estimado de 36000.00 m³ y una densidad de siembra de 35 juveniles por m². Los camarones juveniles tenían un tiempo de sembrados en los estanques de producción de 45. Luego de determinar los indicadores biológicos de los camarones muestreados, se disceptaron los hepatopáncreas para aislar las bacterias con potencial probiótico. El bioensayo de aislamiento y caracterización de bacterias en laboratorio tuvo una duración de 30 días.

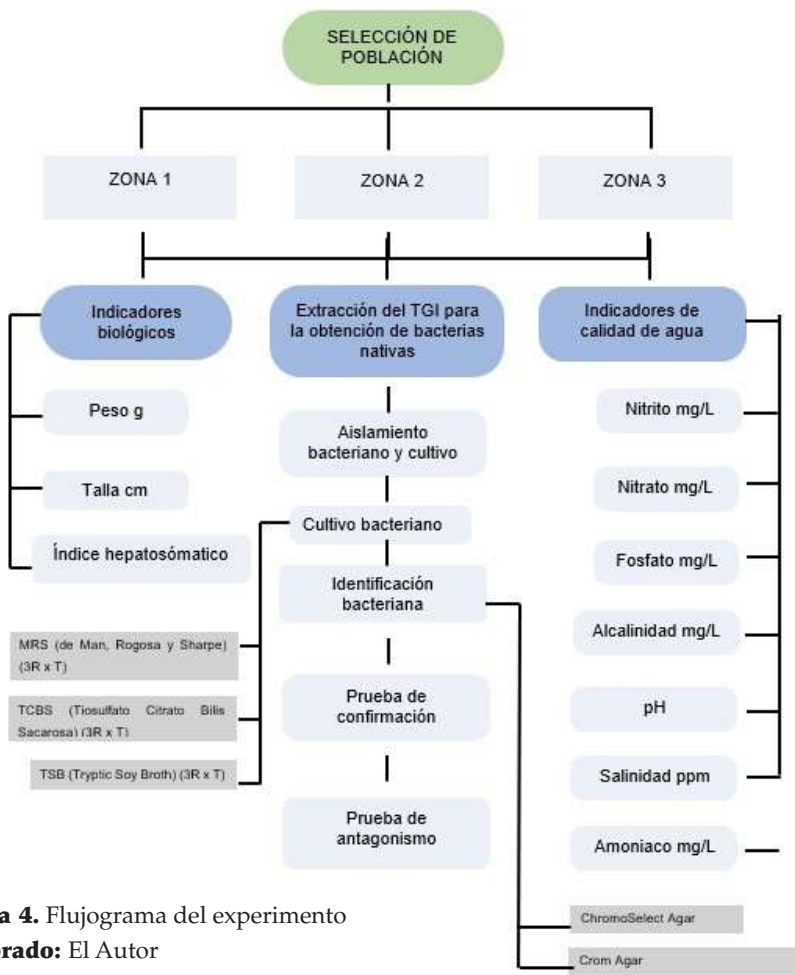


Figura 4. Flujograma del experimento
Elaborado: El Autor

3.3. Instrumentos de investigación

3.3.1. Traslado de camarones

Las unidades experimentales fueron trasladadas en transfich con oxigenación desde la camaronera hasta el laboratorio de acuicultura ubicado en el campus experimental “la María” perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Donde se realizó la disección y extracción del sistema digestivo para sus respectivos análisis.

3.3.2. Parámetros de calidad de agua de los estanques de cultivo

Las muestras de agua de cada estanque se tomaron en la compuerta de salida a 25 cm de la película de agua de los estanques, se trasladaron al laboratorio donde se realizaron los siguientes análisis: Las tomas del pH y salinidad en el agua se realizaron con un medidor multiparamétrico para laboratorio (DS 4010-3). Para obtener la relación nitrógeno fósforo se realizaron los análisis químicos en tiempo real de nitritos, nitrato, amonio y fosforo de cada zona de la cual se extrajeron las unidades experimentales y se utilizó un medidor multiparamétrico de doble entrada para laboratorio HACH (Dr3900) (Carbajal-Hernández y Sánchez-Fernández 2013).

3.3.3. Indicadores biológicos de los camarones

Los camarones fueron pesados (g) utilizando una balanza analítica ADAM AEA-160DG (± 0.01 mg), la longitud (cm) de los camarones se determinó con un calibrador (Vernier, ± 0.01 mm) manual.

Se aplicó la siguiente fórmula para calcular el índice hepatosomático: Índice Hepatosomático (%) = (Peso hepatopáncreas / Peso camarón) $\times 100$ (Sambilay 1990).

3.3.4. Extracción del Tracto Gastrointestinal (TGI)

Para la extracción del TGI del camarón se utilizó un medio líquido de solución salina al 2.5% con el propósito de enriquecer la microbiota presente en el animal. Al momento de realizar la extracción se realizó un pool microbiológico que estuvo compuesto por los TGI de animales, cada TGI fue macerado y agregado al medio líquido que posteriormente fueron sembrados en diferentes medios de cultivos con la finalidad de aislar bacterias (Larios et al. 2019).

3.3.5. Aislamiento bacteriano y siembra

Se sembraron y luego se aislaron las bacterias seleccionadas por su morfología celular y colonial en cuatro medios de cultivos selectivos de agar: ChromoSelect Agar, TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa), TSA (Tryptic Soy Agar), TSB (Tryptic Soy Broth) y luego se procedió a sembrar en diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-5} , mediante la utilización de la técnica de dilución seriada y extensión de superficie para aislar colonias de bacterias Gram positivo. La incubación se realizó a 30°C por 24 h. Las colonias aisladas de los cultivos se observaron en un microscopio mediante tinción Gram para determinar la morfología de las colonias según: (James y Sherman 1998; Britania 2022); siendo seleccionadas aquellas cuando poseían bordes irregulares, o regulares, cóncava o convexa, de color distintos colores, brillante, aspecto harinoso, ceroso, seco o cremoso. Simultáneamente eran aisladas en una nueva caja Petri con los distintos medios de cultivo para su purificación, además fueron debidamente etiquetadas con números y códigos con forma de bacilos para obtener una muestra de bacteria sin contaminación para así replicarla utilizando las técnicas de siembra Frobisher y en cruz (Ardón et al. 2019).

3.3.6. Cultivo bacteriano

Las cepas de prueba fueron cultivada y replicada en cuatro tipos de cultivos: ChromoSelect Agar, TCBS, TSA, TSB, incubado a 30 C por 24 h.

El cultivo se centrifugo a 5000 rpm durante 10 min, para eliminar el sobrenadante y el precipitado bacteriano se re-suspendió en una solución estéril de NaCl al 2.5%. se determinó la densidad óptica (540 nm) en un espectrofotómetro, la cual se ajustó a 1 para obtener una concentración de 1×10^9 células/mL (Determinado por cuenta viable). A partir de la muestra con densidad de 1.0 se realizó las diluciones requeridas para los Bioensayos in vitro e in vivo (Irasema-Villaseñor 2012).

3.3.7. Pruebas de confirmación

Se realizaron las pruebas de confirmación microbiológicas estándares para la confirmación de bacterias. Dentro de las pruebas realizadas estaban: Coloración Gram, Prueba de oxidasa, Tolerancia al pH, y se emplearon las tablas de identificación descritas en el Manual de Determinación Bacteriológicas de Bergey's (Ardón et al. 2019).

3.3.8. Prueba de antagonismo

El antagonismo de las cepas se determinó utilizando según la metodología de Liao (1989), activaron las bacterias identificadas en 4 tipos de cultivos de agar, ChromoSelect Agar, TCBS, TSA, TSB e incubaron durante 24 horas a 30 °C. Las cepas patógenas fueron transferidas a caldo TSB e incubadas por 4 horas, para posterior estandarización a la concentración de 10^6 bacterias mL^{-1} , siguiendo el patrón de McFarland 0.5 y siembra por triplicada en placas con agar TSA mediante hisopado. Dos colonias (2 mm diámetro) de cada cepa probiótica y patógena (*V. parahaemolyticus*) se transfirieron a 5 mL de medio ChromoSelect Agar, STSB, TSA, TSB, e incubaron a 30 °C en baño maría por 48 horas. Posteriormente las cepas patógenas fueron sembradas por hisopado en los diferentes tipos de agar (siembra por triplicado). El agar TSA se perforo (5 mm de diámetro) para depositar 10^6 bacterias mL^{-1} (probiótico) por duplicado, previamente activados en medio líquido (20 μL). Las placas se incubaron durante 48 h a 28 °C tras lo cual se realizó la lectura de los diámetros de halos de inhibición cuando la prueba fue positiva (Soto-Marfileñ et al. 2023).

3.4. Análisis estadísticos

Los parámetros de calidad del agua e indicadores biológicos de los camarones fueron tratados por medio de la prueba General Linear Model. (GLM) y a posterior el Text LSD de Fishers. Para determinar las diferencias entre los halos de inhibición entre patógenos se aplicó la prueba no paramétrica de suma de rangos de Kruskal-Wallis. (Zar 1984).

CAPÍTULO IV.

Resultados



4.1. Parámetros fisicoquímicos del agua

En la tabla 2 se describen los resultados de los parámetros fisicoquímicos del agua por tratamiento (zonas).

-Para la variable de nitrito, no existió diferencias estadísticas en ninguna de las zonas ($P > 0.05$). el mayor valor promedio de nitrito lo obtuvo la zona 2 al igual que la zona 3 con un valor de 0.04 mg/L. a diferencia de la zona 1 que obtuvo los valores más bajo 0.03 mg/L.

-Para la variable de nitrato, si existieron diferencias estadísticas entre zonas ($P < 0.05$). El mayor promedio de nitrato lo obtuvo la zona 2 con un valor de 7.50 mg/L, distinto a los valore obtenidos de la zona 1 y 3 con valores de 4.33 y 4.67 mg/L respectivamente.

-Para la variable de fosfato, presentaron diferencias estadísticas significativas entre las zonas ($P < 0.05$). El menor valor promedio de fosfato se obtuvo en la zona 2 de 0.51 mg/l mientras que los valores más altos se encontraron en la zona 1 y 2, (0.81 y 0.51) mg/L respectivamente.

