

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE AGROPECUARIA**

TEMA:

**Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la
producción de camarón blanco**

AUTOR

Rueda Romero Ivana Nicole

**Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de INGENIERA AGROPECUARIA**

TUTOR

Ing. Franco Rodríguez, John E., Ph. D.

Guayaquil, Ecuador

6 de septiembre del 2023



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **Trabajo de Integración Curricular**, fue realizado en su totalidad por **Rueda Romero, Ivana Nicole** como requerimiento para la obtención del título de **Ingeniera Agropecuaria**.

TUTOR

Ing. John E. Franco Rodríguez, Ph. D.

DIRECTORA DE LA CARRERA

Ing. Pincay Figueroa, Paola Estefanía, M. en C.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Rueda Romero Ivana Nicole

DECLARO QUE:

El Trabajo de Integración Curricular “Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco” previo a la obtención del título de **Ingeniera Agropecuaria**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

LA AUTORA

Rueda Romero, Ivana Nicole



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, **Rueda Romero, Ivana Nicole**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución el **Trabajo de Integración Curricular “Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco”**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

LA AUTORA

Rueda Romero, Ivana Nicole



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE AGROPECUARIA

CERTIFICADO COMPILATIO

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo de Integración Curricular “**Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco**” presentado por la estudiante **Rueda Romero, Ivana Nicole**, de la carrera de **Agropecuaria**, donde obtuvo del programa CAOMPILATIO, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.



CERTIFICADO DE ANÁLISIS
magister

Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco

0% Similitudes

< 1% Texto entre comillas
0% similitudes entre comillas
1% Idioma no reconocido

Nombre del documento: Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco.docx	Depositante: Bella Cecilia Crespo Moncada	Número de palabras: 8982
ID del documento: 4add6368ee01f510a5f05e7cc5c508f8495a2f2e	Fecha de depósito: 5/9/2023	Número de caracteres: 62.185
Tamaño del documento original: 1.53 MB	Tipo de carga: interface	
	fecha de fin de análisis: 5/9/2023	

Ubicación de las similitudes en el documento:

Fuente: COMPILATIO-Usuario Caicedo Coello. 2023

Certifica

Ing. Noelia Caicedo Coello, M. en C.
Revisora - CAOMPILATIO

AGRADECIMIENTO

Primero quiero agradecer a Dios, por brindarme salud, vida y por haberme dado la oportunidad de concluir una de mis metas de vida, ya que sin el apoyo y bendición de él no hubiera podido seguir adelante y finalizar con una de mis metas.

A mis padres, hermanos, en especial a mi hermana Ximena que siempre estuvo para guiarme y enseñarme a luchar por mis metas, a mis amigos por apoyarme a diario, quienes fueron un pilar fundamental en mi vida universitaria, que a pesar de todos los obstáculos me brindaron su amor y apoyo, a Fernando Castro quien formo parte de mi vida universitaria y me apoyo en mis proyectos académicos junto con el resto de mis compañeros, algunos ya se graduaron primero y otros nos graduaremos juntos.

A la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, por acogerme en sus aulas durante el tiempo de mi carrera y concederme el privilegio de ser un profesional más en mi país.

A mi Tutor de Tesis, el Ing. John E. Franco Rodríguez, a la Ing. Paola Estefanía Pincay y a la Ing. Noelia Caicedo Coello y demás Ingenieros quienes me han guiado en todas las fases de este proyecto de investigación y además por su gran paciencia y apoyo brindado.

DEDICATORIA

Llena de felicidad dedico este logro a mis padres Patricia Romero y Oliván Rueda a mis abuelitos, hermanos y mi familia que ya no se encuentran conmigo, pero desde el cielo yo sé que están muy felices. Siempre han estado presentes en mi corazón, que siempre han confiado en mí desde el inicio y por ser el principal motor que me impulso a esforzarme cada día más para cumplir esta meta.

Dedico también este trabajo a mi amiga Tania Suarez que ella siempre estuvo apoyándome en todo desde la escuelita, colegio y universidad y en la vida, al Ing. Luis Bustamante que es como un segundo papá siempre aconsejándome para que yo me supere en la vida y a mis amigos del trabajo que pusieron un granito de arena para que esto sea posible, gracias a toda la gente a todos a la vida porque siempre pone gente buena a mi alrededor que me ayuda y me guía a seguir adelante y luchar por mis metas y sueños.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE AGROPECUARIA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

**Ing. John E. Franco Rodríguez, Ph. D
TUTOR**

**Ing. Pincay Figueroa, Paola Estefanía, M. en C.
DIRECTORA DE LA CARRERA**

**Ing. Caicedo Coello, Noelia Carolina, M. en C.
COORDINADOR DE UTE**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

CALIFICACIÓN

**Ing. John E. Franco Rodríguez, Ph. D
TUTOR**

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	Objetivos	3
1.1.1	Objetivo General.	3
1.1.2	Objetivos Específicos.	3
2	MARCO TEÓRICO	4
2.1	Antecedentes	4
2.2	Acuicultura en Ecuador	5
2.3	Generalidades del camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
2.4	Taxonomía	6
2.5	Tracto digestivo del camarón.....	6
2.5.1	Factores que afectan el microbiota intestinal del camarón.	7
2.6	Sistema inmune del camarón	7
2.7	Agentes patógenos de interés en el cultivo de camarón	8
2.8	Género Vibrio	9
2.8.1	Vibriosis.	10
2.9	Terapéuticos.....	11
2.9.1	Uso de antibióticos en acuicultura.	11
2.9.2	Uso de probióticos en acuicultura.....	12
2.9.3	Uso de ácidos orgánicos en la acuicultura.	12
2.10	Los ácidos orgánicos, ¿Qué son?	13
2.10.1	Ácido cítrico.....	14
2.10.2	Ácido ascórbico.	14
2.10.3	Ácido Acético.....	15
2.10.4	Ácido fumárico.....	15
2.10.5	Ácido propiónico.	15
2.10.6	Ácidos orgánicos como aditivos nutricionales en alimentos...	16
2.10.7	Inhibición de bacterias patógenas.	17
3	MARCO METODOLÓGICO	18
3.1	Ubicación de la investigación	18
3.2	Duración del proyecto.....	19
3.3	Materiales y equipos.....	19

3.2.1	Materiales.....	19
3.2.2	Equipos.	19
3.3.3	Sustancias.....	20
3.4	Metodología.....	20
3.5	Toma de muestras.....	20
3.4.1	Proceso de aclimatación de los juveniles.	20
3.4.3	Preparación del alimento.....	21
3.4.4	Supervivencia.....	21
3.4.5	Diseño experimental.....	21
3.6	Variables investigadas.....	22
3.7	Tipo de estudio.....	22
3.8	Especificaciones de los tratamientos.....	22
3.9	Manejo de los camarones en el experimento.....	22
3.10	Parámetros considerados para su medición.....	23
3.11	Lectura de frecuencia de muestreos.....	23
3.12	Análisis estadístico y diseño experimental.....	23
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1	Actividad antimicrobiana entre ácidos orgánicos.....	27
4.1.1	Ácidos orgánicos.....	28
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
5.1	Conclusiones.....	32
5.2	Recomendaciones.....	33

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Litopenaeus vannamei</i>	6
Tabla 2. Ácidos orgánicos y sus efectos en la nutrición animal.	17
Tabla 3. Descriptivos del Diseño Experimental Bioensayo 1	24
Tabla 4. ANOVA del Bioensayo 1.....	25
Tabla 5. Comparaciones Múltiples entre los Bioensayo 1 y Bioensayo 2	25
Tabla 6. ANOVA Bioensayo 2	26
Tabla 7. Ácido butírico aplicado en alimento para camarones.....	28
Tabla 8. Resumen Ácido Acético, tratamiento 2 adicionado al alimento para	29
Tabla 9. Resúmenes promedios de Supervivencia entre tratamientos y.....	29
Tabla 10. Resumen Ácido Butírico, tratamiento 1 adicionado al alimento para	29
Tabla 11. Resumen Ácido Acético, tratamiento 2 adicionado al alimento para	30
Tabla 12. Resúmenes promedios de Supervivencia entre tratamientos y el	30
Tabla 13. Relación costos de productos de tipo orgánico y antibióticos	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de la investigación: Sector Estero Hondo, Cantón	19
Figura 2. Diseño experimental del proyecto	21

RESUMEN

Esta investigación se realizó en la Camaronera Pitahaya ubicada el Sector estero Hondo del cantón Arenillas de la provincia de El Oro. Anteriormente se utilizaban tratamientos que consistían en la aplicación de antibióticos contra infecciones bacterianas provocada por *Vibrio parahaemolyticus*. Por tanto, el uso y abuso de los mismos han generado resistencia bacteriana representando un poderoso peligro a la salud de las personas, los ecosistemas y sus componentes. Recientes estudios buscan alternativas para el uso de antibióticos en la actividad camaronera, Varias investigaciones demuestran que usar ácidos orgánicos por sus fuertes propiedades antimicrobianas se constituye en un excelente agente alternativo. Por lo que la presente investigación propone el uso individual de ácidos orgánicos como producto alternativo al uso de antibióticos para el control de *V. parahaemolyticus* (AHPND+) potencial patógeno dañino en el cultivo de camarones. La etapa de trabajo consistió en establecer la actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos sobre la proliferación de *V. parahameolyticus*. La eficacia de los ácidos butírico y acético denotan importante resultado preventivo ($P < 0.05$), en ambos casos. Su acción inhibitoria es diferente para *V. parahameolyticus*. La concentración Inhibitoria demostró diferencias entre los ácidos orgánicos aplicados y la cepa de *V. parahameolyticus* evaluadas. La aplicación del ácido butírico demostró mayor potencial de inhibición con diferencias significativas ($P < 0.05$) al ser comparado con el ácido acético contrastando la sobrevivencia con la mortalidad en ambos casos.

Palabras Claves: Vibrios, patógeno, Ácidos orgánicos, *pirAB*, hepatopáncreas, toxicidad, inhibitorio

ABSTRACT

This research was carried out in the Pitahaya Shrimp farm located in the Hondo estuary sector of the Arenillas canton of the El Oro province. Previously, treatments that consisted of the application of antibiotics against bacterial infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* were used. Therefore, their use and abuse have generated bacterial resistance, representing a powerful danger to the health of people, ecosystems and their components. Recent studies seek alternatives for the use of antibiotics in shrimp farming. Several investigations show that using organic acids due to their strong antimicrobial properties constitutes an excellent alternative agent. Therefore, the present investigation proposes the individual use of organic acids as an alternative product to the use of antibiotics for the control of *V. parahaemolyticus* (AHPND+), a potentially harmful pathogen in shrimp farming. The work stage consisted of establishing the antimicrobial activity of organic acids on the proliferation of *V. parahameolyticus*. The efficacy of butyric and acetic acids denote an important preventive result ($P < 0.05$), in both cases. Its inhibitory action is different for *V. parahameolyticus*. The inhibitory concentration showed differences between the organic acids applied and the strain of *V. parahameolyticus* evaluated. The application of butyric acid showed greater inhibition potential with significant differences ($P < 0.05$) when compared with acetic acid, contrasting survival with mortality in both cases.

Keywords: Vibrios, pathogen, organic acids, pirAB, hepatopancreas, toxicity, inhibitory

1 INTRODUCCIÓN

Ecuador es uno de los países productores y exportadores de camarón de mayor crecimiento en el mundo, donde la provincia de El Oro es reconocida como una de las principales provincias productoras de este producto, representando el 15 % del total de la producción ecuatoriana. En el Ecuador es una de las actividades productivas con mayor ingreso económico; en el año 2021 consiguió un ingreso anualizado de quinientos millones de dólares. Sin embargo, la actividad camaronera se ve amenazada por la aparición de enfermedades de origen vírica o bacteriana en los últimos años. Las amenazas virales que se mencionan son: el Virus de la Mancha Blanca (WSSV), Síndrome de Taura (TSV), enfermedades de origen bacteriano como la vibriosis ocasionada por *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, Chávez y Llanos, (2015).

Es urgente actuar con estrategias que permitan inhibir el problema, reduciendo los costos de producción para conseguir: mayor rentabilidad terminado el cultivo, menor impacto ecológico, evitando el deterioro de alimentos en los fondos y la proliferación de enfermedades directas al bienestar del camarón Reyes, (2014).

La vibriosis es una enfermedad bacteriana muy común en el cultivo de camarón afectando el porcentaje de sobrevivencia en la producción de camarones. Se estima que el 60 % de las pérdidas en el cultivo de camarón son causadas por el virus de la mancha blanca, y un 20 % es causada por infecciones bacterianas preponderando el género *Vibrio* spp. En la industria camaronera, la vibriosis es una amenaza constante (Abdel-Latif et al., 2022).

Para mejorar la situación aplicamos estrategias como el equipamiento de raceway; corrección balances iónicos; mejoramiento genético; biorremediación de suelos agua; aditivos para el balanceado como: probióticos, ácidos orgánicos (González, 2014).

Los ácidos orgánicos son uno de los productos cuyos efectos se han venido estudiando como agente protector para así evitar los efectos negativos de las vibriosis en la producción de camarón, los ensayos demuestran controlar las enfermedades, mejoran la sobrevivencia, aportan a la conversión alimenticia. (Anangonó, 2014).

Con los antecedentes expuestos, el presente trabajo tiene los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General.

- Valorar los efectos antimicrobianos de los ácidos orgánicos en las cargas bacterianas de *Vibrios* spp. potencial patógeno en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) como opción al uso de antibióticos en acuicultura.

1.1.2 Objetivos Específicos.

- Determinar el efecto antimicrobiano de dos tipos de ácidos orgánicos frente a *Vibrio parahaemolyticus* AHPND e identificar el poder inhibitorio entre los ácidos.
- Utilizar dos ácidos orgánicos para evaluar la carga bacteriana de *Vibrios parahaemolyticus* en el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).
- Evaluar costo de producción del proyecto.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

A nivel mundial el cultivo de camarones logró casi 4 millones de toneladas en 2020, con un crecimiento promedio del 3 al 5 por ciento en relación con el 2019, los principales países productores son Asia, China, Indonesia, Taiwán, Vietnam entre otros, su producto es considerado de menor calidad que el ecuatoriano por la aplicación de antibióticos en la producción de camarón. Tailandia es un importante competidor camaronero para Ecuador, que busca acuerdo comercial con la Unión Europea (James y Valderrama, 2020), (Domínguez, 2019).

En Ecuador actualmente existen alrededor de 210 000 hectáreas dedicadas al cultivo de camarón; el 60 % está en Guayas, 15 % en El Oro, el 9 % en Esmeraldas, 9 % en Manabí y 7 % en Santa Elena. El camarón ecuatoriano se lo considera destacado producto de consumo, con importantes características en las etapas de siembra, en el crecimiento, en su desarrollo y cosecha. Mostrando alta calidad y trazabilidad, ubicando a Ecuador a nivel mundial en segundo puesto, en producción y exportación de camarón [(Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, 2020) (Caicedo, 2018)].

Últimamente, ha surgido una vibriosis denominada Síndrome de Mortalidad Temprana o Síndrome de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (EMS/AHPNS, por sus siglas en inglés), afectando las producciones. Fue reportado durante el año 2009 en camarones juveniles cultivados en China en las especies *Penaeus monodon* y *Litopenaeus vannamei*. La transmisión de estas enfermedades de origen patógeno es reincidente en el sector productivo acuícola, perturbando negativamente sobre los costos de inversión en la producción. Estos ataques infecciones son causadas por microorganismos patógenos como el *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* siendo los vibriones patógenos más trascendentales (Lightner et al., 2012) (Balakrish Nair y Hormazábal Opazo, 2005).

2.2 Acuicultura en Ecuador

Ecuador es un país exportador de bienes agropecuarios en el mundo, lo cual ha tenido un reconocimiento internacional debido a la calidad de sus productos. Entre estos bienes está el sector camaronero, que ha tenido un considerable crecimiento, lo ha permitido identificar territorios en las exportaciones para la creación de nuevas formas de empleo. La producción camaronera representa el desarrollo económico importante en Ecuador (Ullsco, et al., 2021).

Ecuador representa la mitad del abastecimiento de camarón en el hemisferio occidental. Ecuador lleva produciendo productos acuícolas alrededor de cinco décadas, siendo uno de los principales sectores económicos, ya que más del 40 % de las exportaciones representan la producción camaronera (Gonzabay et al., 2021).

2.3 Generalidades del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

La especie *Litopenaeus vannamei* fue definido por Lee Boone en el año 1931 como artrópodo mandibulado, con caparazón, antenas y branquias. Se localiza en el Pacífico, desde México (Sonora) hasta Perú (Tumbes), se ubica en sistemas estuarinos lagunares, y en fondos arcillosos (5 - 72 m). Presentan rostro alargado con dientes ventrales (8 - 9), anténulas, pedúnculos oculares, cuerpo lateralmente comprimido y caparazón. El cuerpo consta de: cefalotórax, abdomen y telson. El cefalotórax está conformado de mandíbulas, antenas y anténulas; el abdomen posee 6 segmentos contando con 6 pares de pleópodos; el telson posee urópodos, los cuales sirven para la natación (Velázquez, 2016).

Habita en ambientes marinos tropicales, los adultos viven y desovan en el mar, las larvas y juveniles viven en zonas costeras como estuarios, manglares o lagunas. El crecimiento de las hembras es mayor que el de los machos; una hembra madura puede pesar de 30 a 45 g y puede desovar entre 100.000 y 250.000 huevos (Dugassa y Gaetan, 2018).

Los *Penaeus vannamei* hembras desovan mar adentro, la eclosión de sus huevos se da después del desove y fecundación, liberando nauplios, siendo la primera fase larvaria. Se alimentan de las reservas del saco vitelino del huevo, durante la metamorfosis desarrollan los siguientes periodos larvales: zoea, mysis y postlarva. En zoea, su alimentación es de fitoplancton, en mysis y en los primeros estadios postlarvales se nutren de zooplancton (Dugassa y Gaetan, 2018).

2.4 Taxonomía

Dugassa y Gaetan (2018), indican que el *Litopenaeus vannamei* corresponde al filo Arthropoda, por sus característicos apéndices unidos, y por poseer una cutícula o exoesqueleto que se desprende por periodos (muda). Descripción de la clasificación taxonómica según varios autores:

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Litopenaeus vannamei*.

Dominio	Eucariota
Reino	Animal
Filo	Arthropoda
Subfilo	Crustacea
Clase	Malacostraca
Subclase	Eumalacostraca
Superorden	Eucarida
Orden	Decápoda
Suborden	Dendrobranchiata
Superfamilia	Penaeoidea
Familia	Penaeidae
Género	Penaeus
Especie	<i>Penaeus vannamei</i>

Fuente: Dugassa y Gaetan (2018)

Elaborado por: La autora

2.5 Tracto digestivo del camarón

El tracto digestivo de los camarones está formado por 1) intestino proximal, donde localiza al estómago y donde se realiza la masticación; 2) hepatopáncreas libera enzimas digestivas y asimila nutrientes, metaboliza los carbohidratos y lípidos; 3) intestino distal, es una estructura tubular en la parte superior del organismo, que en el ano. La actividad enzimática proviene del hepatopáncreas o de otras fuentes, lo que permite el desarrollo digestivo antes que el alimento finalice en el intestino (Garibay et al., 2020).

Las proteobacterias presente en la microbiota intestinal de los invertebrados acuáticos, predominan en los crustáceos. Por su morfología, fisiología y genética, se constituyen en las bacterias Gram negativas, la mayoría anaerobias. Las bacterias influyentes en el intestino del camarón *P. monodon* y *L. vannamei* son de la clase Gammaproteobacterias, siendo el grupo más representativo del filo (Holt et al., 2021).

2.5.1 Factores que afectan el microbiota intestinal del camarón.

Los componentes que afectan la estructura del microbiota intestinal son tanto exógenos como endógenos. Actualmente se ha comprobado que los factores exógenos lo determinan la salinidad, las dietas, la temperatura del agua y la concentración de sulfuros en el fondo de los criaderos, siendo los dos últimos los más significativos (Li et al., 2019) (Chen y He, 2019).

Estudios indican que en el microbiota intestinal actúan aspectos de la salud del crustáceo, como el crecimiento, alimentación, metabolismo, reproducción, protección ante agentes patógenos, inmunidad y envejecimiento, es decir, las bacterias intestinales son de importancia vital. Los procesos biológicos y funcionales modifican los cambios que se producen en la comunidad intestinal (Cheng et al., 2021).

Los factores endógenos reportan: el estado de salud y la etapa de progreso del camarón. La entidad bacteriana intestinal de los peneidos varía según su desarrollo y su edad. La disposición de bacterias intestinales en camarones post-larvas de 14 días y juveniles de uno y dos meses se reduce a un 70 %. Cuando llegan a la edad adulta de tres meses puede desarrollar en un 75 %, teniendo relación con las dietas aportadas (Li et al., 2018).

2.6 Sistema inmune del camarón

Los camarones no poseen un sistema linfático; el fluido corporal es el principal sistema de transporte, la hemolinfa. La sangre de los peneidos se constituye de agua, células, proteínas y sales inorgánicas disueltas (Roy et al., 2020). Los camarones penden de un sistema inmunitario esencial para protegerse de los patógenos siendo los hemocitos células que cumplen un rol

notable como clave en el sistema inmunitario de los camarones (Fajardo et al., 2021).

Para contrarrestar las enfermedades infecciosas, los camarones confían exclusivamente en las respuestas inmunitarias innatas, que tienen como especialidad ser rápidas, sin un impulso de una memoria inmunológica (Norouzitallab et al., 2019). El sistema inmunológico de los peneidos colabora en el reconocimiento de moléculas extrañas, debido a la movilización de distintas moléculas y células iniciando la neutralización. (Kulkarni et al., 2020).