-Para la variable de alcalinidad, no hubo diferencias estadísticas significativas entre zonas ($P > 0.05$). El menor valor promedio de alcalinidad se obtuvo en la zona 2 de 126.50 mg/l. a diferencia de la zona 1 y 3 que obtuvieron valores similares (144.33 y 143.33) mg/L

-Para la variable del pH, no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) entre zonas, sin embargo, el mayor promedio se ubicó, en la zona 1 con un valor de 8.13 a diferencia de las zonas 2 y 3 que obtuvieron el menor valor (7.88 y 8.03)

-Para la variable de salinidad, si existió diferencias estadísticas significativa ($P < 0.05$) entre zonas, los mayores promedios se localizaron en la zona 1 y 2 con 28 ppm a diferencia de la Zona 1 que obtuvo el menor valor de 27.83 ppm.

-Para la variable de amoniaco, no obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$), entre zonas con un promedio general de 0,01mg/L.

Tabla 2. Composición fisicoquímica del agua de las piscinas por zonas

Parámetros	Nitrito mg/L	Nitrato mg/L	Fosfato mg/L	Alcalinidad mg/L	pH	Salinidad ppm	Amoniaco mg/L
	0.03 ±	4.33 ±	0.81 ±	144.33 ±	8.13 ±	27.83 ±	
Z1	0.02 a	2.88 b	0.26 a	14.99 a	0.31 a	0.41 a	0.01 ± 0.01
	0.04 ±	7.50 ±	0.70 ±	126.50 ±	7.88 ±		
Z2	0.03 a	2.88 a	0.13 a	6.86 a	0.18	28 ± 0	0.01 ± 0.02
	0.04 ±	4.67 ±	0.51 ±	143.33 ±	8.03 ±		
Z3	0.04 a	1.63 a	0.12 b	15.71 a	0.32	28 ± 0	0.01 ± 0.004
CV%	43.94	46.04	27.12	9.52	3.46	0.84	62.19
F	0.32	2.83	4.02	3.49	1.17	1	0.73
p<0.05	0.7315	0.094	0.04	0.0571	0.3357	0.3911	0.4995

Elaborado: El autor

4.2. Indicadores biológico de los camarones

4.2.1. Peso

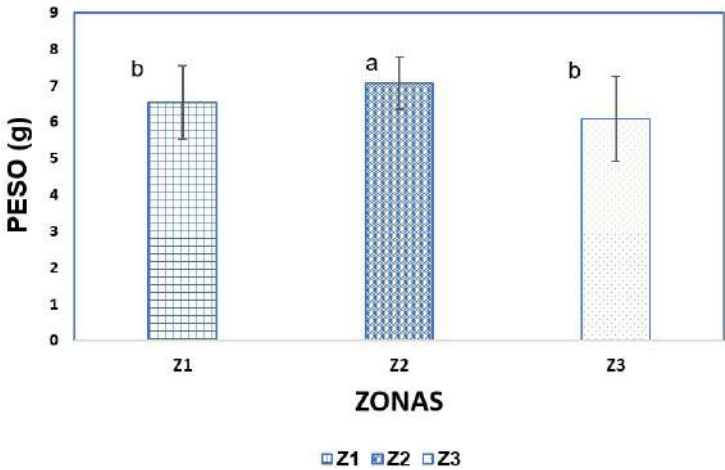


Figura 5. En la variable de peso como factor biológico de *L. vannamei*, las barras y las barras de desviación estándar Mean ± Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas (P < 0.05) entre zonas.

Presentaron diferencias estadísticas significativas entre zonas, el mayor promedio se encontró en la zona 2 con un valor de 7.06 g.

4.2.2. Talla

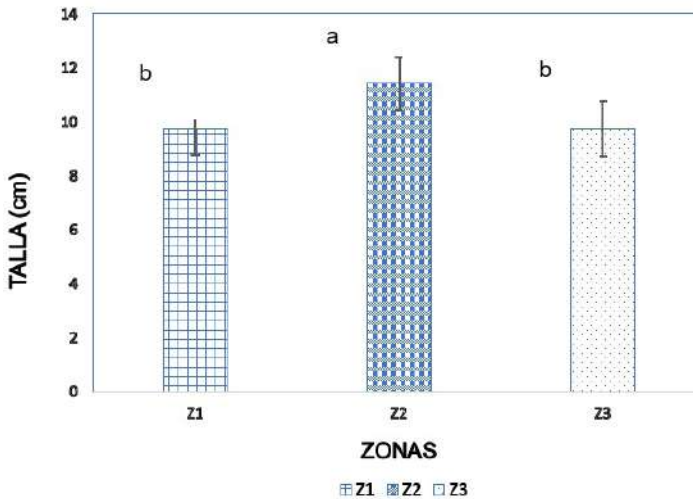


Figura 6. En la variable de talla, como factor biológico de *L. vannamei*, las barras y las barras de desviación estándar Mean $\pm$ Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre zonas.

Se manifestaron diferencias estadísticas significativas entre zonas, el mayor promedio lo obtuvo la zona 2 con un valor de 11.41 cm.

4.2.3. Índice hepatosomático

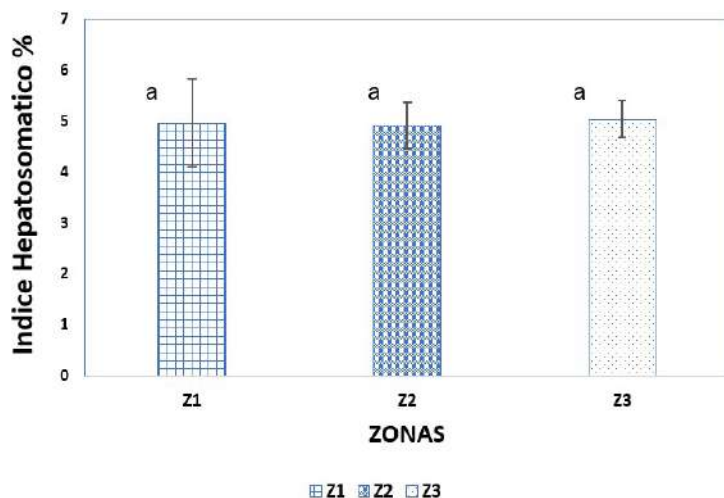


Figura 7. En la variable índice hepatosomático como factor biológico de *L. vannamei*. las barras y las barras de desviación estándar Mean $\pm$ Desvet. Letras diferentes (a, b) indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre zonas.

No mostraron diferencias estadísticas significativas entre zonas, pero el mayor promedio se obtuvo en la zona 3 con un valor 5.04%.

4.3. Aislamiento bacteriano

Se aislaron 22 cepas bacterianas del tracto intestinal del camarón *Litopenaeus vannamei*. fueron cultivados en medios TCBS y ChromoSelect Agar, realizando resiembras por esparcimiento para la identificación y aislamiento mediante el manual de microbiología A Laboratory y el medio de cultivo CromoSelec Agar. Se realizaron análisis morfológicos de las colonias aisladas para determinar Forma, Elevación, Margen, Color a las 24 horas.

Tabla 3. Morfología colonial de cepas bacterianas aisladas del intestino de camarones adultos *L. vannamei*

Cepa	Forma	Elevación	Margen	Color	Nombre
M1-1	Irregular	Monticular	Ondulado	Blanco	<i>B. megaterium</i>
M1-2	Circular	Convexa	Entero	Amarillo	<i>B. megaterium</i>
M1-3	Irregular	Umbilicada	Ondulado	Café-naranja	<i>B. cereus</i>
M1-7	Irregular	Monticular	Lobulado	Blanco	<i>B. megaterium</i>
M1-12	Irregular	Umbilicada	Ondulado	Café-naranja	<i>B. cereus</i>
M1-16	Circular	Convexa	Entero	Rosado	<i>B. thuringiensis</i>
M1-19	Circular	Convexa	Entero	Verde	<i>B. subtilis</i>
M2-2	Circular	Convexa	Lobulado	Rosado	<i>B. thuringiensis</i>
M2-5	Irregular	Monticular	Lobulado	Crema	<i>B. megaterium</i>
M2-6	Circular	Convexa	Entero	Verde	<i>B. subtilis</i>
M2-7	Circular	Convexa	Entero	Verde	<i>B. subtilis</i>
M2-10	Circular	Convexa	Entero	Rosado	<i>B. thuringiensis</i>
M2-15	Circular	Convexa	Lobulado	Amarillo	<i>B. megaterium</i>
M2-17	Irregular	Umbilicada	Ondulado	Amarillo	<i>B. megaterium</i>
M2-19	Irregular	Monticular	Lobulado	Crema	<i>B. subtilis</i>
M2-20	Circular	Convexa	Entero	Rosado	<i>B. thuringiensis</i>
M3-2	Irregular	Umbilicada	Lobulado	Café-naranja	<i>B. cereus</i>
M3-3	Circular	Convexa	Entero	Verde	<i>B. subtilis</i>
M3-4	Irregular	Umbilicada	Lobulado	Blanco	<i>B. megaterium</i>
M3-12	Circular	Convexa	Entero	Café-naranja	<i>B. cereus</i>
M3-17	Irregular	Monticular	Lobulado	Crema	<i>B. subtilis</i>
M3-18	Irregular	Umbilicada	Ondulado	Blanco	<i>B. megaterium</i>

Elaborado: El autor

En la tabla 3 se describe las cepas de bacterias del género *Bacillus* aisladas por sus respectivas zonas: Zona 1 (M1-1, M1-2, M1-3, M1-7, M1-12, M1-19), Zona 2 (M2-1, M2-5, M2-6, M2-7, M2-10, M2-15, M2-17, M2-19, M2-20), Zona 3 (M3-2, M3-3, M3-4, M3-12, M3-17, M3-18,).

4.4. Selección de cepa de bacterias

4.4.1. Prueba de antagonismo

Durante el proceso de selección y caracterización según el manual de microbiología de James, G; Sherman, N. (1998) y el ChromoSelect Agar para la identificación de bacterias del género *Bacillus*, fue determinado la habilidad para inhibir el crecimiento de especie de *Vibrio* utilizando el método de difusión mostrando que las cepas aisladas, inhibieron el crecimiento de *V. parahaemolyticus*.



Figura 8. Halos de inhibición utilizando la técnica de difusión.

Se puede observar las diferentes cepas bacterianas formando el halo que inhibe el crecimiento de *V. parahaemolyticus*.