La fagocitosis es el aparato de defensa celular en camarones. Esta acción la cumplen los semi y granulocitos, con la afectación de ingestión, quimiotaxis, adherencia, destrucción y exocitosis de patógenos. Por ejemplo, las enzimas lisosómicas, actúan en la degradación de polisacáridos, bacterias Gram negativas, como *Vibrios* spp. (Amatul et al., 2020).

El exoesqueleto del camarón forma parte de la línea principal de defensa que logra interceptar la combinación y penetración de patógenos. Asimismo, el revestimiento quitinoso conocida como membrana peritrófica, se encarga de proteger el epitelio intestinal de los patógenos que pueden ingresar por vía oral (Kulkarni et al., 2020).

2.7 Agentes patógenos de interés en el cultivo de camarón

La finalidad de la acuicultura en el cultivo de camarón blanco se centra en optimizar el manejo de las técnicas de producción, considerando la relación de la flora bacteriana en todo el ciclo de cultivo de estos organismos. Las condiciones de sanidad óptimas asociadas pueden resultar positivas, y si no mantienen las condiciones naturales, la propagación de las bacterias producirá una alta mortalidad (Reyes, 2021).

En los cultivos de camarón se ocasionan ambientes artificiales que facilitan la adaptación, selección y crecimiento combinado de bacterias. Estas asociaciones bacterianas no tienen riesgo para los organismos en cultivo, a menos que estén débiles, estresados o inmunodeprimidos (Carrillo, 2017).

Las bacterias cumplen un rol importante en los ambientes marinos y dulceacuícolas, debido a que la propagación de las mismas puede llegar a asumir efectos positivos o forjar efectos negativos como enfermedades en los cultivos de camarón. Sin embargo, hay diferentes tipos de asociaciones simbióticas en las colectividades bacterianas que se forman en la columna de agua y sustratos (Reyes, 2021).

En la fase de engorde las enfermedades más infecciosas y letales son la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) y la de las heces blancas (WFD), esta última se identifica por la presencia de hilos fecales de color blanco flotando en el agua del cultivo, y se presenta después de los 50 días de cultivo, y como resultado un crecimiento lento de los organismos, cosechas poco productivas, y altas mortalidades. La efectividad de los servicios terapéuticos aporta un rol fundamental en el control de las enfermedades acuícolas (Alfiansah et al., 2020).

2.8 Género *Vibrio*

Vibrio spp, género de bacterias Gram negativas, son microorganismos anaerobios facultativos, fermentadores, no entéricos, y catalasas positivas, con forma curvada o recta junto con flagelo polar para su movimiento. La mayoría de las especies poseen la habilidad de fermentar glucosa a través de la producción de ácido y oxidasa positivo (Sánchez, 2018).

Estas bacterias se distribuyen en los ambientes acuáticos en los marinos y en los estuarios, conviven con los animales de cultivo, ya que colonizan las branquias, la cutícula y el tracto digestivo. Cuando el sistema inmune del camarón se halla suprimido se convierten en patógenos oportunistas, donde sus brotes se dan cuando los parámetros ambientales están en desbalance permitiendo la propagación de bacterias, las mismas que son toleradas a niveles bajos de hemolinfa, o cuando las barreras de defensa del hospedero han sido invadidas por las bacterias (Peña y Cuéllar, 2019).

Según Holt et al (2021), hay vibrios que generan enzimas quitinolíticas lo cual permite su predominancia en medios ricos en quitina como el intestino de los peneidos, creandose un nicho. No obstante, la acción enzimática de algunos vibrios causan efectos negativos en el exoesqueleto y en la salud animal, presentandose necrosis en la cola y enfermedad roja.

El *Vibrio* spp. es uno de los patógenos bacterianos de mayor relevancia en los cultivos de camarón, considerados los responsables de numerosas enfermedades, produciendo mortalidades de hasta un 100 % a causada por la Vibriosis (Valenzuela et al., 2020). Sin embargo, no todos los géneros de Vibrios incorporan microorganismos patógenos, ya que componen parte del microbiota intestinal de los camarones. Los causantes de enfermedades en la etapa larval y engorde resaltan *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, y *V. vulnificus* (Reyes, 2018).

Una particularidad de los vibrios se activa, cuando los parámetros ambientales del agua, como la salinidad, pH, temperatura, y los nutrientes, pueden determinar la presencia como tal de los vibrios en la columna de agua, debiéndose a que algunas variedades de vibrios son estacionales, pudiendo estar activos comúnmente en verano, con temperaturas cálidas y las precipitaciones mínimas; y en la temporada de invierno, las bacterias no se pueden cultivar con facilidad (de Souza y Wan, 2021).

2.8.1 Vibriosis.

Los crustáceos son propensos a la presencia de la vibriosis durante su ciclo de vida, especialmente en sus primeras etapas de vida, es decir, desde la fase larvaria hasta que son juveniles. Por otra parte, en el caso de camarones juveniles, se puede decir que su microbiota intestinal está ajustado luego de la metamorfosis de postlarva (de Souza y Wan, 2021).

Los signos clínicos que muestran los camarones enfermos por *Vibrio* spp. Son enrojecimiento del cuerpo, branquias rojizas o marrones, baja ingesta de alimento, hipoxia, nado errático en la superficie y bordes de las piscinas. Lesiones ubicadas en la cutícula, branquias y apéndices de color

negro o marrón típicas de la enfermedad bacteriana en el caparazón; se aprecia una musculatura blanda, pérdidas de partes, infecciones en el hepatopáncreas o intestino, inclusive una septicemia extendida (Peña y Cuéllar, 2019).

Enfermedad que ha generado cuantiosas pérdidas económicas en el cultivo de camarón es la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), llamada también síndrome de mortalidad temprana (EMS). En el 2009 se identificó en China, extendiéndose principalmente a Asia y Sudamérica, siendo las cepas de *V. parahaemolyticus* los causantes de AHPND, ya que contienen un plásmido que puede expresar los genes de toxinas. Las cepas pueden colonizar el estómago para invadir la hepatopáncreas del camarón (Imaizumi et al., 2021).

Las pérdidas económicas en el cultivo de camarón se deben especialmente a causa de la vibriosis, la cual es una enfermedad producida por vibrios que mata al camarón originado por la infección bacteriana. Por lo tanto, la industria camaronera ha incluido diferentes estrategias para tener control sobre la vibriosis, mediante el uso de antibióticos y probióticos para neutralizar los agentes patógenos tanto en camarones como en peces (Valenzuela et al., 2020).

2.9 Terapéuticos

2.9.1 Uso de antibióticos en acuicultura.

Para neutralizar las enfermedades ocasionadas por bacterias en el sector acuícola, se ha implementado el uso de antibióticos sobre todo en países asiáticos. El uso descontrolado de una variedad de antibióticos en los criaderos acuícolas ha acarreado el incremento sobre la salud humana y principalmente en el ambiente acuático (Silva et al., 2021).

Según Arenas y Moreno (2018), el uso descomunal y la inexperiencia en el uso de los antibióticos en la acuicultura, origina que los productores empleen dosis altas de los índices determinados, lo cual crea resistencia microbiana, llegando a librar un impacto ambiental en el medio circundante.

La resistencia a los antibióticos se da cuando los patógenos pueden transferir horizontalmente sus genes resistentes a los plásmidos y a otras bacterias (El-Saadony et al., 2021).

Como tratamiento contra la vibriosis se emplean antibióticos como el florfenicol, enrofloxacin, oxitetraciclina, y en ocasiones norfloxacin; estos antibióticos son aplicados de manera inapropiada, sin efectuar análisis previos de sensibilidad antibiótica, dosis exageradas, pudiendo ser utilizados como protector, generando la llamada resistencia bacteriana (Aguirre et al., 2021).

2.9.2 Uso de probióticos en acuicultura.

Los probióticos son microorganismos que suplementados modifican el microbiota intestinal del hospedero, proporcionan beneficios en su fisiología mejorando su salud, y mejora la calidad del agua y sedimentos (Reyes, 2018).

Los *Bacillus* son una de las especies especialmente utilizadas en los cultivos acuícolas en la formulación comercial de alimentos, por su capacidad de generar elementos inhibitorios y enzimas, y por la facilidad de incluirlos en los alimentos por lo que sus esporas les conceden una mayor resistencia. Se conoce que en el *L. vannamei* produce manchas opacas en la cutícula, reducen el apetito, una tonalidad azul blanquecina, músculos pálidos, necrosis y mortandad producida por el uso de *B. cereus*, Hay que considerar el tipo de bacteria aplicar en el medio (Vieira, et al., 2017).

2.9.3 Uso de ácidos orgánicos en la acuicultura.

Otras alternativas para neutralizar las enfermedades bacterianas son los ácidos orgánicos. Poseen acciones antimicrobianas que se fija a la reducción del pH. Su principal función se debe a la capacidad no disociada de propagarse libre a través de la membrana celular de los microorganismos hacia el citoplasma (González, 2014).

La combinación de diferentes ácidos orgánicos nos ayuda a corregir la salud digestiva potenciando los efectos antibacterianos en los animales. El uso de estos compuestos mejora su resistencia inmune mejorando su crecimiento y reduciendo la mortalidad, redundando efectivamente en los parámetros de producción. El tipo y la concentración correcta de ácidos orgánicos mejora la inmunidad impartiendo propiedades preventivas a la hepatopáncreas del camarón por una vibriosis (Díaz, 2020).

2.10 Los ácidos orgánicos, ¿Qué son?

Son sustancias orgánicas con varios conjuntos carboxílicos. Envuelven ácidos monocarboxílicos complejos en cadena lineal (C1 - C18) y derivados, tales como ácidos insaturados (sorbico, cinámico), hidroxílico (láctico, cítrico), fenólico (cinámico, salicílico) y multicarboxílico (azelaico, succínico) con estructura molecular R - COOH, donde R revela el conjunto monovalente. Estas sustancias se denominan ácidos volátiles, ácidos orgánicos con cadena corta, o ácidos débiles (Ng W, 2016).

Comúnmente se los conocen como ácidos orgánicos de cadena corta, ácidos volátiles o ácidos carboxílicos débiles, que comprenden grupos carboxilo, los cuales se dividen de la combinación de grupos funcionales dentro de un átomo de carbono: grupo hidroxilo y grupo carbonilo. Conservan carácter ácido conocidos como ácidos carboxílicos (Reyes, 2014).

Generalmente los ácidos orgánicos de cadena corta son los más comunes, son aquellos que cuentan con un pequeño número de carbonos (C1 - C6), entre ellos constan los ácidos láctico, fórmico, cítrico, propiónico y sus sales (Kabir et al., 2021). Durante décadas los ácidos orgánicos se han usado como recurso, debido a las propiedades antimicrobianas que poseen, así como su capacidad de mejorar el crecimiento y la resistencia a enfermedades de organismos acuáticos. Su modo de empleo es adicionándolos a los alimentos, como conservantes (Mahmoud y Shunsuke, 2017).

Su acción envuelve la reducción de pH de la digesta, desarrollo de la integridad intestinal, estimulando las enzimas digestivas y el control de las

comunidades microbianas intestinales; su virtud ante los microorganismos se relaciona con el valor de pKa, siendo este el valor del pH en que se puede disociar el 50 % del ácido. La diferenciación de pKa de los ácidos orgánicos va desde 3.02 hasta 6.4 para el ácido fumárico y cítrico individualmente (Kabir et al., 2021).

Los ácidos orgánicos se pueden utilizar como promotores del crecimiento en la acuicultura, su aporte a través de los alimentos acuícolas determina la prohibición del uso de antibióticos y permite actuar como promotores del crecimiento en la producción (Correa, et al., 2012).

2.10.1 Ácido cítrico.

Los ácidos cítricos considerados aditivos y son sintetizados en laboratorio, así como también de la naturaleza. Estos ácidos se ubican habitualmente en todos los tejidos animales como vegetales. Se presentan en la ácidos de las frutas tales como la naranja, naranjilla, piña, toronja, limón, entre otros (Cedeño y Mendoza, 2020).

En la acuicultura se emplea como aditivos para potenciar el beneficio que estos poseen, por ejemplo, los ácidos cítricos pueden mezclarse con otros agregados similares o extractos naturales, mejorando la calidad de los conservantes en los camarones. Tienen acción positiva en la inhibición del crecimiento de microorganismos, la oxidación de proteínas y lípidos (Zhang et al., 2021).

2.10.2 Ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es un gran nutriente con enorme importancia, se lo usa como medio terapéutico, el cual actúa a nivel intracelular. Es un excelente agente reductor, donde uno de sus bienes es neutralizar los compuestos reactivos del oxígeno, como el peróxido de hidrogeno que puede llegar a deteriorar las membranas de los camarones y los peces (Cedeño y Mendoza, 2020). En la acuicultura la carencia de vitamina C puede causar la pérdida de apetito en camarones, causando una tolerancia al estrés menor, así como una

disminución de las mudas causando altas mortalidades. El ácido ascórbico en las post-larvas de camarones acrecienta la resistencia de infecciones bacterianas y situaciones de estrés (Cabrera, 2018).

Los compuestos de bajo peso molecular como los ácidos ascórbicos (Vitamina A o C), al ser combinados y empleados con aditivos mejoran la actividad enzimática antioxidante, mejorando la resistencia en peneidos, previniéndolos de enfermedades causadas por géneros *Vibrios* spp. como el virus de la mancha blanca, También poseen efecto antioxidante minimizando los daños causados por productos oxidativos, incluyéndose los radicales libres (Poom, 2018).

2.10.3 Ácido Acético.

El ácido acético generalmente conocido como vinagre, se obtiene mediante una fermentación doble (alcohólica y acética) de una sustancia que contiene almidones y azúcares, dando como resultado una solución acuosa. En la industria alimenticia este ácido es usado, ya que evita la proliferación de organismos patógenos (Cedeño y Mendoza, 2020).

2.10.4 Ácido fumárico.

Es un ácido orgánico débil de cuatro carbonos ($C_4H_4O_4$), es constante a temperatura ambiente, inodoro, no tóxico, soluble en agua, encontrándose naturalmente en plantas y hongos. Al ingerirse por vía oral o producirse en el ciclo del ácido cítrico actúa en la producción de ATP, otra característica es su acción antimicrobiana debido a su participación lipofílica y a su alta disociación (pKa), ya que al cruzar la membrana celular bacteriana y disminuir el pH del citoplasma perturba el metabolismo de las bacterias y sus acciones enzimáticas, impidiendo su progreso e incitando a la muerte de la célula. (das Neves et al., 2021).

2.10.5 Ácido propiónico.

El ácido propiónico es ácido orgánico que es usado como fungicida, conservante y agente microbiano. Este ácido es uno de los compuestos que se pueden considerar seguros, una de las ventajas es que este ácido puede

ayudarnos a mejorar el crecimiento de los camarones. Otra ventaja es que estos compuestos poseen la restricción del crecimiento de bacterias, las cuales se pueden llegar a trascender a través de la pared celular de las bacterias Gram negativas. El ácido propiónico actúa como estimulante de los efectos inhibitorios en el crecimiento *V. harveyi* en el camarón (Pourmozaffar et al., 2017).

2.10.6 Ácidos orgánicos como aditivos nutricionales en los alimentos.

Dentro de los alimentos consignados a la producción de camarones es importante la inocuidad y calidad para compensar y garantizar el desarrollo de los camarones. Las bacterias, hongos y levaduras pueden alcanzar a expandirse en el alimento acumulado cuando los factores ambientales como la temperatura y la humedad se hallen elevados. Los ácidos orgánicos pueden usarse en los ensilados de pescado, optimizando la digestibilidad de las proteínas a causa de la bajada del pH, desnaturalizándose y aumentando la acción enzimática (Reyes, 2014).

Los ácidos orgánicos se han comenzado a utilizar en la acuicultura como aditivos alimenticios, para optimizar la inmunidad, crecimiento, rendimiento y digestibilidad de nutrientes en las especies acuáticas. Estos componentes orgánicos al disminuir el pH del ambiente gastrointestinal del camarón, desarrolla la capacidad de absorción de los nutrientes digestivos, lo que permite mejorar el desarrollo del animal. La inclusión de ácidos orgánicos en el organismo de los camarones aumenta la digestibilidad de la proteína seca y energía, lo que resulta en mejoras de ganancia de peso (Duan et al., 2018).

Kirchgessner y Roth (1988), citan diferentes mecanismos de acción de los AO, entre ellos:

- Disminución del pH y capacidad preventiva, así como los efectos antibacterianos y antifúngicos en el alimento.

- Reducción del valor de pH por liberación de iones de hidrógeno en el estómago, activando el pepsinógeno que se convierte en pepsina mejorando la digestibilidad proteica.
- Modulación del microbiota en el tracto gastrointestinal (TGI).

Los acidificantes presentan propiedades bactericidas y bacteriostáticas según el nivel de introducción en la dieta, además de efecto antifúngico mantiene la higiene de los balanceados. El *Aspergillus flavus* es un moho contaminante de los balanceados con aflatoxinas deteriorando el estado de salud de los animales. El uso de acidificantes al 0.25 - 1 % minimiza el pH en los balanceados, inhibiendo el desarrollo de patógenos, conservando la profilaxis y calidad de los (et al., 2020).

Tabla 2. Ácidos orgánicos y sus efectos en la nutrición animal.

SITIOS DE ACCIÓN	EFECTOS	FORMA EFECTIVA
Tracto intestinal	Aumento de la actividad de pepsina Reducción del pH de estómago y duodeno	H ⁺
	Cambios en las concentraciones de microbiota	
Metabolismo	Disponibilidad de cationes (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Fe ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺)	Anión
	H ⁺ y Anión	Efecto antimicrobiano
Dieta	Reducción pH Reducción del crecimiento microbiano	H ⁺
	Desnaturalización de proteínas Efecto antimicrobiano	H ⁺ y Anión

Fuente: Reyes, 2014

Elaborado por: La autora

2.10.7 Inhibición de bacterias patógenas.

Cada microorganismo cuenta con un pH óptimo en el que puede desarrollarse, y un valor de pH donde les resulta imposible progresar, puesto que el pH intracelular debe estar cercano a la neutralidad, incluso el de los microorganismos acidófilos. Los ácidos orgánicos actúan sobre microorganismos de dos formas indistintas, aunque se encuentren relacionadas. La primera el efecto antimicrobiano correspondiente a la acidez por acción de la reducción del pH extracelular. La segunda, es el efecto antimicrobiano a causa de la forma no disociada del ácido (Anangonó, 2014).

Las bacterias patógenas tienen poder de inhibición efectiva mediante la adición de ácidos orgánicos, como las Gram negativas, al reducir el pH en su medio. Su acción se activa al entrar a la pared celular y liberar protones en el citoplasma, provocando un desequilibrio del pH en la célula. Para mantener el equilibrio comienza a gastar grandes cantidades de ATP y así extrae los protones de la célula. El consumo de ATP crea una depleción energética que determina la muerte celular. Al reducir el pH intracelular, los ácidos orgánicos poseen la capacidad de formar complejos minerales quelantes, ante todo el hierro, impidiendo los micronutrientes y reduciendo el progreso de otros microorganismos (Vieira et al., 2017).

En investigaciones mencionadas por Li et al (2018), se han analizado diferentes dosis de butirato y propionato como aditivos en los alimentos de peneidos, donde se ha utilizado concentraciones de 0.5 %, 1 % o 2 % de cada sal.

Dentro de las investigaciones citadas por Ng y Koh (2016), reportan la supervivencia, la actividad enzimática, la respuesta inmune y la tolerancia a la vibriosis en el camarón blanco, recomienda una suplementación de ácido cítrico de 2-3 g kg⁻¹. Así mismo la adición de butirato favorece el microbiota intestinal de los camarones, obteniendo mejor rendimiento en el crecimiento.

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación de la investigación

La investigación se llevó a cabo en la Camaronera Pitahaya ubicada el Sector estero Hondo del cantón Arenillas de la Provincia de El Oro, entre las siguientes coordenadas -3.398061, -80.112150.

Figura 1. Ubicación de la investigación: Sector Estero Hondo, Cantón Arenillas, provincia de El Oro



Fuente. Google Heart

3.2 Duración del proyecto

El trabajo de investigación contó con una duración de setenta días, empezando con cinco días previos para el arreglo de materiales limpieza y desinfección, cincuenta días a realizar la investigación, campo y aplicación de la metodología.

3.3 Materiales y equipos

3.2.1 Materiales.

- Ácidos orgánicos
- Balanceado comercial
- Acuarios
- Camarones post larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).
- Placas petri
- Tubos de ensayo
- Mechero

3.2.2 Equipos.

- Medidor de pH y temperatura
- Estufa
- Aireadores

3.3.3 Sustancias.

- Aglutinantes melaza
- Medio de cultivo
- Probióticos
- Agua salobre
- Agua destilada

3.4 Metodología

Para el desarrollo de la siguiente investigación se realizó un ensayo para comprobar los efectos de los ácidos orgánicos en las cargas bacterianas de *Vibrios* spp. en el camarón.

3.5 Toma de muestras

Para realizar esta investigación se obtuvieron 480 ejemplares de la camaronera "PITAHAYA" con un peso aproximado de 0.8 g los cuales fueron recolectados y llevados a proceso de adaptación.

3.4.1 Proceso de aclimatación de los juveniles.

El proceso de aclimatación se realizó durante un periodo de cuatro horas para evitar el estrés y mortalidad de los ejemplares a causa de la adaptación a las nuevas condiciones fisicoquímicas.

3.4.2 Preparación y manejo de unidades experimentales.

La actividad inhibitoria en el desarrollo de *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND⁺) será evaluada por la determinación de la concentración.

Durante el proceso de investigación se manejaron 2 unidades experimentales o tratamientos con, 3 réplicas para cada ácido orgánico (T1 y T2), más un control (T0) para cada caso. En cada una de las unidades experimentales se colocó 30 juveniles de *L. vannamei* procedentes de la unidad de aclimatación, con un volumen de agua 20 litros.