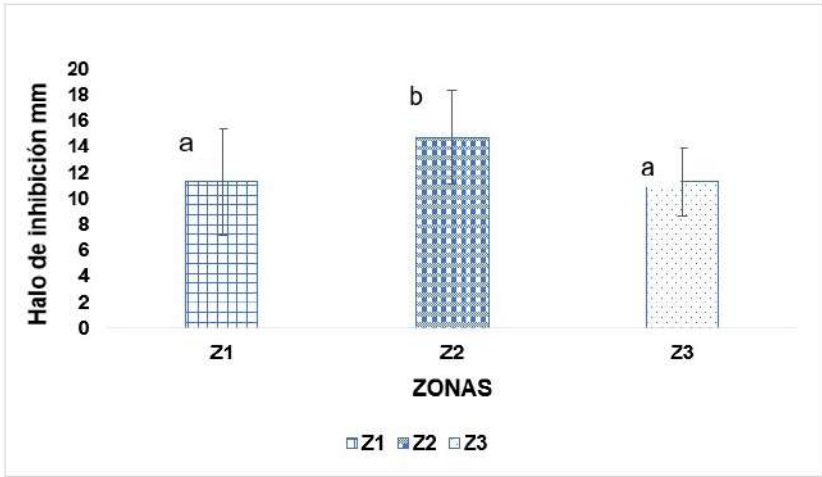


Figura 9. Efecto antagónico de bacterias con potencial probiótico contra cepas de *Vibrio* patógeno La mayor actividad antagónica en la inhibición del crecimiento de *V. parahaemolyticus*.

Se obtuvo en el pool de bacterias de *Bacillus* del género Gram positivo en la zona 2, con un valor de 14.78 ± 3.63 mm.

Discusión

Se aprueba la hipótesis alternativa mediante la cual el aislamiento y caracterización de bacterias nativas en *L. vannamei* cultivado, permitió la obtención de bacterias con potencial probiótico que se valoran como una alternativa profiláctica y terapéutica para ser empleados en los cultivo de *L. vannamei*.

- **Parámetros del Agua**

Las comunidades microbianas pueden desarrollarse en una amplia variedad de ambientes como estuarios, ambientes geotermales, playas y las grandes cubiertas de hielo de la Antártida (Fernández 2017). Melgar-Valdés et al. (2013), mencionaron que las bacterias probióticas juegan un papel importante en la degradación de la materia orgánica, lo que reduce significativamente su porcentaje en el sedimento y la formación de lodos, debido a que metabolizan rápidamente estos compuestos orgánicos convirtiéndolos en dióxido de carbono, minerales y biomasa celular. El uso de comunidades bacterianas nativas disminuye ostensiblemente los niveles de compuestos tóxicos manteniendo la calidad óptima del agua para el cultivo de camarón blanco (Torres et al. 2018).

En base a los valores del nitrito de nuestros trabajo, se obtuvo el menor valor en la zona 1 con un valor de 0.03 ± 0.02 mg/L, estos coinciden con los resultados reportados por Paz-Serra et al. (2021), quienes al evaluar el uso de sales inorgánicas de amoníaco y/o nitrito y la disponibilidad de sustrato en el proceso de nitrificación antes y durante la producción de camarón, encontraron valores similares a los obtenidos en el presente trabajo. En otra investigación Soares et al. (2020) mencionan que concentraciones elevadas de nitritos afectaron al crecimiento larvario en *M. amazonicum* al investigar como los ciclos hidrológicos influyen en los parámetros fisicoquímicos del agua. Esto se debe a que los nitritos son un producto intermedio de la nitrificación del amonio por bacterias aeróbicas autotróficas a nitratos. En el caso se deben evitar concentracio-

nes mayores a 0.45 mg de NO₂-N L⁻¹ para evitar afectaciones metabólicas (García-Hoyos 2018).

A partir de los valores obtenidos en nuestro trabajo , un valor significativamente bajo 4.33 ± 2.88 mg/L, en este sentido Torun et al. (2020), demostraron que el uso de nitrato regula niveles elevados de sulfuro de hidrogeno (H₂S) que inciden en el crecimiento de los camarones en estanques de cultivo. En su investigación Krasaesueb et al. (2019), menciona que las aguas residuales de camarón tienen un alto contenido de compuestos de nitrógenos y fósforos, la exposición crónica de nitritos en camarones reduce tanto el crecimiento como la actividad del sistema inmunológico. Esto último al destruir la homeostasis del microbiota intestinal del animal (Li et al. 2018).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la variable de fosfato de nuestra investigación, Brito et al. (2014) al evaluar los efectos y las interacción de *Ulva lactuca* en la calidad del agua y el crecimiento del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* en un sistema intensivo, encontraron un valor similar 0.42 mg/l. Se ha encontrado que la presencia de nutrientes en los cuerpos de agua, especialmente los fosfatos, puede conducir a cambios en la estructura de la comunidad de fitoplancton lo que lo convierte en un componente esencial e importante en la vida del plancton (Aliviyanti et al. 2017). De la misma manera (Susilowati et al. 2014) mencionaron que el papel del fosfato como fuente de nutrientes es importante para el crecimiento de las algas. El fosfato es requerido como compositor básico del material proteico y la formación de clorofila en el proceso fotosintético. Un exceso de fosfato puede provocar un aumento de algas en los estanques, poniendo en riesgo la producción. Al fósforo se lo puede encontrar como: Ortofosfatos (PO₄³⁻) que es más biodisponible para organismos biológicos y más abundantes, o como Polifosfatos (PO₄⁻ PO₄⁻ PO₄⁻) (Khademzade et al. 2020).

Basándose en los resultados de alcalinidad, se indicaron valores superiores a 60 mg/L, el menos contenido de salinidad se obtuvo en la zona 2 con un valor de 126.50 mg/L, lo que impide las fluctuaciones de pH pro-

ducidas por los procesos fotosintéticos en las piscinas y que afectan el buen desarrollo de los cultivos acuícolas (Pis et al. 2017). De acuerdo con (Maicá et al. 2018). Al exponer a los organismos a concentraciones de alcalinidad inapropiadas 200 mg/L durante largos periodos de tiempo pueden afectar negativamente al desarrollo del *L. vannamei*, haciendo hincapié en la importancia de mantener niveles adecuados de alcalinidad para las especies cultivadas. De la misma forma, Piérri (2012) menciona que se puede realizar en aguas con alcalinidad entre 40 y 160 mg/L de CaCO₃, sin comprometer los índices zootécnicos del cultivo. Valores elevados de alcalinidad en el cultivo de camarón puede darse por densas poblaciones de fitoplancton y a su vez afectar el pH (sube a 9.0 o más). Valores elevados por encima de 200 mg/L CaCO₃ sumado a un pH mayor a 8,5 se ve afectado el proceso de muda del camarón (Jamal et al. 2023).

En función de los resultados de pH de nuestro trabajo coinciden con los obtenido por Díaz-Jiménez et al. (2017) quienes evaluaron parámetros de calidad de agua en especies de crustáceos ornamentales de arrecife y estenopódidos, mencionaron que el pH se mantuvo con un valor 8.32. De la misma manera Cerón-Ortiz et al. (2015) demostraron que el rango óptimo de pH en la producción del crustáceo *Cambarellus montezumae* oscila entre (7 - 8) y que la disminución del pH induce un aumento en la tasa de consumo de oxígeno de los camarones (He et al. 2022). Kathayyani et al. (2019) revelaron que las variaciones del amoníaco y el pH más allá del rango optimo influyen significativamente en los mecanismos inmunitarios no específicos del *P. vannamei* y aumenta la susceptibilidad a enfermedades. (Soto-Marfileña et al. 2023), menciona que esto se debe a que el pH es un factor influyente sobre otros compuestos, al hacer más solubles a los compuestos que se encuentran en el sedimento de los estanques, como el caso del fósforo, y el aumento de la toxicidad del amoníaco. Kewcharoen y Srisapoom (2019) mencionan el efecto positivo del *B. subtilis* aislado del intestino medio del *L. vannamei* que tiene la capacidad de sobrevivir en condiciones ambientales adversas, con un amplio rango de temperaturas, valores de pH y salinidades. Él puede inhibir eficazmente el *Vibrio* spp. Como suplemento en el alimento

proliferó y colonizó el tracto intestinal de los camarones y demostró resultados mejorados en el crecimiento y los parámetros inmunes, incluida la expresión génica inmune.

Según los valores obtenidos de la salinidad en nuestra investigación son diferentes a los detallados por Maicá et al. (2014) que al aumentar la salinidad de 4 al 32%, sus efectos derivaron en un aumento de la alcalinidad y la concentración total de sólidos en suspensión, afectando positivamente el crecimiento y la supervivencia de los juveniles de *L. vannamei*. En cambio Rahi et al. (2021) mencionan que la salinidad afecta en un mínimo al rendimiento productivo pero el organismo se expuesto aun estrés constante lo que afecta la inmunidad del camarón. Sin embargo, Ponce-Palafox et al. (2019) Encontraron que en un rango de (16.5 a 33.5) g/L de salinidad, es adecuado para la supervivencia y el crecimiento de los organismos al investigar los efectos de la interacción entre la temperatura y la salinidad en la calidad del agua, crecimiento y la supervivencia de los juveniles de camarón *L. vannamei*. En otra investigación Valdez et al. (2008), demostraron un menor índice de crecimiento en el camarón a medida que la salinidad era más alta. En unos estanques con 20 y 25 ppm de salinidad se obtuvieron mejores índices de supervivencia y crecimiento respecto a promedios de 35 ppm.

Referente a los valores del amoníaco, se encontró valores homogéneos en las diferentes piscinas de cultivo, en este sentido Zhao et al. (2020) mencionan que cuando los niveles de amoníaco de la piscina de camarones van más allá de los límites de tolerancia, inhibe la expresión de quitinasa, la muda, el crecimiento, la fenol oxidasa y la actividad antimicrobiana de la hemomolfa. Atenuando así la respuesta inmune innata de los camarones. De la misma manera Han et al. (2017) concuerdan que la acumulación de amoníaco y nitrito causada por residuos en el tanque de acuicultura podría reducir significativamente la supervivencia y el rendimiento de crecimiento de *L. vannamei*, al dañar el hepatopáncreas interrumpiendo la síntesis y la excreción de las enzimas digestivas. El mismo resultado obtuvieron Liu et al. (2020). encontraron que el estrés por amoníaco condujo a un trastorno del metabolismo de

los aminoácidos y del metabolismo de los nucleótidos, afectando el crecimiento normal de los músculos lo que condujo a un crecimiento lento de los organismos. Y al final estos factores llevaron a la susceptibilidad de los camarones a los patógenos.

- **Indicadores biológico**

La diversidad de microorganismos en el medio acuático representa un indiscutible recurso por medio del cual la acuicultura podría llegar a ser una empresa sustentable. El potencial uso de microorganismos en acuicultura se puede dividir en dos grandes áreas: nutrición y biorremediación (Martínez-Córdova et al. 2014). En relación con esto Fan et al. (2019) observaron una fuerte asociación entre la composición microbiana intestinal y el aumento de peso del camarón, lo que refuerza la estrecha relación entre la microbiota intestinal y la salud del huésped. En este sentido Zambrano-Vera (2023) al aislar y caracterizar bacterias responsables de enfermedades en el camarón *P. vannamei*, trabajo con juveniles de camarón con un peso de 13.91 g y una talla de 14.80 cm en otra investigación Párraga-Santos (2018) al Seleccionar y evaluar cepas bacterianas probióticas tipo *Bacillus* con actividad antagónica sobre cepas bacterianas patógenas aisladas en *Litopenaeus vannamei* disecionaron organismos con un peso promedio de 13 gramos, mencionando que la obtención de probióticos autóctonos puede ser una herramienta importante para el control efectivo de enfermedades bacterianas en los sistemas de cultivo de camarón del Ecuador. Y esto coincide con Ujjania et al. (2022) al obtener un peso de 7 g como factor biológico, al realizar un estudio comparativo sobre el factor de crecimiento y condiciones de los camarones *L. penaeus* cultivados en diferentes estanques de tierra. En otra investigación Kongnum y Hongpattarakere (2012) evaluó el efecto de *Lactobacillus plantarum* aislado del tracto digestivo de camarón silvestre sobre el crecimiento y supervivencia del camarón blanco (*L. vannamei*) desafiado con *Vibrio harveyi*, recolecto 60 juveniles con un peso promedio de 10 g. se ha mencionado que La microbiota intestinal juega un papel importante en el mantenimiento del equilibrio microbiano intestinal debido a su estrecha relación con la adquisición de nutrien-

tes (Sullam et al. 2015), y la defensa contra patógenos, que son necesarios para el crecimiento y la salud de los camarones (Yan et al. 2014).

Tzuc et al. (2014) menciona que la microbiota del tracto digestivo (estómago, hepatopáncreas e intestino) del camarón blanco, participa en procesos digestivos debido a la aportación enzimática de las propias bacterias. Se ha reportado que bacterias del género *Vibrio* y *Pseudoalteromonas* se encuentran formando parte de la microbiota del tracto digestivo del camarón blanco y que, además estos géneros contribuyen a la degradación de algunos. Esto coincide con lo mencionado por, Garibay-Valdez et al. (2020) que concluyeron que microbiota normal en intestino, estómago y hepatopáncreas de camarón (*L. vannamei*). La mayor proporción de bacterias del género gran positivo reportados corresponden al intestino (80.1%), seguido de la microbiota asociada a todo el crustáceo (11.3%), al hepatopáncreas (6%) Medina et al. (2019), al evaluar el índice y hepatosomático en relación con la maduración y muda del camarón *Cryphios caementarius* de río Pativilca (Perú), representó un 5,08% del peso vivo, el índice hepatosomático es un indicativo en la salud de los organismos.

- **Aislamiento bacteriano**

Sobre el aislamiento y las características morfológicas de las poblaciones bacterianas, Toro et al. (2020) mencionan que la microbiota intestinal de los animales acuáticos es un reflejo de la diversidad de las comunidades microbianas que se encuentran en el agua, por lo que también es esencial mantener o promover la proliferación de microorganismos benéficos en el medio acuático para mejorar la producción de *L. vannamei*. Villaseñor (2018) en su investigación con bacterias seleccionadas con amplificación y secuenciación del gen 16 rRNA logro identificar 7 cepas de *Bacillus* (*B. endophyticus*, *B. tequilensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*). Al evaluar el efecto de probióticos en la modulación de la microbiota intestinal y respuesta inmune del camarón blanco *L. vannamei*. al contrario de estas bacterias gram positivas. Enciso Ibarra (2016) han evidenciado que al evaluar el efecto del cambio de la microbiota del contenido intesti-

nal de camarón silvestre (*Litopenaeus vannamei*) sometido a diferentes condiciones de cultivo. Reporto que las Proteobacteria, Cyanobacteria y *Bacteroidetes* resultaron predominantes en todo el contenido intestinal del camarón silvestre (*L. vannamei*). resultados similares al obtenido en esta investigación obtuvieron (Centeno-Briceño y Rodríguez-Bejarano 2007) al Identificar bacterias Gram positivas (cocos y Bacillus), y Gram negativas entre estas enterobacterias y otros bacillus. Al evaluar la actividad enzimática de bacterias frecuentes en camarones (*Litopenaeus schmitti*), mejillones (*Perna viridis*) y calamares (*Loligo plei*).

En esta investigación se logró caracterizar cepas del género *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* y *B subtilis*, mediante procesos de aislamiento bacterianos. Mangott et al. (2020), menciona que el género bacteriano *Bacillus* y *Pseudalteromonas* se consideran probióticos en los sistemas de acuicultura. El aumento significativo de las bacterias probióticas conocidas, así como la supresión de posibles patógenos tanto en el hepatopáncreas de los camarones como en su agua de cultivo, proporcionan una fuerte evidencia de que la aplicación de algas marinas como tratamiento prebiótico (como agente biorremediativo y suplemento dietético) tiene el potencial de estimular el crecimiento animal y contribuir a la salud general del sistema.

En otra investigación Chino de la Cruz et al. (2023), al evaluar la secuenciación del genoma completo y caracterización de un nuevo *Enterococcus faecium* con potencial probiótico aislado del intestino de *Litopenaeus vannamei*, destacan que los componentes del medio MRS también promovieron el crecimiento de bacterias pertenecientes a géneros con reportes previos de actividad probiótica, como *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Bacillus*, que en conjunto representaron cerca del 61.0 % de la microbiota del intestino de los organismo, también mencionan que los géneros *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* son componentes comunes de la microbiota intestinal de los animales acuáticos. Yao Ang y Lal (2019) mencionan, que se pueden considerar cuatro aislados como bacterias probióticas

potenciales (*Shewanella* sp., *B. thuringiensis*, *Lactobacillus plantarum* y *B. cereus*), del tracto gastrointestinal de *L. vannamei* para el cultivo de camarones. Entre los cuatro aislados seleccionados, *B. cereus* es una bacteria probiótica potencial porque tiene actividad antagónica contra el *V. harveyi* patógeno, estos cuatro posibles aislados de probióticos podrían utilizarse para apoyar el manejo de la enfermedad de la acuicultura de *L. vannamei*.

- **Prueba de Antagonismo**

El género *Bacillus* incluye una importante variedad de especies gram-positivas, no patógenas, con propiedades antagonistas. Son buenas secretoras de proteínas y metabolitos, fáciles de cultivar y altamente eficientes para el control de plagas y enfermedades. Los mecanismos de acción de *Bacillus* spp., incluyen competencia por espacio y nutrientes, inducción de resistencia (Maldonado-Bassantes 2012). En esta investigación tuvo como objetivo el aislamiento y caracterización de bacterias nativas dentro del tracto digestivo del *L. vannamei*, encontrando bacterias del género *Bacillus* las cuales tuvieron un efecto antagónico al momento de competir con patógeno inhibiendo su crecimiento. Esto coincide con lo mencionado por Salcido-Real (2012) al encontrar que el uso de probióticos durante el ciclo de cultivo puede inhibir el crecimiento de algunas especies del género *Vibrio*. Algunos de los géneros bacterianos más utilizados como probiótico en estanques es *Bacillus*, así como algunas levaduras utilizadas en su mayoría en la etapa larvaria para promover el crecimiento y supervivencia de los organismos (Decamp et al. 2008).

Con relación al efecto antagónico del pool de bacterias, Amoah et al. (2019) evaluaron la suplementación dietética del probiótico *Bacillus coagulans* ATCC 7050. Encontraron que en los niveles más altos de inclusión esta mejora el crecimiento, la morfología intestinal y la microflora, la respuesta inmune y la resistencia a *Vibrio parahaemolyticus* de *L. vannamei*. otro beneficio del uso de bacteria con potencial probiótico es mencionado por O'Toole y Cooney (2008), donde este puede generar cambios en la comunidad microbiana teniendo efectos positivos

en el cultivo de camarón, por incrementar una respuesta inmune, el incremento y la concentración de ácidos grasos volátiles en el intestino el camarón. (Li et al. 2018) Menciona que ha pasado más de una década desde que el microbiota intestinal de *L. vannamei* se convirtió en un foco de investigación utilizando tecnologías convencionales y moleculares.

La investigación sobre la microbiota intestinal de *L. vannamei* cubre temas como la composición bacteriana intestinal general, los factores que cambian o dan forma a la diversidad bacteriana intestinal. Enciso Ibarra (2016) menciona que los ensayos con probióticos y los usos de probióticos, prebióticos y otros aditivos para piensos. Se han permitido la identificación de filos bacterianos más dominantes. La proteobacteria es la bacteria más estable en *L. vannamei* y la abundancia de proteobacterias no cambia con el entorno ambiente o la dieta. (Abidin et al. 2022), Concuerda que La abundancia de otros filos bacterianos dominantes (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*) es propensa a cambiar con la etapa de desarrollo, el estado de salud, la dieta y los factores ambientales. Tanto las bacterias patógenas oportunistas como las bacterias beneficiosas existen en *L. vannamei* puede ser modulado por ingredientes dietéticos y factores ambientales.

En otra investigación Sánchez-Ortiz et al. (2015) al evaluar el aislamiento y caracterización de bacterias de la almeja “pata de mula” (*Anadara tuberculosa*) con potencial probiótico para el cultivo de camarón, lograron aislar 7 cepas entre ellas una de *Bacillus subtilis*, obteniendo un efecto benéfico sobre el crecimiento y respuesta inmune de *L. vannamei*, por lo que mencionan que estas bacterias potencial como probióticos en la acuicultura de organismos marinos. Resultados similares a estos obtuvieron Vidal et al. (2018), al evaluar el potencial probiótico ante la infección experimental por vibrio en postlarva de camarón marino, aislaron cepas de *B. cereus* del intestino de camarones *Litopenaeus vannamei* encontrando que esta puede colonizar el intestino de camarones *postlarvarios* de la misma especie y promover una reducción significativa de patógenos, con gran eficacia en la reducción de las bacterias patógenas *V. parahemolyticus* y *V. alginolyticus* en camarones cultivados en laboratorio.

Conclusiones

Se logró aislar bacterias nativas con potencial probióticos extraídas del intestino de camarones *L. vannamei*, se encontraron 4 géneros de bacterias gram positivas del Genero *Bacillus*. (*B. megaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*) en los organismos tomado de las 3 zonas de recolección.