3.4.3 Preparación del alimento.

Para realizar las dietas correspondientes se emplearon 2 ácidos orgánicos diferentes. El alimento que se utilizó contenía un 35 % de proteína el mismo que fue mezclado con cada uno de los ácidos orgánicos según las dosis recomendadas y para su aglutinación se utilizó melaza. La dieta suplementada se suministró durante 25 días que duró cada Bioensayo o proceso de investigación.

3.4.4 Supervivencia.

La supervivencia se consideró periódicamente en las dos unidades experimentales y en cada control, cada día se hicieron muestreos durante 25 días, con 3 réplicas cada tratamiento y más los testigos.

3.4.5 Diseño experimental.

Los datos que se obtuvieron fueron en base a la supervivencia de cada tratamiento en función de cada ácido orgánico o tratamiento. Se trabajó en dos Bioensayos con 2 tratamientos y controles cada uno:

- Tratamiento 1 (T1): alimento balanceado con ácido orgánico butírico.
- Tratamiento 2 (T2): alimento balanceado con ácido orgánico acético
- Tratamiento control (T0): alimento balanceado sin la aplicación de ácidos orgánicos.

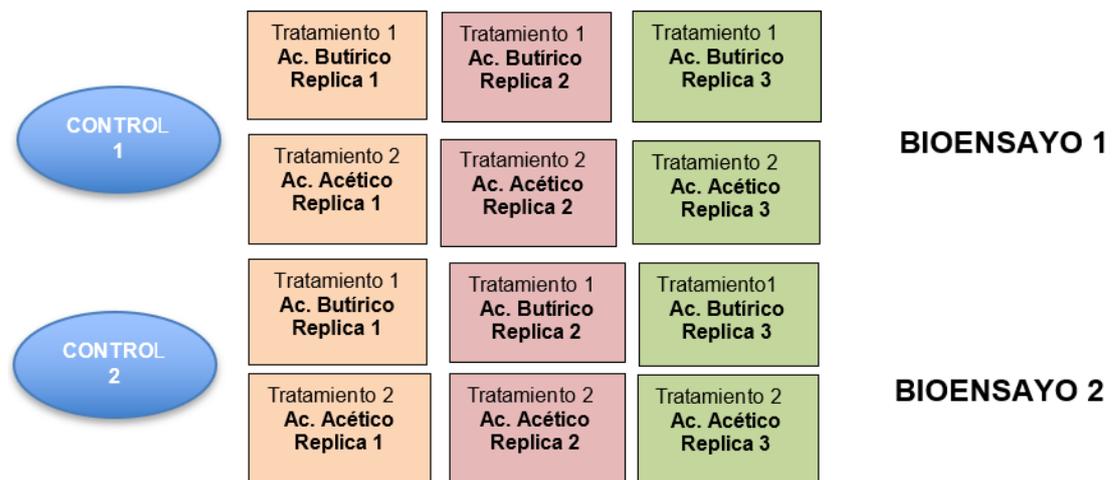


Figura 2. Diseño experimental del proyecto

Elaborado por: La autora

3.6 Variables investigadas

Las variables investigadas fueron la eficiencia de los ácidos orgánicos B y A considerando su eficiencia con relación a la sobrevivencia, entre los ácidos orgánicos y si existiese diferencia entre los tratamientos donde se aplicó.

3.7 Tipo de estudio

Este trabajo de investigación tuvo un enfoque cuantitativo, de tipo experimental.

3.8 Especificaciones de los tratamientos

La unidad de análisis contó con una población de 480 ejemplares (camarones), depositados 30 camarones por cada replica. Los camarones presentaron un peso inicial promedio de 0.8 g con una edad de 15 días. Los camarones se manejaron en dos tratamientos con tres repeticiones diferentes y un testigo o control, durante dos procesos o dos bioensayos.

3.9 Manejo de los camarones en el experimento

Los acuarios o bandejas fueron adaptados para el experimento, con aireadores, recambio de agua considerando los parámetros abióticos necesarios para crear las condiciones en cautiverio "piscina camaronera" Se suministró alimento balanceado al 35 % de proteínas y adicionando los dos tipos de ácidos orgánicos seleccionados para aportarlos como tratamientos, alimentando los camarones en tres frecuencias diarias: 07h:30; 13h:00; 18h:00.

Los dos bioensayos se desarrollaron desde el 23 de mayo 2023 hasta el 23 de julio respectivamente en el presente año, en las instalaciones de la camaronera Pitahaya ubicada el Sector estero Hondo del cantón Arenillas de la provincia de El Oro. Se seleccionaron 480 camarones del pre criadero,

aislándolos para la investigación en las que se aplicaron los procedimientos rutinarios de manejo y la única variable fue la adición de los ácidos orgánicos independientemente a través del alimento balanceado. El alimento balanceado se adhirió utilizando melaza como aglutinante. Los ácidos orgánicos se aplicaron a los camarones al peso promedio de 0.8 g a través de la dieta balanceada durante 25 días por prueba, las cuales fueron sugeridas por el profesor.

Estas dos aplicaciones se llevaron a cabo con el fin de contrarrestar los “eventos susceptibilidad a enfermedades” que suelen darse en la camaronera generalmente en esas etapas.

3.10 Parámetros considerados para su medición

El registro de datos se dio inmediatamente a partir de la selección de las muestras (camarones), calidad de agua, la salinidad promedio fue de 30 ppt, las temperaturas variaron entre 27.7 y 28.3°C y el oxígeno disuelto promedio fue de 10.32 ppm por el uso de aireadores

3.11 Lectura de frecuencia de muestreos

La lectura se realizó a diario. En horarios de 07h:30; y 18h:00 horas.

3.12 Análisis estadístico y diseño experimental

El análisis de datos se desarrolló con un análisis de test ANOVA de un factor, para los dos bioensayos de manera independientemente, el modelo fue implementado el software estadístico SPSS 25, versión para estudiantes; los factores experimentales a probar fueron la aplicación de los ácidos butírico y acético, junto a un control, para ambos casos, el nivel de confianza seleccionado para la prueba fue del 95 %, asumiendo un error alfa del 5 %.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3 muestra un resumen de los descriptivos del diseño experimental para el bioensayo 1, la sobrevivencia promedio de los camarones del grupo control fue de 0.6933, con una desviación estándar de 0.787, los resultados para los dos grupos experimentales se pueden apreciar en la misma tabla.

Tabla 3. Descriptivos del Diseño Experimental Bioensayo 1

Descriptivos							
SOBREVIVENCIA ENTRE TRATAMIENTOS							
N	Media sobrevivencia	Std. Deviation	Std. Error	Intervalo de confianza del 95% para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		

Control	15	.6933	.78692	.2031	.2576	1.1291	.00	1.80
Ácido Butírico	15	1.4927	.44363	.1145	1.2470	1.7383	.53	2.20
Ácido Acético	15	1.4473	.38771	.1001	1.2326	1.6620	.60	2.03
Total	45	1.2111	.66703	.0994	1.0107	1.4115	.00	2.20

Elaborado por: La Autora

La Tabla 4 indica que se cumplieron los supuestos para la prueba paramétrica ANOVA del bioensayo 1, el test resultó significativo con p valor de 0.00, por lo que se acepta la hipótesis alternativa y concluimos que los tratamientos combinados con ácido butírico y ácido acético en la dieta del camarón no experimentan diferencias significativas.

Tabla 4. ANOVA del Bioensayo 1

ANOVA BIOENSAYO 1					
SOBREVIVENCIA					
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Entre grupos	6.048	2	3.024	9.387	.000
Dentro de grupos	13.529	42	.322		
Total	19.577	44			

Elaborado por: La Autora

En la Tabla 5, se combinó las pruebas post hoc de Tukey, Bonferroni, que confirman las diferencias encontradas por el test ANOVA entre el grupo de control y los tratamientos con ácidos butírico y acético, con p valores de 0.001 y 0.002, respectivamente, las pruebas post hoc no detectaron diferencias entre los dos grupos experimentales o Bioensayos, por lo que se concluye que en ambos casos la variable independiente influye significativamente sobre la variable dependiente es decir la sobrevivencia de los camarones.

Tabla 5. Comparaciones Múltiples entre los Bioensayo 1 y Bioensayo 2
Comparaciones múltiples mayor eficiencia entre los ácidos Butírico y Acético

Variable dependiente: SOBREVIVENCIA							
	(I) Tratamiento s Bio Ensayo 1	(J) Tratamiento s Bio Ensayo 2	Diferencia significativa (I-J)	Std. Error	Sig.	Intervalo de confianza del 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Tukey HSD	Control	Ácido Butírico	-.79933*	.20724	.001	-1.3028	-.2958

		Ácido Acético	-.75400*	.20724	.002	-1.2575	-.2505
	Ácido Butírico	Control	.79933*	.20724	.001	.2958	1.3028
		Ácido Acético	.04533	.20724	.974	-.4582	.5488
	Ácido Acético	Control	.75400*	.20724	.002	.2505	1.2575
		Ácido Butírico	-.04533	.20724	.974	-.5488	.4582
Bonferro ni	Control	Ácido Butírico	-.79933*	.20724	.001	-1.3161	-.2825
		Ácido Acético	-.75400*	.20724	.002	-1.2708	-.2372
	Ácido Butírico	Control	.79933*	.20724	.001	.2825	1.3161
		Ácido Acético	.04533	.20724	1.000	-.4715	.5621
	Ácido Acético	Control	.75400*	.20724	.002	.2372	1.2708
		Ácido Butírico	-.04533	.20724	1.000	-.5621	.4715

*. La diferencia media es significativa al nivel de 0,05. Siendo el ácido Butírico el de mayor eficiencia en ambos casos

Elaborado por: La Autora

Los resultados del Bioensayo 2 confirman los resultados del bioensayo 1, la prueba ANOVA tuvo significancia estadística con un p valor de 0.023, confirmando la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los grupos, las pruebas confirman para este bioensayo que no existen diferencias entre los grupos experimentales. Los resultados se pueden corroborar en la tabla 6.

Tabla 6. ANOVA Bioensayo 2

ANOVA BIOENSAYO 2					
SOBREVIVENCIA					
	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Entre grupos	2.650	2	1.325	4.137	.023
Dentro de grupos	13.453	42	.320		
Total	16.102	44			

Elaborado por: La Autora

Las pruebas de comparaciones múltiples establecen diferencias entre el grupo de control y los experimentales, más no entre los tratamientos con ácidos.

Anteriores investigaciones han probado la capacidad antimicrobiana de los ácidos orgánicos, sus sales o composiciones, ante diversas especies

microbianas definidas como patógenos oportunistas en la actividad camaronera y acuícola (Ng et al., 2009; Park et al., 2011).

La aplicación de ácidos orgánicos en el alimento en cultivo de especies acuáticas ha sido tema de investigación. Esta investigación provee una compilación de conocimiento actualizado del uso de ácidos orgánicos en alimentos para camarones, con prioridad en la sobrevivencia, el crecimiento, uso de nutrientes, aporte de minerales, la microbiota intestinal y resistencia a enfermedades. Investigaciones recientes indican el beneficioso impacto de estas sustancias orgánicas en la dieta con impacto en el crecimiento y salud del camarón.