Dentro de la morfología bacteriana se identificó cepas aisladas, su forma, la elevación, el margen y el color que formaron cada una de las colonias bacterianas al momento de ser cultivadas en el laboratorio de microbiología.

Se determinó la habilidad de inhibir el crecimiento de una especie de *Vibrio parahaemolyticus*. Encontrando que 6 cepas del género *Bacillus* lograron inhibir el crecimiento del *Vibrio*. Obteniendo bacterias con potencial probiótico para futuras investigación

Referencias Bibliografía

- Abidin, Z; Huang, H-T; Hu, Y-F; Chang, J-J; Huang, C-Y; Wu, Y-S; Nan, F-H. 2022. Effect of dietary supplementation with Moringa oleifera leaf extract and Lactobacillus acidophilus on growth performance, intestinal microbiota, immune response, and disease resistance in whiteleg shrimp (Penaeus vannamei) (en línea). Fish & Shellfish Immunology 127:876-890. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.007>.
- Aguilera-Arreola, M. 2015. Identification and Typing Methods for the Study of Bacterial Infections: a Brief Review and Mycobacterial as Case of Study (en línea). ARCHIVES OF CLINICAL MICROBIOLOGY 7(1). Disponible en <https://www.acmicrob.com/microbiology/identification-and-typing-methods-for-the-study-of-bacterial-infections-a-brief-review-and-mycobacterial-as-case-of-study.pdf>.
- Amoah, K; Huang, Q-C; Tan, B-P; Zhang, S; Chi, S-Y; Yang, Q-H; Liu, H-Y; Dong, X-H. 2019. Dietary supplementation of probiotic Bacillus coagulans ATCC 7050, improves the growth performance, intestinal morphology, microflora, immune response, and disease confrontation of Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei (en línea). Fish & Shellfish Immunology 87:796-808. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029>.
- Bolivar Arguello, L. (2014). "Identificación molecular de comunidades bacterianas Gram negativas en agua de un sistema de Pre-criadero de Litopenaeus vannamei," (en línea). Guayaquil, Escuela Superior Politecnica del Litoral. 88 p. (Tesis de pre grado). Disponible en dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25053/1/D-76179%20Arguello%20Lavayen.pdf.
- Boyd, CE; Davis, RP; Wilson, AG; Marcillo, F; Brian, S; McNevin, AA. 2021. Resource use in whiteleg shrimp LITOPENAEUS VANNAMEI farming in ECUADOR (en línea). Journal of the World Aquaculture Society 52(4):772-788. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12818>.
- Britania. 2022. Bacillus cereus Selectivo Agar (según Mossel) (en línea). 02:1-2. Disponible en https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60705f42f3f0e.pdf.
- Brito, LO; Arantes, R; Magnotti, C; Derner, R; Pchara, F; Olivera, A; Vinatea, L. 2014. Water quality and growth of Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei (Boone) in co-culture with green seaweed Ulva lactuca (Linnaeus)

- in intensive system (en línea). *Aquaculture International* 22(2):497-508. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9659-0>.
- Burgo-Ranadán, AM; Arias-Rodríguez, A. 2020. *Vibrio parahaemolyticus* en los productos marinos (en línea). 4(20):1945-1957. Disponible en [https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.\(4\).1945-1957.\(2020\).pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.(4).1945-1957.(2020).pdf).
- Chino de la Cruz, CM; Cornejo-Granados, F; Gallardo-Becerra, L; Rodríguez-Alegría, ME; Ochoa-Leyva, A; López Munguía, A. 2023. Complete genome sequence and characterization of a novel *Enterococcus faecium* with probiotic potential isolated from the gut of *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Microbial Genomics* 9(3):mgen000938. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000938>.
- Enciso Ibarra, K. 2016. Evaluación del cambio en la microbiota del contenido intestinal de Camarón Silvestre (*penaeus vannamei*) sometido a diferentes condiciones de cultivo (en línea). Tesis de Maestría. Mazatlán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. 141 p. Disponible en https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/744/1/Enciso-Ibarra%20K_MC_2016.pdf.
- Fernández, EM. 2017. Dinámica de nutrientes, materia orgánica y clorofila a en planicies de marea cubiertas por matas microbianas (en línea). Tesis Doctoral. Argentina, Universidad Nacional del Sur. 1-167 p. Consultado 29 ago. 2023. Disponible en <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/3601>.
- García Hoyos, NV. 2018. Efecto del uso de probióticos sobre el crecimiento y Supervivencia de camarón blanco *Litopenaeus Vannamei*, en sistema superintensivo con invernadero (en línea). Colombia, Universidad de Nariño. 1-98 p. Consultado 29 ago. 2023. Disponible en <https://sired.udenar.edu.co/8291/>.
- Garibay-Valdez, E; Martínez-Porchas, M; Calderón, K; Gollas-Galván, T; Martínez-Córdova, LR; Vargas-Albores, F; Arvayo, MA; Garibay-Valdez, E; Martínez-Porchas, M; Calderón, K; Gollas-Galván, T; Martínez-Córdova, LR; Vargas-Albores, F; Arvayo, MA. 2020. La microbiota del tracto digestivo de camarones peneidos: una perspectiva histórica y estado del arte (en línea). *Biotecnia* 22(1):5-16. DOI: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1119>.

- Guluarte-Vélez, CA. 2016. Efecto de tox a y lisado de *Vibrio parahaemolyticus* sobre el sistema inmune y morfología intestinal del huachinango del pacífico (lutianus peru) (en línea). Tesis de Maestria. La Paz, Baja California, Centro de Investigacion Biológicas del Noroeste, S.C. 1-79 p. Disponible en https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/348/1/guluarte_c.pdf.
- Gurola, H; Andrés, J. 2016. Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado (en línea) (En accepted: 2016-03-31t19:09:21z). . Consultado 11 ene. 2023. Disponible en <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/505>.
- Han, S; Wang, B; Wang, M; Liu, Q; Zhao, W; Wang, L. 2017. Effects of ammonia and nitrite accumulation on the survival and growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Invertebrate Survival Journal* 14(1):221-232. DOI: <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v14i1.221-232>.
- He, Y; Zhang, N; Wang, A; Wang, S; Che, Y; Huang, S; Yi, Q; Ma, Y; Jiang, Y. 2022. Positive effects of replacing commercial feeds by fresh black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in the diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Immune enzyme, water quality, and intestinal microbiota (en línea). *Frontiers in Marine Science* 9. Consultado 29 ago. 2023. Disponible en <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2022.987363>.
- Hu, X; Xu, Y; Su, H; Xu, W; Wen, G; Xu, C; Yang, K; Zhang, S; Cao, Y. 2023. Effect of a *Bacillus* Probiotic Compound on *Penaeus vannamei* Survival, Water Quality, and Microbial Communities (en línea). *Fishes* 8(7):362. DOI: <https://doi.org/10.3390/fishes8070362>.
- Jamal, MdR; Kristiansen, P; Kabir, MdJ; de Bruyn, LL. 2023. Risks and adaptation dynamics in shrimp and prawn-based farming systems in southwest coastal Bangladesh (en línea). *Aquaculture* 562:738819. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738819>.
- Kathyayani, SA; Poornima, M; Sukumaran, S; Nagavel, A; Muralidhar, M. 2019. Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus (en línea). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 184:109626. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109626>.

- Kewcharoen, W; Srisapoome, 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) (en línea). *Fish & Shellfish Immunology* 94:175-189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>.
- Khademzade, O; Zakeri, M; Haghi, M; Mousavi, SM. 2020. The effects of water additive *Bacillus cereus* and *Pediococcus acidilactici* on water quality, growth performances, economic benefits, immunohematology and bacterial flora of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei* Boone, 1931) reared in earthen ponds (en línea). *Aquaculture Research* 51(5):1759-1770. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.14525>.
- Larios, E; Coello, C; Sosa, D; Tejeda, L. 2019. Aislamiento e Identificación de bacterias nativas con potencial probiótico en el camarón (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en Honduras, 2018. *Portal de la Ciencia* :64-77. DOI: <https://doi.org/10.5377/pc.v0i16.8096>.
- Li, E; Xu, C; Wang, X; Wang, S; Zhao, Q; Zhang, M; Qin, JG; Chen, L. 2018. Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 26(3):381-399. DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1440530>.
- _____. 2018. Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 26(3):381-399. DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1440530>.
- Liu, F; Li, S; Yu, Y; Sun, M; Xiang, J; Li, F. 2020. Effects of ammonia stress on the hemocytes of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Chemosphere* 239:124759. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124759>.
- Maicá, PF; Borba, MR de; Martins, TG; Wasielesky Junior, W. 2014. Effect of salinity on performance and body composition of Pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system (en línea). *Revista Brasileira de Zootecnia* 43:343-350. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000700001>.
- Maicá, PF; Furtado, PS; Martins, ÁC da S; Filho, KCM; Jr, WW. 2018. EFEITO DA ALCALINIDADE NO CONSUMO ALIMENTAR DE JUVENIS DE CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO CULTIVADOS EM SISTEMA DE

- ÁGUA CLARA E BIOFLOCOS (en línea). Boletim do Instituto de Pesca 44(2). DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.222>.
- Mangott, A; Nappi, J; Delli Paoli Carini, A; Goncalves, P; Hua, K; Domingos, JA; de Nys, R; Thomas, T. 2020. Ulva lactuca as a functional ingredient and water bioremediator positively influences the hepatopancreas and water microbiota in the rearing of *Litopenaeus vannamei* (en línea). Algal Research 51:102040. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102040>.
- Martínez-Córdova, LR; Martínez-Porchas, M; López-Elías, JA; Enríquez-Ocaña, LF. 2014. USO DE MICROORGANISMOS EN EL CULTIVO DE CRUSTÁCEOS (en línea). Biotecnia 16(3):50-55. DOI: <https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.141>.
- Méndez-Martínez, Y; Torres-Navarrete, YG; Cortés-Jacinto, E; García-Guerrero, MU; Hernández-Hernández, LH; Verdecia, DM. 2022. Biological, nutritional, and hematoimmune response in juvenile *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) fed with probiotic mixture (en línea). Revista MVZ Cordoba 27(3). DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.2578>.
- Morales-Cristóbal, Y; Cortés-Jacinto, E; Saucedo, P; Méndez-Martínez, Y; Ledea-Rodríguez, JL; Guzmán-Murillo, MA; Sánchez-Ortiz, AC; Aguirre-Guzmán, G; Cadena-Roa, M; Campa-Córdova, AI. 2022. Dietary enrichment with crude protein content and feed additives (*Bacillus* spp. and yeast strains) improves growth performance, survival and circulating hemocytes in juvenile White shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Enriquecimiento de la dieta con proteína y aditivos alimentarios (cepas de *Bacillus* spp. y levaduras) mejora el crecimiento, supervivencia y hemocitos circulantes de juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* (en línea). Revista de Biología Marina y Oceanografía 57(1):45-56. DOI: <https://doi.org/10.22370/rbmo.2022.57.1.3361>.
- Nallely Cerón-Ortiz, A; Moctezuma-Resendiz, O; Angel Angeles-Monroy, M; Montufar-Serrano, E; Antonio León-Escamilla, J. 2015. Efecto interactivo del alimento y la calidad de agua en el crecimiento y sobrevivencia de postlarvas de acocil de río *Cambarellus montezumae* (en línea). Revista Mexicana de Biodiversidad 86(1):131-142. DOI: <https://doi.org/10.7550/rmb.48502>.
- Nimrat, S; Khaopong, W; Sangsong, J; Boonthai, T; Vuthiphandchai, V. 2021. Dietary administration of *Bacillus* and yeast probiotics improves the growth, survival, and microbial community of juvenile whiteleg shrimp, *Litope-*

- naeus vannamei (en línea). Journal of Applied Aquaculture 33(1):15-31. DOI: <https://doi.org/10.1080/10454438.2019.1655517>.
- Novriadi, R; Prihadi, TH; Saragih, HSD; Kesselring, J; Standen, B. 2023. Well-defined multispecies probiotic and enzyme combination outperforms traditional fermented probiotic applications in an intensive Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), culture system (en línea). Journal of the World Aquaculture Society 54(1):156-166. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12935>.
- Olveira, G; González-Molero, I. 2016. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica (en línea). Endocrinología y Nutrición 63(9):482-494. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>.
- Opazo, R; Romero, J; Villasante, A. 2020. PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS Perspectivas actuales para la acuicultura (en línea). 1 ed. Chile, INTA. 1-3 p. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/347436471_PROBIOTICOS_Y_PREBIOTICOS_Perspectivas_actuales_para_la_acuicultura.
- Párraga Santos, DC. 2018. Selección y evaluación de cepas bacterianas probióticas tipo *Bacillus* con actividad antagonica sobre cepas bacterianas patógenas aisladas en *Penaeus Litopenaeus vannamei*. (en línea). bachelor-thesis. s.l., La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2018. Consultado 21 sep. 2023. Disponible en <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/4431>.
- da Paz Serra, F; Wasielesky, W; Abreu, PC. 2021. Nitrogen salt fertilization vs. substrate availability: Two strategies to improve nitrification during the production of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. (en línea). Aquaculture 543:736997. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736997>.
- Peña-Navarro, N; Varela-Mejías, A. 2016. Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica (en línea). Revista de biología marina y oceanografía 51(3):553-564. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300007>.
- Pis, MA; Delgado, G; Pozo, M; Fuentes, M; Rubio, M. 2017. Calidad de agua en el cultivo de la Tilapia Nilótica GIFT 13-12 en jaulas flotantes destinada al consumo de la población. (en línea) (En accepted: 2022-01-06t15:41:21z). Consultado 21 mar. 2023. Disponible en <https://aquadocs.org/handle/1834/41770>.

- Ponce-Palafox, JT; Pavia, ÁA; Mendoza López, DG; Arredondo-Figueroa, JL; Lango-Reynoso, F; Castañeda-Chávez, M del R; Esparza-Leal, H; Ruiz-Luna, A; Páez-Ozuna, F; Castillo-Vargasmachuca, SG; Peraza-Gómez, V. 2019. Response surface analysis of temperature-salinity interaction effects on water quality, growth and survival of shrimp *Penaeus vannamei* postlarvae raised in biofloc intensive nursery production (en línea). *Aquaculture* 503:312-321. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.020>.
- Rahi, ML; Azad, KN; Tabassum, M; Irin, HH; Hossain, KS; Aziz, D; Moshtaghi, A; Hurwood, DA. 2021. Effects of Salinity on Physiological, Biochemical and Gene Expression Parameters of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*): Potential for Farming in Low-Salinity Environments (en línea). *Biology* 10(12):1220. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10121220>.
- Rendón, L; Balcázar, JL. 2016. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances (en línea). *Revista AquaTIC* (19). Consultado 31 mar. 2023. Disponible en <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/256>.
- Sánchez-Ortiz, AC; Luna-González, A; Campa-Córdova, ÁI; Escamilla-Montes, R; Flores-Miranda, M del C; Mazón-Suástegui, JM. 2015. Isolation and characterization of potential probiotic bacteria from pustulose ark (*Anadara tuberculosa*) suitable for shrimp farming (en línea). *Latin American Journal of Aquatic Research* 43(1):123-136. DOI: <https://doi.org/10.3856/vol43-issue1-fulltext-11>.
- Soares, MP; Jesus, F; Almeida, AR; Domingues, I; Hayd, L; Soares, AMVM. 2020. Effects of pH and nitrites on the toxicity of a cypermethrin-based pesticide to shrimps (en línea). *Chemosphere* 241:125089. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125089>.
- Soto-Marfileñ, KA; Galaviz-Silva, L; Molina-Garza, ZJ. 2023. Evaluación de microbiota de las costas de Sonora y Baja California contra cepas patógenas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio harveyi*, agentes causales de la necrosis hepatopancreática en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) (en línea). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 8(1):189-195. DOI: <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.27>.
- Susilowati, T; Hutabarat, J; Anggoro, S; Zainuri, M. 2014. The Improvement of the Survival, Growth and Production of Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Seaweed (*Gracilaria verucosa*) based on Polyculture Cul-

- tivation (en línea). International Journal of Marine and Aquatic Resource Conservation and Co-existence 1(1):6-11. DOI: <https://doi.org/10.14710/ijmarcc.1.1.p>.
- Thompson, J; Weaver, MA; Lupatsch, I; Shields, RJ; Plummer, S; Coates, CJ; Rowley, AF. 2022. Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Against Pathogenic Vibrios and Their Potential Use as Probiotics in Shrimp (*Penaeus vannamei*) Culture (en línea). Frontiers in Marine Science 9. Consultado 21 sep. 2023. Disponible en <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2022.807989>.
- Toro, D; Llanco, L; Lora, M; T, RT; Serrano-Martínez, E. 2020. Efecto de microorganismos eficaces en los parámetros productivos y calidad de agua en el cultivo semi-intensivo de langostino blanco *Litopenaeus vannamei*. (en línea). Salud y Tecnología Veterinaria 8(2):45-57. DOI: <https://doi.org/10.20453/stv.v8i2.3873>.
- Torres, W; Tinoco, O; Huamantínco, A; Mialhe, E; Conde, L. 2018. Biorremediación del agua recirculante en cultivo de camarón blanco utilizando microbiota autóctona del mangle rojo (en línea). Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas 21(42):55-62. DOI: <https://doi.org/10.15381/iigeo.v21i42.15787>.
- Tzuc, JT; Escalante, DR; Rojas Herrera, R; Gaxiola Cortés, G; Ortiz, MLA. 2014. Microbiota from *Litopenaeus vannamei*: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). SpringerPlus 3:280. DOI: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-280>.
- Ujjania, NC; Bengani, R; Prajapati, SD; Tandel, YU. 2022. Comparative Study on Growth and Condition Factor of Whiteleg (en línea). 44(11):424-429. Disponible en https://chesci.com/wp-content/uploads/2023/01/v11i44_7_CS205306497.pdf.
- Valverde-Moya, JA; Varela-Mejías, A. 2018. Cultivo comercial de camarones *Litopenaeus vannamei* en Costa Rica durante El Niño 2015: incidencia de enfermedades (en línea). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 29(1):188-204. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14187>.
- Varela, A; Choc-Martínez, LF; Varela, A; Choc-Martínez, LF. 2020. Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones (en línea). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 31(3). DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18165>.

- Vidal, JMA; Pessôa, MNDC; Santos, FLD; Mendes, PDP; Mendes, MS. 2018. PROBIOTIC POTENTIAL OF *Bacillus cereus* AGAINST *Vibrio* spp. IN POST-LARVAE SHRIMPS (en línea). Revista Caatinga 31:495-503. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n226rc>.
- Villaseñor, IEL. 2018. Efecto de probióticos en la modulación de la microbiota intestinal y respuesta inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (en línea). La Paz, Baja California Sur, CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C. 122 p. Consultado 15 ene. 2023. Disponible en <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2208>.
- Wang, G-H; Berdy, BM; Velasquez, O; Jovanovic, N; Alkhalifa, S; Minbiole, KPC; Brucker, RM. 2020. Changes in Microbiome Confer Multigenerational Host Resistance after Sub-toxic Pesticide Exposure. Cell Host & Microbe 27(2):213-224.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.009>.
- Yao Ang, C; Lal, TM. 2019. Isolation and Characterization of Probiotic Bacteria from the Gastrointestinal Tract of Pond-cultured *Litopenaeus vannamei* in Tuaran, Sabah (en línea). Int. J. of Aquatic Science 10(1):60-73. Consultado 10 may 2023. Disponible en http://www.journal-aquaticscience.com/article_81121.html.
- Zambrano Vera, CJ. 2023. Aislamiento y caracterización de bacterias responsables de enfermedades en el camarón *Penaeus vannamei*, determinando su caracterización bioquímica y su respuesta a la susceptibilidad a diferentes productos comerciales. (en línea). bachelorThesis. La Libertad, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023. 1-89 p. Consultado 4 ago. 2023. Disponible en <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/9670>.
- Zar, JH. 1984. Biostatistical analysis. 2da In. Prentice-Hall. New Jersey, USA, Upper Saddle River. 236-346 p.
- Zhao, M; Yao, D; Li, S; Zhang, Y; Aweya, JJ. 2020. Effects of ammonia on shrimp physiology and immunity: a review (en línea). Reviews in Aquaculture 12(4):2194-2211. DOI: <https://doi.org/10.1111/raq.12429>.
- Zheng, X; Duan, Y; Dong, H; Zhang, J. 2020. The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* (en línea). Aquaculture 526:735331. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735331>.
- Żukowska, ME. 2021. Advanced methods of bacteriological identification in a clinical microbiology laboratory (en línea). Journal of Pre-Clinical and