Silva (2021), curiosamente indica que encontraron que la capacidad inhibidora de las sales orgánicas en tres especies de *Vibrio*, incluido *V. harveyi*, fue significativamente menor en comparación con los ácidos butírico y acético. Particularmente los ácidos orgánicos pueden fortalecer la microbiota del camarón. Además, se ha realizado una exploración sobre la comprensión actual y la aplicación de los ácidos orgánicos en los alimentos de especies acuáticas revelando que los efectos favorables sobre la sobrevivencia, crecimiento y la salud de los camarones parecen depender del tipo y calidad de los ácidos orgánicos y condiciones de cultivo según (Ng y Koh 2016).

El complemento de ácidos orgánicos al alimento de camarón blanco aumentó significativamente la resistencia a *V. parahaemolyticus* y sugirió que aumentaba la resistencia a enfermedades por vibriosis fomentando la salud de los camarones (Ng et al. 2015; Romano et al. 2015).

Este estudio comprobó el poder inhibitorio de dos diferentes ácidos orgánicos ante cepas de *V. parahaemolyticus* (AHPND+) que desarrollan la patología denominada Enfermedad de Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) en camarones, la inhibición demostró en cada ácido orgánico.

4.1 Actividad antimicrobiana entre ácidos orgánicos

Este trabajo evaluó el efecto entre ácidos orgánicos con mayor actividad inhibitoria ante las cepas de *V. parahaemolyticus* (AHPND+), obtenidos del

ensayo.

4.1.1 Ácidos orgánicos

Los ácidos butírico y acético mostraron actividad antimicrobiana individualmente. A más de ser estadísticamente distintos ($P < 0.05$) a la media de inhibición identificados los factores y sus niveles que presentan un resultado significativo sobre la variable sobrevivencia, se sujetó el análisis para representar con mayor detalle los resultados, con respecto a controlar la mortalidad por causa de una vibriosis producida en el evento, donde los camarones se sembraron con un peso promedio 0.8 g dentro de los 15 días de la siembra.

La investigación comparada con Da Silva et al (2013), nos proporciona el potencial uso de los ácidos orgánicos como agregados en la alimentación de camarones marinos y su efecto sobre las especies de *Vibrio* (*Vibrio harveyi*, *V. alginolyticus* y *V. anguillarum*) a valores de pH (6.2 y 7.1), la inhibición resultó ser muy buena en los dos casos al utilizar ácidos, cítrico, acético, butírico, y propiónico. Los principales resultados fueron alcanzados con acetato, butirato y propionato de sodio. Resultados similares, son reportados en esta investigación. La capacidad de inhibir el crecimiento de *V. parahaemolyticus* (AHPND+) por efecto de los ácidos butírico y acético a un pH 5.5, resultó ser significativamente alto relacionado con los promedios de sobrevivencia de camarones al final de este proceso.

Tabla 7. Ácido butírico aplicado en alimento para camarones

TRATAMIENTO 1: ÁCIDO BUTÍRICO APLICADO EN ALIMENTO PARA CAMARONES						
T 1 AC. BUTIRICO						
R 1	06,66% M.V.P.	R 2	13,33% V.P.	R 3	06,66% V.P.	
SOBREVIVENCIA		SOBREVIVENCIA		SOBREVIVENCIA		
80 %	13,33% M.O.C.	73,33 %	13,33% SANOS	80 %	13,33% SANOS	
PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA = 77,77%			PROMEDIO DE MORTALIDAD = 22,22%			

Elaborado por: La Autora

Resumen tratamiento 1: Promedio 77.77 % de sobrevivencia

Promedio 8.88 % de mortalidad causada por vibrios

Promedio 13.33 % de mortalidad por otras causas

Tabla 8. Resumen Ácido Acético, tratamiento 2 adicionado al alimento para camarones en Bioensayo N° 1

TRATAMIENTO 2: ÁCIDO ACÉTICO APLICADO EN ALIMENTO PARA CAMARONES					
T 2 AC. ACÉTICO					
R 1	20,00 % M.V.P.	R 2	13,33 % V.P.	R 3	13,33 % V.P.
SOBREVIVENCIA	73,33 %	SOBREVIVENCIA	80,00 %	SOBREVIVENCIA	80 %
	06,66 % M.O.C.		06,66 % SANOS		06,66 % SANOS
PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA = 77,77%			PROMEDIO DE MORTALIDAD = 22,22%		

Resumen tratamiento 2: Promedio 77.77 % de sobrevivencia

Promedio 15.55 % de mortalidad causada por vibrios.

Promedio 06.66 % de mortalidad por otras causas

Tabla 9. Resúmenes promedios de Sobrevivencia entre tratamientos y el control en el Bioensayo N° 1

DISEÑO EXPERIMENTAL BIOENSAYO 1			
Nº	Sobrevivencia \bar{x} CONTROL	Sobrevivencia \bar{x} AC. BUTIRÍCO	Sobrevivencia \bar{x} AC. ACÉTICO
Sobrevivencia \bar{x}	46.67 %	77.77 %	77.77 %

Elaborado por: La Autora

Tabla 10. Resumen Ácido Butírico, tratamiento 1 adicionado al alimento para camarones en Bioensayo N° 2

TRATAMIENTO 1: ÁCIDO BUTÍRICO APLICADO EN ALIMENTO PARA CAMARONES					
T 1 AC. BUTIRICO					
R 1	06,66 % M.V.P.	R 2	13,33 % V.P.	R 3	20,00 % V.P.
SOBREVIVENCIA	80 %	SOBREVIVENCIA	73,33 %	SOBREVIVENCIA	73,33 %
	13,33 % M.O.C.		13,33 % SANOS		06,66 % SANOS
PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA = 75,55 %			PROMEDIO DE MORTALIDAD = 24,43 %		

Elaborado por: La Autora

Resumen tratamiento 1: Promedio 75.55 % de sobrevivencia

Promedio 13.33 % de mortalidad causada por vibrios

Promedio 11.10 % de mortalidad por otras causas

Tabla 11. Resumen Ácido Acético, tratamiento 2 adicionado al alimento para camarones en Bioensayo N° 2

TRATAMIENTO 2: ÁCIDO ACÉTICO APLICADO EN ALIMENTO PARA CAMARONES					
T 2 AC. ACÉTICO					
R 1	20,00 % M.V.P.	R 2	20,00 % V.P.	R 3	13,33 % V.P.
SOBREVIVENCIA		SOBREVIVENCIA		SOBREVIVENCIA	
73,33 %	06,66 % M.O.C.	66,66 %	13,33 % SANOS	73,33 %	13,33 % SANOS
PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA = 71,10 %			PROMEDIO DE MORTALIDAD = 22,22 %		

Elaborado por: La Autora

Resumen tratamiento 2: Promedio 71.10 % de sobrevivencia

Promedio 17.77 % de mortalidad causada por vibrios

Promedio 11.10 % de mortalidad por otras causas

Tabla 12. Resúmenes promedios de Sobrevivencia entre tratamientos y el control en el Bioensayo N° 2

DISEÑO EXPERIMENTAL BIOENSAYO 2			
N°	SOBREVIVENCIA \bar{X} CONTROL	SOBREVIVENCIA \bar{X} AC. BUTIRICO	SOBREVIVENCIA \bar{X} A. ACÉTICO
Sobrevivencia \bar{x}	50.50 %	75.55 %	71.10 %

Elaborado por: La Autora

Tabla 13. Relación costos de productos de tipo orgánico y antibióticos

Producto	Dosis preventiva	Dosis curativa	Costo / Kg
Ácidos orgánicos	2 a 3 g / kg alimento	8 g / kg alimento	\$ 5.50 Kg * N
			\$ 15.00 Kg * E
Antibióticos	Dosis tratamiento 15 g / kg de alimento		\$ 45.00 kg

Elaborado por: La Autora

*N: Producto nacional

*E: Producto extranjero

En la Tabla 13, podemos analizar la diferencia de costos con respecto al uso de ácidos orgánicos; la cual nos permite obtener un producto camarones amigables con el ambiente, sanos sin trazas de elementos nocivos para la salud en el tejido de los camarones; con relación al uso de antibióticos que es

efectivo pero la calidad del camarón varía negativamente por ser sustancias nocivas para la salud a largo plazo en el caso de la salud humana.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Al finalizar este proyecto de investigación, se evaluaron todos los resultados de cada parámetro y se llegó a la conclusión:

- La presente investigación demostró el amplio poder inhibitorio que tienen los ácidos orgánicos; A. Butírico y A. Acético, al inhibir el progreso de las cepas de *V. parahaemolyticus* afines con AHPND⁺ en camarones considerándose un significativo porcentaje de sobrevivencia entre los tratamientos
- Los dos reactivos ácidos presentaron poder inhibitorio antimicrobiana frente a cepas de *Vibrios parahaemolyticus*. Evitando la mortalidad.
- Los valores de concentración inhibitoria (IC) observados en los ácidos orgánicos aplicados apuntan a que estos ácidos imparten poder ante la infección por vibriosis.
- La aplicación de la metodología en este estudio da respuesta para identificar que los ácidos orgánicos butírico y acético presentan propiedades con enorme efecto antimicrobiano positivo.
- El presente trabajo se puede utilizar como referencia en investigaciones futuras cuyo objetivo sea evaluar el efecto antimicrobiano de compuestos orgánicos, alternos como inhibidores de crecimiento de cepas causadas por vibriosis aportando a la salud de los camarones y en consecuencia mantener niveles altos de sobrevivencias

5.2 Recomendaciones

Con base a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se recomienda lo siguiente:

- Se realice evaluación de los múltiples efectos reactivos (antioxidante, metabólica e inmune) en la adición de ácidos orgánicos propuestos en esta investigación como agregados en alimentos balanceados para camarones *L. vannamei*.
- Deben realizarse futuras investigaciones para comprobar y ponderar los compuestos químicos en extractos acéticos con acción antimicrobiana, sobre *Vibrios parahaemolyticus*.
- Se establezca el efecto que induce el uso sinérgico de los ácidos orgánicos sobre la asociación microbiana en los camarones y el entorno de cultivo.
- Se analice la expresión genética de microorganismos patógenos, que nos permita conocer el mecanismo de acción de compuestos orgánicos con acción antimicrobiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Latif, H. M., Yilmaz, E., Dawood, M. A., Ringø, E., Ahmadifar, E., y Yilmaz, S. (2022). Shrimp vibriosis and possible control measures using probiotics, postbiotics, prebiotics, and synbiotics: A review. *Aquaculture*, 551. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737951>
- Aguirre Chanta, L. E., Sánchez-Suárez, H. A., y Ordinola-Zapata, A. (2021). Resistencia antibiótica en *Vibrio* spp aislados de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Alternativas de tratamiento con extractos de *Azadirachta indica* y *Origanum vulgare*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(4).
- Alfiansah, Y. R., Peters, S., Harder, J., Hassenrück, C., y Gärdes, A. (2020). Structure and co-occurrence patterns of bacterial communities associated with white faeces disease outbreaks in Pacific white-leg shrimp *Penaeus vannamei* on aquaculture. *Scientific Reports*, 10(1). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-020-68891-6>
- Amatul-Samahah, M. A., Wan Omar, W. H., Mohd Ikhsan, N. F., Amal Azmai, M. N., Zamri-Saad, M., & Ina-Salwany, M. Y. (2020). Vaccination trials against vibriosis in shrimp: A review. *Aquaculture Reports*, 18.
- Anangonó Lara, C. A. (2014). Eficiencia del uso de ácidos orgánicos en camarón. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Obtenido de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/25104>
- Arenas, N. E., y Moreno Melo, V. (2018). Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infection*, 22(2). doi:<https://doi.org/10.22354/in.v22i2.717>