- Clinical Research 15(2):68-72. DOI: <https://doi.org/10.26444/jpcrr/134646>.
- Abidin, Z; Huang, H-T; Hu, Y-F; Chang, J-J; Huang, C-Y; Wu, Y-S; Nan, F-H. 2022. Effect of dietary supplementation with Moringa oleifera leaf extract and Lactobacillus acidophilus on growth performance, intestinal microbiota, immune response, and disease resistance in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) (en línea). Fish & Shellfish Immunology 127:876-890. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.07.007>.
- Addo, FG; Zhang, S; Manirakiza, B; Ma, Y; Yuan, S; Alklaf, SA; Guo, S; Abakari, G. 2023. Brown sugar addition enhanced nutrient removal rates, growth performance, and bacterial community in a rice straw-based biofloc shrimp culture system (en línea). Aquaculture 567:739274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739274>.
- Aguilera-Arreola, M. 2015. Identification and Typing Methods for the Study of Bacterial Infections: a Brief Review and Mycobacterial as Case of Study (en línea). ARCHIVES OF CLINICAL MICROBIOLOGY 7(1). Disponible en <https://www.acmicrob.com/microbiology/identification-and-typing-methods-for-the-study-of-bacterial-infections-a-brief-review-and-mycobacterial-as-case-of-study.pdf>.
- Aliviyanti, D; Suharjono, S; Retnaningdyah, C. 2017. The Impact of Dissolved Nitrate and Phosphate on Maximum Growth Rate and Carrying Capacity of Oscillatoria in Intensive Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Farming Pond Situbondo, East Java, Indonesia (en línea). The Journal of Experimental Life Science 7(1):55-60. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2016.007.01.11>.
- Amoah, K; Huang, Q-C; Tan, B-P; Zhang, S; Chi, S-Y; Yang, Q-H; Liu, H-Y; Dong, X-H. 2019. Dietary supplementation of probiotic Bacillus coagulans ATCC 7050, improves the growth performance, intestinal morphology, microflora, immune response, and disease confrontation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (en línea). Fish & Shellfish Immunology 87:796-808. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.029>.
- Bolivar Arguello, L. (2014). "Identificación molecular de comunidades bacterianas Gram negativas en agua de un sistema de Pre-criadero de *Litopenaeus vannamei*," (en línea). Guayaquil, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 88 p. (Tesis de pre grado). Disponible en dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25053/1/D-76179%20Arguello%20Lavayen.pdf.

- Boyd, CE; Davis, RP; Wilson, AG; Marcillo, F; Brian, S; McNevin, AA. 2021. Resource use in whiteleg shrimp *LITOPENAEUS VANNAMEI* farming in ECUADOR (en línea). Journal of the World Aquaculture Society 52(4):772-788. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12818>.
- Britania. 2022. Bacillus cereus Selectivo Agar (según Mossel) (en línea). 02:1-2. Disponible en https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60705f42f3f0e.pdf.
- Brito, LO; Arantes, R; Magnotti, C; Derner, R; Pchara, F; Olivera, A; Vineata, L. 2014. Water quality and growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in co-culture with green seaweed *Ulva lactuca* (Linnaeus) in intensive system (en línea). Aquaculture International 22(2):497-508. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9659-0>.
- Burgo-Ranadán, AM; Arias-Rodríguez, A. 2020. *Vibrio parahaemolyticus* en los productos marinos (en línea). 4(20):1945-1957. Disponible en [https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.\(4\).1945-1957.\(2020\).pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/Hig._Sanid_.Ambient.20.(4).1945-1957.(2020).pdf).
- Chino de la Cruz, CM; Cornejo-Granados, F; Gallardo-Becerra, L; Rodríguez-Alegría, ME; Ochoa-Leyva, A; López Munguía, A. 2023. Complete genome sequence and characterization of a novel *Enterococcus faecium* with probiotic potential isolated from the gut of *Litopenaeus vannamei* (en línea). Microbial Genomics 9(3):mgen000938. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000938>.
- Díaz-Jiménez, L; Pérez-Rostro, CI; Hernández-Vergara, MP; Perez-Legaspi, IA. 2017. Efecto de la dieta y el sistema de cultivo en la supervivencia y desarrollo larval del camarón bandeado *Stenopus hispidus* (en línea). Revista Mexicana de Biodiversidad 88(1):163-172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.01.004>.
- Enciso Ibarra, K. 2016. Evaluación del cambio en la microbiota del contenido intestinal de Camarón Silvestre (*penaeus vannamei*) sometido a diferentes condiciones de cultivo (en línea). Tesis de Maestría. Mazatlán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. 141 p. Disponible en https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/744/1/Enciso-Ibarra%20K_MC_2016.pdf.
- Escobar Briones, L; Olvera Novoa, MA; Puerto Castillo, C. 2006. Avances Sobre la Ecología Microbiana del Tracto Digestivo ... Laura Escobar-Briones, Mi-

- guelGuluarte-Vélez, CA. 2016. Efecto de tox a y lisado de *Vibrio parahaemolyticus* sobre el sistema inmune y morfología intestinal del huachinango del pacífico (*Ictalurus punctatus*) (en línea). Tesis de Maestría. La Paz, Baja California, Centro de Investigacion Biológicas del Noroeste, S.C. 1-79 p. Disponible en https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/348/1/guluarte_c.pdf.
- Gurola, H; Andrés, J. 2016. Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado (en línea) (En accepted: 2016-03-31t19:09:21z). . Consultado 11 ene. 2023. Disponible en <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/505>.
- Han, S; Wang, B; Wang, M; Liu, Q; Zhao, W; Wang, L. 2017. Effects of ammonia and nitrite accumulation on the survival and growth performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Invertebrate Survival Journal* 14(1):221-232. DOI: <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v14i1.221-232>.
- Le Moullac, G; Haffner, P. 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea (en línea). *Aquaculture* 191(1):121-131. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00422-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00422-1).
- Liu, F; Li, S; Yu, Y; Sun, M; Xiang, J; Li, F. 2020. Effects of ammonia stress on the hemocytes of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (en línea). *Chemosphere* 239:124759. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124759>.
- Maicá, PF; Borba, MR de; Martins, TG; Wasielesky Junior, W. 2014. Effect of salinity on performance and body composition of Pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system (en línea). *Revista Brasileira de Zootecnia* 43:343-350. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982014000700001>.
- Maicá, PF; Furtado, PS; Martins, AC da S; Filho, KCM; Jr, WW. 2018. EFEITO DA ALCALINIDADE NO CONSUMO ALIMENTAR DE JUVENIS DE CAMARÃO BRANCO DO PACÍFICO CULTIVADOS EM SISTEMA DE ÁGUA CLARA E BIOFLOCOS (en línea). *Boletim do Instituto de Pesca* 44(2). DOI: <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.222>.
- Nallely Cerón-Ortiz, A; Moctezuma-Resendiz, O; Angel Angeles-Monroy, M; Montufar-Serrano, E; Antonio León-Escamilla, J. 2015. Efecto interactivo del alimento y la calidad de agua en el crecimiento y sobrevivencia de postlar-

- vas de acocil de río Cambarellus montezumae (en línea). Revista Mexicana de Biodiversidad 86(1):131-142. DOI: <https://doi.org/10.7550/rmb.48502>.
- Oliveira, G; González-Molero, I. 2016. Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica (en línea). Endocrinología y Nutrición 63(9):482-494. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>.
- Opazo, R; Romero, J; Villasante, A. 2020. PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS Perspectivas actuales para la acuicultura (en línea). 1 ed. Chile, INTA. 1-3 p. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/347436471_PROBIOTICOS_Y_PREBIOTICOS_Perspectivas_actuales_para_la_acuicultura.
- da Paz Serra, F; Wasielesky, W; Abreu, PC. 2021. Nitrogen salt fertilization vs. substrate availability: Two strategies to improve nitrification during the production of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. (en línea). Aquaculture 543:736997. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736997>.
- Peña-Navarro, N; Varela-Mejías, A. 2016. Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica (en línea). Revista de biología marina y oceanografía 51(3):553-564. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300007>.
- Pis, MA; Delgado, G; Pozo, M; Fuentes, M; Rubio, M. 2017. Calidad de agua en el cultivo de la Tilapia Nilótica GIFT 13-12 en jaulas flotantes destinada al consumo de la población. (en línea) (En accepted: 2022-01-06t15:41:21z). Consultado 21 mar. 2023. Disponible en <https://aquadocs.org/handle/1834/41770>.
- Ponce-Palafox, JT; Pavia, ÁA; Mendoza López, DG; Arredondo-Figueroa, JL; Lango-Reynoso, F; Castañeda-Chávez, M del R; Esparza-Leal, H; Ruiz-Luna, A; Páez-Ozuna, F; Castillo-Vargasmachuca, SG; Peraza-Gómez, V. 2019. Response surface analysis of temperature-salinity interaction effects on water quality, growth and survival of shrimp *Penaeus vannamei* postlarvae raised in biofloc intensive nursery production (en línea). Aquaculture 503:312-321. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.020>.
- Prajapati, S; Ujjania, N. 2021. Study on length weight relationship and condition factor of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) cultured in earthen pond, Khambhat (Gujarat) (en línea). International Journal of Fauna and Biological Studies 8(1):67-70. DOI: <https://doi.org/10.22271/23940522.2021.v8.i1b.792>.

- Rahi, ML; Azad, KN; Tabassum, M; Irin, HH; Hossain, KS; Aziz, D; Moshtaghi, A; Hurwood, DA. 2021. Effects of Salinity on Physiological, Biochemical and Gene Expression Parameters of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*): Potential for Farming in Low-Salinity Environments (en línea). *Biology* 10(12):1220. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology10121220>.
- Rendón, L; Balcázar, JL. 2016. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances (en línea). *Revista AquaTIC* (19). Consultado 31 mar. 2023. Disponible en <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/256>.
- Sánchez-Ortiz, AC; Luna-González, A; Campa-Córdova, ÁI; Escamilla-Montes, R; Flores-Miranda, M del C; Mazón-Suástegui, JM. 2015. Isolation and characterization of potential probiotic bacteria from pustulose ark (*Anadara tuberculosa*) suitable for shrimp farming (en línea). *Latin American Journal of Aquatic Research* 43(1):123-136. DOI: <https://doi.org/10.3856/vol43-issue1-fulltext-11>.
- Soares, MP; Jesus, F; Almeida, AR; Domingues, I; Hayd, L; Soares, AMVM. 2020. Effects of pH and nitrites on the toxicity of a cypermethrin-based pesticide to shrimps (en línea). *Chemosphere* 241:125089. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125089>.
- Susilowati, T; Hutabarat, J; Anggoro, S; Zainuri, M. 2014. The Improvement of the Survival, Growth and Production of Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Seaweed (*Gracilaria verucosa*) based on Polyculture Cultivation (en línea). *International Journal of Marine and Aquatic Resource Conservation and Co-existence* 1(1):6-11. DOI: <https://doi.org/10.14710/ijmarcc.1.1.p>.
- Tazikeh, T; Abedian Kenari, A; Esmaeili, M. 2020. Effects of fish meal replacement by meat and bone meal supplemented with garlic (*Allium sativum*) powder on biological indices, feeding, muscle composition, fatty acid and amino acid profiles of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (en línea). *Aquaculture Research* 51(2):674-686. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.14416>.
- Ujjania, NC; Bengani, R; Prajapati, SD; Tandel, YU. 2022. Comparative Study on Growth and Condition Factor of Whiteleg (en línea). 44(11):424-429. Disponible en https://chesci.com/wp-content/uploads/2023/01/v11i44_7_CS205306497.pdf.