- Busti, S., Rossi, B., Volpe, E., Ciulli, S., Piva, A., D'Amico, F., Parma, L. (2020). Effects of dietary organic acids and nature identical compounds on growth, immune parameters and gut microbiota of European sea bass. *Scientific Reports*, 10(1, 21321). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78441-9>
- Cabrera Stevens, M. J. (2018). Efecto de alimentos funcionales para camarón blanco (*Penaeus vannamei*) sobre la expresión de genes asociados a la resistencia al virus de la mancha blanca (WSSV) y a una cepa toxigénica de *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND). [Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.]. Obtenido de http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/2832/cabrera_m%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Caicedo, N. (2018). Análisis de Oferta y Demanda del Camaron en la provincia de El Oro y Ecuador en los Últimos Ocho Años. In Universidad Técnica de Machala.
- Carrillo Pineda, V. (2017). Estudio Cuantitativo de la carga bacteriana de vibrios en camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a partir de una infección inducida. Obtenido de <https://biblio.uabcs.mx/tesis/te3906.pdf>
- Cedeño Segovia, D. S., y Mendoza Velásquez, M. M. (2020). Optimización de la calidad sensorial de una conserva de camarón (*Litopenaeus vannamei*) con tres tipos de acidulantes. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí]. Obtenido de https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1855/1/TIC_AI09D.pdf
- Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas. (2020). Consumo Percápita de camarón en América Latina. <http://www.cenaim.espol.edu.ec/>

- Chávez Alcívar, M. D., y Llanos Fernández, K. K. (2015). Estudio de la actividad antibacteriana de diferentes ácidos orgánicos sobre distintas bacterias Gram negativas de importancia en la industria acuícola. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/29554/1/D-76456%20Llanos%20Fern%c3%a1ndez>
- Chen, Y.-H., y He, J.-G. (2019). Effects of environmental stress on shrimp innate immunity and white spot syndrome virus infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 84, 744-755. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.069>
- Cheng, Y., Ge, C., Li, W., y Yao, H. (2021). The Intestinal Bacterial Community and Functional Potential of *Litopenaeus vannamei*. *Microorganisms*, 9(9). Obtenido de <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091793>
- Chuchird, N., y Tirawat Rairat, P. R. (2015). Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *SpringerPlus*, 4(440). doi:<https://doi.org/10.1186/s40064-015-1234-x>
- Correa da Silva, B., do Nascimento Vieira, F., Pedreira Mouriño, J. L., Soltes Ferreira, G., y Quadros Seiffert, W. (2012). Salts of Organic Acids Selection by Multiple Characteristics for Marine Shrimp Nutrition. *Aquaculture*, 384-387, 104-110.
- Da Silva B.C., F.d.N. Viera, J.L. Mouriño, G.S. Ferreira, W.Q. Seiffert. 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. *Aquaculture*. 384-387: 104-110.
- das Neves, S. V., da Silva, S. B., Costa, G. A., Correia, E. S., Santos, A. L., da Silva, L. R., y Bicudo, Á. A. (2021). Dietary supplementation with

fumaric acid improves growth performance in Nile tilapia juveniles. *Animals*, 12(1), 8. doi:<https://doi.org/10.3390/ani12010008>

de Souza Valente, C., y Wan, A. H. (2021). Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181.

Díaz Chacho, Á. C. (2020). "Dosificación del aditivo Nufoaqua Grow Plus en *Litopenaeus vannamei* para contrarrestar el estrés y aumentar el crecimiento en camarones en cautiverio ubicado en la camaronera Coopas, cantón Arenillas, provincia de El Oro. [Trabajo de Titulación, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. Obtenido de <http://201.159.223.180/bitstream/3317/15196/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-170.pdf>

Domínguez, E. C. A. (2019). Análisis de las exportaciones de camarón antes y después de la firma del Acuerdo Multipartes entre Ecuador y la Unión Europea. *Observatorio de La Economía Latinoamericana*, 2–9. <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/03/exportaciones-camaron.html>

Duan, Y., Wang, Y., Zhang, J., Sun, Y., y Wang, J. (2018). Dietary effects of succinic acid on the growth, digestive enzymes, immune response and resistance to ammonia stress of *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 78, 10-17.

Dugassa, H., y Gaetan, D. G. (2018). Biology of White Leg Shrimp, *Penaeus vannamei*: Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 10(2).

Ecuador. Banco Central del Ecuador. (2020). BOLETÍN 36.- Acuerdo comercial con Asociación Europea de Libre Comercio. <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/PublicacionesNotas/BOLETIN362020.pdf>

- El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Patra, A. K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M. A., . . . Abdel-Latif, H. M. (2021). The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & Shellfish Immunology*, 117, 36-52. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>
- FAO. 2013. Report of the FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) of Cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304). Hanoi, Viet Nam, on 25–27 June 2013. FAO Fisheries and Aquaculture Report No. 1053. Rome.
- Fajardo, C., Martínez-Rodríguez, G., Costas, B., Mancera, J. M., Fernández-Boo, S., Rodulfo, H., y De Donato, M. (2021). Shrimp immune response: A transcriptomic perspective. *Reviews in Aquaculture*, 14(3), 1136-1149.
- Garibay-Valdez, E., Martínez-Porchas, M., Calderón, K., Gollas-Galván, T., Matínez-Córdova, L. R., Vargas-Albores, F., y Arvayo, M. A. (2020). La microbiota del tracto digestivo de camarones peneidos: una perspectiva histórica y estado del arte. *Biotecnia*, XXII(1), 5-16. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/biotecnia/v22n1/1665-1456-biotecnia-22-01-5.pdf>
- Gonzabay-Crespín, Á. N., Vite-Cevallos, H. A., Garzón-Montealegre, V. J., y Quihzpe-Cordero, P. F. (2021). Análisis de la producción de camarón Unión Europea en el período 2015-2020 en el Ecuador para su exportación a la. *Polo de Conocimiento* (Edición núm. 62), 6(9), 1040-1058.
- González González, Y. M. (2014). Efecto de la adición de ácidos orgánicos y probióticos sobre el crecimiento del camarón (*Litopenaeus vannamei*). [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Machala]. Obtenido de

http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1979/7/CD666_TESIS.pdf

Holt, C. C., Bass, D., Stentiford, G. D., y van der Giezen, M. (2021). Understanding the role of the shrimp gut microbiome in health and disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186(107387). doi:<https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107387>

Imaizumi, K., Tinwongger, S., Kondo, H., y Hirono, I. (2021). Analysis of microbiota in the stomach and midgut of two penaeid shrimps during probiotic feeding. *Scientific Reports*, 11(9936). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-021-89415-w>

James, A., y Valderrama, D. (2020). GOAL 2019: Revisión de la producción mundial de camarones « Global Aquaculture Advocate. Global Aquaculture Alliance. <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/goal-2019-revision-de-la-produccion-mundial-de-camarones/>

Kabir Chowdhury, M. A., Song, H., Liu, Y., Bunod, J.-D., y Dong, X.-H. (2021). Effects of Microencapsulated Organic Acid and Their Salts on Growth Performance, Immunity, and Disease Resistance of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Sustainability*, 13(14).

Kulkarni, A., Krishnan, S., Anand, D., Kokkattunivarthil Uthaman, S., Kumar Otta, S., Karunasagar, I., y Kooloth Valappil, R. (2020). Immune responses and immunoprotection in crustaceans with special reference to shrimp. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 431-459.

Lee, C., Shin, J., Feyaerts, J., Shin, J., Kim, M.-G., Gunathilaka, B. E., . . . Lee, K.-J. (2021). Effects of dietary supplementation of monobutyryl and tributyrin on growth, feed efficiency, innate immunity, digestibility and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture Nutrition*, 27(3), 771-781.

- Li, E., Xu, C., Wang, X., Wang, S., Zhao, Q., Zhang, M., . . . Chen, L. (2018). Gut Microbiota and its Modulation for Healthy Farming of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(3), 381-399.
- Lightner, D.V., R.M. Redman, C.R. Pantoja, B.L. Noble, y L. Tran. (2012). Early mortality syndrome affects shrimp in Asia. *Global Aquaculture Advocate* 15(1):40.
- Mahmoud Dawood, A. O., y Shunsuke Koshio, M. E. (2017). Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 950-974.
- Martín Ríos, L. D., Corrales Barrios, Y., González Salotén, M., Carrillo Farnés, O., Cabrera Alarcón, H., y Arenal Cruz, A. (2022). Principales factores que modifican el sistema inmune en camarones peneidos estrategias para un cultivo sostenible. *Revista de Producción Animal*, 34(1).
Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202022000100103
- Ng W.K., K. Chik-Boon, S. Kumar, A. Siti-Zahrah. 2009. Organic Acids Potential Replacement for Antibiotic Treatments of Tilapia. *Glob. Aquacult. Advo.* 5(9-10): 93-94.
- Ng, W.-K., y Koh, C. B. (2016). The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 9(4). doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12141>
- Norouzitallab, P., Baruah, K., Vanrompay, D., y Bossier, P. (2019). Teaching Shrimps Self-Defense to Fight Infections. *Trends in biotechnology*, 37(1), 16-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.05.007>

Osorio, L. L. (2020). Boletín 221: ECUADOR: LAS EXPORTACIONES 2015 - MAYO

2020-Colegio de Economistas de Pichincha.

<https://colegiodeeconomistas.org.ec/boletin-215-el-ecuador-las-tres-carabelas-y-el-titanic-2-2-2-2-3/>

Park G.H., J.H. Lee, H.H. Yun, C.L. Browdy, A.S. Bharadwaj, S.C.C. Bai. 2011. Effects of two different organic acid blends in olive flounder. Korean J. Org. Agricult. 19: 39-42.

Peña Osorio, L. J., y Cuéllar-Anjel, J. (2019). Vibriosis en camarón blanco del pacífico *Penaeus vannamei*. [Reporte de caso, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales]. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/2755/CASO%20OCL%C3%8DNICO%20LEIDY%20PE%C3%91A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Poom Llamas, J. J. (2018). Efecto del silenciamiento de HIF-1alfa sobre la expresión génica de enzimas antioxidantes en camarón blanco infectado con el WSSV. [Tesis de Grado, Universidad de Sonora]. Obtenido de <http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/bitstream/20.500.12984/2005/1/poomllamasjenniferjocelinel.pdf>

Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., y Miandre, H. K. (2017). Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish y Shellfish Immunology, 60, 65-71. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.030>.