- Valverde-Moya, JA; Varela-Mejías, A. 2018. Cultivo comercial de camarones *Litopenaeus vannamei* en Costa Rica durante El Niño 2015: incidencia de enfermedades (en línea). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 29(1):188-204. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14187>.
- Varela, A; Choc-Martínez, LF; Varela, A; Choc-Martínez, LF. 2020. Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones (en línea). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 31(3). DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18165>.
- Vidal, JMA; Pessôa, MNDC; Santos, FLD; Mendes, PDP; Mendes, MS. 2018. PROBIOTIC POTENTIAL OF *Bacillus cereus* AGAINST *Vibrio* spp. IN POST-LARVAE SHRIMPS (en línea). Revista Caatinga 31:495-503. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n226rc>.
- Villamil Díaz, L; Martínez-Silva, MA. 2009. PROBIÓTICOS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA EN EL CULTIVO DE CAMARÓN: RESEÑA (en línea). Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR 38(2):165-187. Consultado 31 mar. 2023. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-97612009000200009&lng=en&nrm=iso&tlng=es.
- Villaseñor, IEL. 2018. Efecto de probióticos en la modulación de la microbiota intestinal y respuesta inmune del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (en línea). La Paz, Baja California Sur, CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C. 122 p. Consultado 15 ene. 2023. Disponible en <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2208>.
- Wang, G-H; Berdy, BM; Velasquez, O; Jovanovic, N; Alkhalifa, S; Minbiole, KPC; Brucker, RM. 2020. Changes in Microbiome Confer Multigenerational Host Resistance after Sub-toxic Pesticide Exposure. Cell Host & Microbe 27(2):213-224.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.009>.
- Yao Ang, C; Lal, TM. 2019. Isolation and Characterization of Probiotic Bacteria from the Gastrointestinal Tract of Pond-cultured *Litopenaeus vannamei* in Tuaran, Sabah (en línea). Int. J. of Aquatic Science 10(1):60-73. Consultado 10 may 2023. Disponible en http://www.journal-aquaticscience.com/article_81121.html.
- Zambrano Vera, CJ. 2023. Aislamiento y caracterización de bacterias responsables de enfermedades en el camarón *Penaeus vannamei*, determinando su caracterización bioquímica y su respuesta a la susceptibilidad a diferentes

- productos comerciales. (en línea). bachelorThesis. La Libertad, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023. 1-89 p. Consultado 4 ago. 2023. Disponible en <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/9670>.
- Zhao, M; Yao, D; Li, S; Zhang, Y; Aweya, JJ. 2020. Effects of ammonia on shrimp physiology and immunity: a review (en línea). *Reviews in Aquaculture* 12(4):2194-2211. DOI: <https://doi.org/10.1111/raq.12429>.
- Żukowska, ME. 2021. Advanced methods of bacteriological identification in a clinical microbiology laboratory (en línea). *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research* 15(2):68-72. DOI: <https://doi.org/10.26444/jpccr/134646>.

ANEXOS

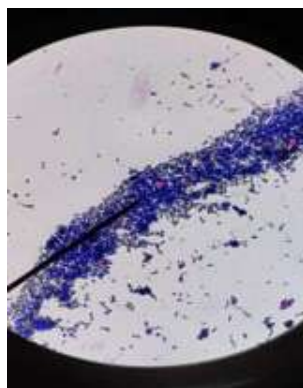
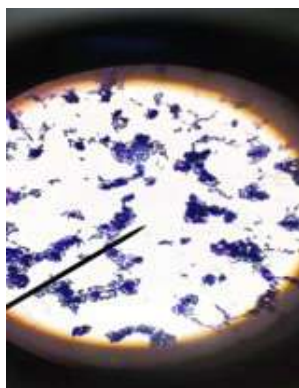
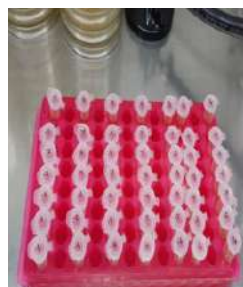
Anexo 1. Selección de Organismos



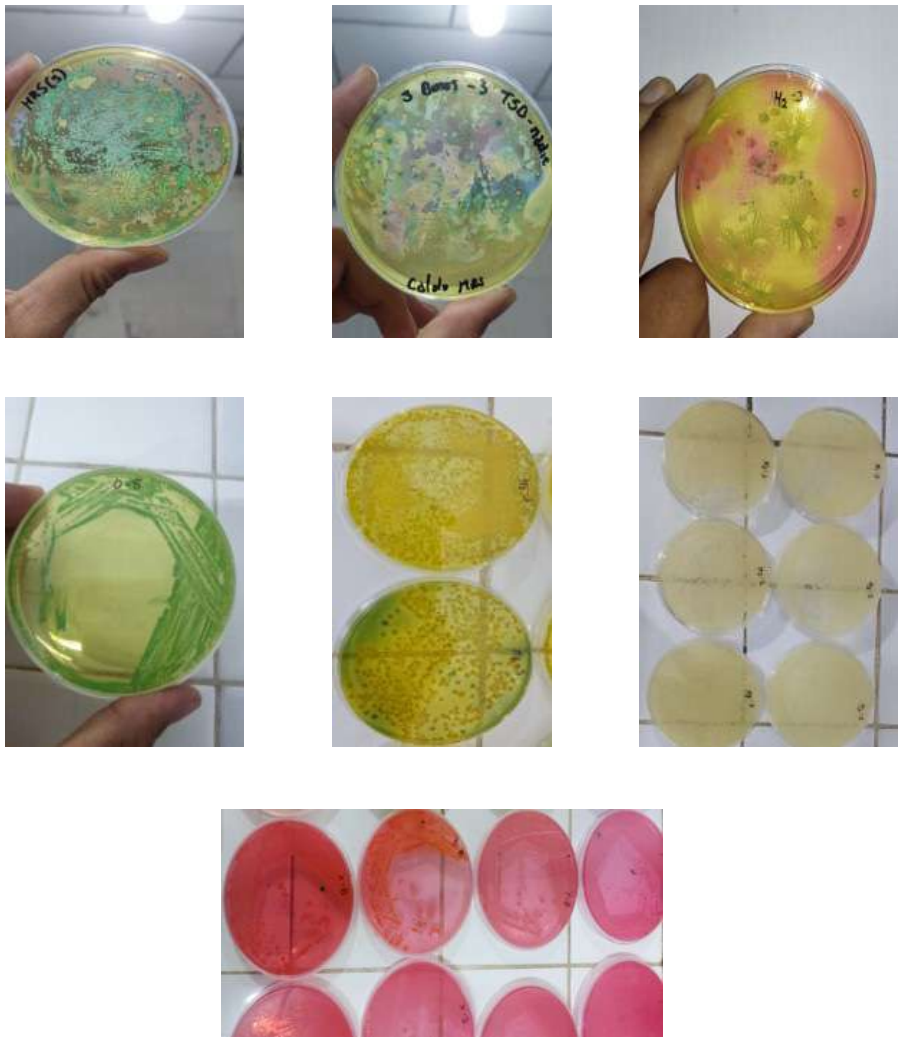
Anexo 2. Siembra del cultivo bacteriano (extracto del intestino de los organismos)



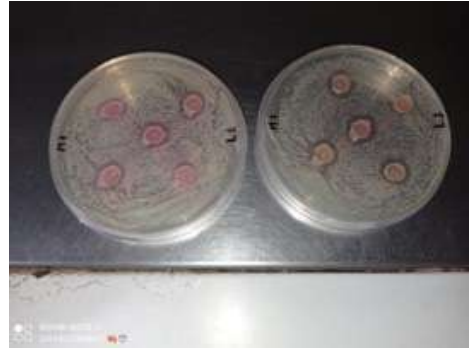
Anexo 3. Tincion y selección de bacterias del genero Bacillus



Anexo 4. Identificación de Bacterias del genero *Bacillus* y reciembra



Anexo 5. Prueba de antagonismo



RESEÑA DE AUTOR

Apellidos y Nombres Méndez Martínez Yuniel
Filiación Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Correo: ymendezm@uteq.edu.ec
 Orcid: 0000-0002-5365-5794



Soy PhD en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, Master en nutrición animal - UNIVERSIDAD AGRARIA DE GRANMA.

Coordinador de Carrera Ciencias Pecuarias y Biológicas.

Participación en Proyectos de Investigación, publicaciones como autor, coautor en revistas científicas indexadas de impacto mundial.

Publicación de varios libros.



Dr. Eduardo Díaz Ocampo, Ph.D.
RECTOR

Ing. Yenny Guiselli Torres Navarrete, Ph.D.
VICERRECTORA ACADÉMICA

Ing. Bolívar Roberto Pico Saltos, M.Sc.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Econ. Carlos Edison Zambrano, Ph.D.
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN - DICYT

La acuicultura globalizada representa una importante industria proveedora de alimento de alto valor nutricional, generando empleo promoviendo el desarrollo nacional y mundial.

La investigación tuvo como objetivo caracterizar bacterias nativas con potencial probiótica en el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en la provincia de Guayas, Se realizó en el Laboratorio de Acuicultura, perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológica (FCPB) de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Se evaluaron los parámetros de calidad del agua, indicadores biológicos y caracterizaron las bacterias aisladas del tracto digestivo y su habilidad para inhibir el crecimiento del *Vibrio parahaemolyticus*