Rajeev, R., Adithya, K. k., Kiran, G. S., y Selvin, J. (2020). Healthy microbiome: a key to successful and sustainable shrimp aquaculture. Reviews in Aquaculture, 13(1), 238-258. doi:<https://doi.org/10.1111/raq.12471>

- Reyes Delgado, J. K. (2018). Sensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/4432/1/UPSE-TBM-2018-0009.pdf>
- Reyes León, G. S. (2014). Efecto de los ácidos orgánicos y/o sus sales como aditivos en dietas de juveniles de camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei* sobre parámetros productivos. [Tesis de Grado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Obtenido de <http://132.248.9.195/ptd2014/febrero/0708276/0708276.pdf>
- Reyes Mero, A. J. (2021). Principales agentes infecciosos asociados al cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei* reportados en Ecuador durante el periodo 2010-2021. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6640/1/UPSE-TBI-2021-0016.pdf>
- Rossi, B., Esteban, M. A., García-Beltran, J. M., Giovagnoni, G., Cuesta, A., Piva, A., & Grilli, E. (2021). Antimicrobial Power of Organic Acids and Nature-Identical Compounds against Two *Vibrio* spp.: An In Vitro Study. *Microorganisms*, 9(5).
- Roy, S., Bossier, P., Norouzitallab, P., y Vanrompay, D. (2020). Trained immunity and perspectives for shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2351-2370.
- Sánchez Villanueva, A. (2018). Identificación y cuantificación de *Vibrio* spp en camarón de río (*Cryphiops caementarius*) procedente de Mercado pesquero Villa María del Triunfo. Obtenido de https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1684/Sanchez_A.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Sardar, P., Shamna, N., y Sahu, N. P. (2020). Acidifiers in aquafeed as an alternate growth promoter: A short review. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 20(2), 353-366. doi:10.5958/0974-181X.2020.00032.3
- Silva, J., Jiménez, I., Vivas, J., Mayer, L., y Figueredo, A. (2021). Algunas experiencias usando ácidos orgánicos para optimizar el desempeño de una larvicultura comercial de camarón blanco, *Penaeus vannamei*. *El Acuicultor*, 11-19. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/349194917_Algunas_experiencias_usando_acidos_organicos_para_optimizar_el_desempeno_de_una_larvicultura_comercial_de_camaron_blanco_Penaeus_vannamei
- Sotomayor, M. A., Reyes, J. K., Restrepo, L., Domínguez-Borbor, C., Maldonado, M., & Bayot, B. (2019). Efficacy assessment of commercially available natural products and antibiotics, commonly used for mitigation of pathogenic *Vibrio* outbreaks in Ecuadorian *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* hatcheries. *PLoS ONE*, 14(1), 1-19.
- Tran, L., L. Nunan, R.M. Redman, y L.L. Mohny, C.R. Pantoja, K. Fitzsimmons, y D.V. Lightner. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.* 105:45-55.
- Ullsco Azuero, E. S., Garzón Montealegre, V. J., Quezada Campoverde, J. M., & Barrezueta Unda, S. (2021). Análisis del comportamiento económico de la exportación en el sector camaronero en el Ecuador, periodo 2015-2019. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(S1), 112-119. Obtenido de <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/418/438>
- Valenzuela-Cobos, J., Vargas, C., Garcés, F., Grijalva, A., y Marcillo, R. (2020). Biocontrol of the vibriosis in the white shrimp (*Litopenaeus*

vannamei) using organic acids in the feeding. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 24(5), 279-287.

Velázquez Lizárraga, A. E. (2016). Identificación de genes relacionados con las rutas de señalización del sistema inmune de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) expuesto a un fertilizante enriquecido con silicio orgánico. [Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones biológicas del Noroeste, S.C.]. Obtenido de http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/2497/velazquez_a%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vieira, F. d., Bolivar, N. C., Chamarro Legarda, E., Dias Schleder, D., Quadros Seiffert, W., y Hayashi, L. (2017). Aditivos Alimentarios para camarones marinos: Salud y Nutrición. *Investigación y Desarrollo en Nutrición Acuícola*, 78-105

Zhang, X., Lan, W., y Xie, J. (2021). Combined citric acid and rosemary extract to maintain the quality of chilled Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7). doi:<https://doi.org/10.1111/jfpp.15614>

ANEXOS

Anexo 2. Toma de parámetros 1



Anexo 1. Toma de muestras de camarones



Anexo 4. Selección y aclimatación de muestras para la investigación



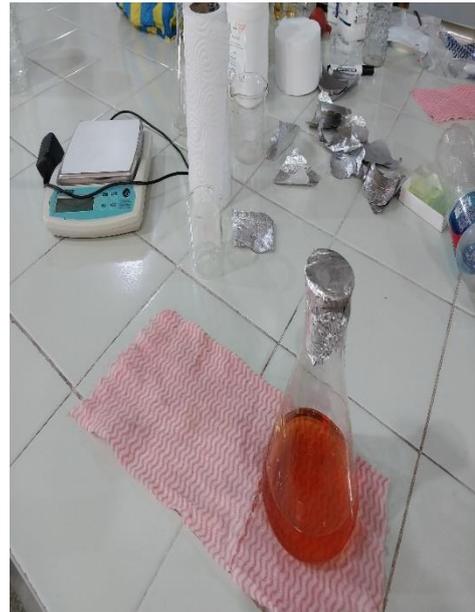
Anexo 3. Toma de los parámetros entre los tratamientos



Anexo 6. Monitoreo de camarones



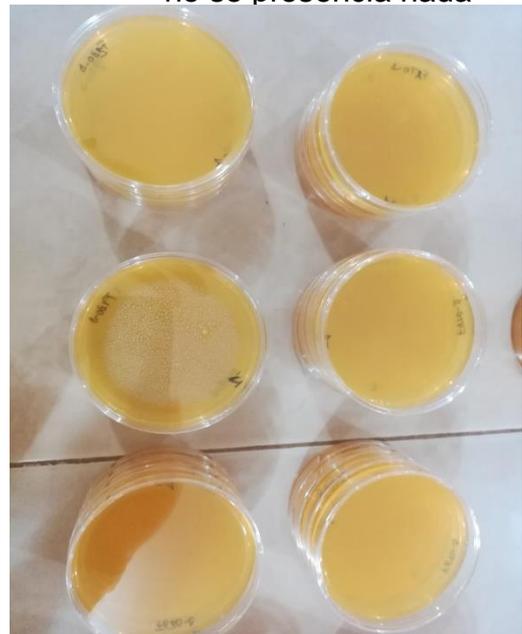
Anexo 5. Preparando medios de cultivo



Anexo 7. Siembra de muestras de tejido de camarón para detectar vibriosis para



Anexo 8. Placas con cultivos donde no se presencia nada



RESUMEN DE BIOENSAYO Nº 1 Y Nº 2

Tabla 13.- Adición de ácido Butírico al alimento balanceado suministrado a los camarones en edad juvenil

Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS	Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS	Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS
1	1,8		1	1,7		1	1,9	
2		1,6= VP	2	1,6		2	1,9	
3	2,3		3		1,0=0	3	1,6	
4	2,1		4	2,2		4		1,3=0
5	2,4		5	1,9		5		1,6=0
6		2,1=0	6	2,0		6	1,5	
7	1,9		7	2,4		7	1,5	
8	1,9		8		0,9= VP	8	1,8	
9	2,3		9	2,2		9	2,1	
10	1,7		10	2,0		10	2,0	
11	2,1		11		0,8=0	11	1,6	
12	2,4		12	1,8		12	1,8	
13		1,7=0	13	1,9		13	1,7	
14	1,6		14		1,7= VP	14		1,3= VP
15	1,9		15	1,9		15	1,8	
P. X	24,4=2,03	5,4= 1.8	P. X	21,6=1,96	4,4=1,1	P. X	20,2=1,68	4,2=1,4

M.V.P. = MUERTE POR VIBRIOSIS PARAHEMOLITICO

M.O.C. = MUERTE OTRA CAUSA (SANOS)

La tabla indica la sobrevivencia de los camarones con un 77,77 % mortalidad por vibrios 8,88 % y muertos por otras causas el promedio fue de 13.33 % en las tres repeticiones donde se aplicó ácido Butírico; dando interesantes resultados como preventivo para evitar la enfermedad y obtener porcentajes de sobrevivencia. La investigación de Lightner. 2013, indica la actividad de los efectos de los ácidos orgánicos con respecto a las enfermedades bacterianas considerando la sobrevivencia con vector ha evaluar.

RESUMEN DE BIOENSAYO Nº 1 Y Nº 2

Tabla 14.- Adición de ácido Acético al alimento balanceado suministrado a los camarones en edad juvenil

Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS	Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS	Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS
1	1,9		1		1,5= VP	1	1,7	
2	2,0		2	1,9		2		1,5=0
3	2,0		3	1,8		3	1,8	
4	1,9		4	1,8		4	1,9	
5	2,1		5		1,7= VP	5	1,9	
6	1,9		6	1,9		6		1,4= VP
7		1,5= VP	7	2,1		7	1,5	
8	1,8		8	1,6		8	1,9	
9	2,0		9	1,8		9		1,7= VP
10		1,6= 0	10		1,7=0	10	1,8	
11	1,5		11	1,9		11	1,7	
12	2,1		12	1,9		12	2,1	
13		1,7= VP	13	2,1		13	1,8	
14		1,8= VP	14	1,7		14	1,7	
15	1,8		15	1,8		15	2,0	
P. \bar{x}	21,0=1,90	6,6= 1,65	P. \bar{x}	22,3=1,85	4,9=1,6	P. \bar{x}	21,8=1,81	4,6=1,53

M.V.P. = MUERTE POR VIBRIOSIS PARAHEMOLITICO

M.O.C. = MUERTE OTRA CAUSA (SANOS)

Valenzuela et al (2020). Indican la eficiencia del uso de sales orgánicas en la dieta de camarones, considerando el sistema inmune con elemento a proteger y evitar mortalidades, La siguiente tabla indica la sobrevivencia de los camarones, en un 77,77 %; 15,55 %

mortalidad por vibrios y por otras causas 6,66 % en las tres repeticiones donde se aplicó ácido Acético; los resultados muestran ser un excelente preventivo para evitar la enfermedad y obtener buenos porcentajes de sobrevivencia.

RESUMEN DE BIOENSAYO Nº 1 Y Nº 2

Tabla 15.- Control o testigo 1 suministro de alimento balanceados para camarones en edad juvenil sin ácidos orgánicos

Nº	SOBREVIVENCIA PROMEDIO	MORTALIDAD % VIBRIOSIS
1		1,3= VP
2	1,8	
3		1,5=0
4	1,1	
5	1,5	
6		1,2= VP
7	1,6	
8		1,1= VP
9	1,3	
10		1,5= VP
11		1,6= 0
12	1,8	
13		1,7= VP
14		1,8= VP
15	1,3	
P. \bar{x}	10,4=1,48	11,7= 1,46

M.V.P. = MUERTE POR VIBRIOSIS PARAHEMOLITICO
M.O.C.= MUERTE OTRA CAUSA (SANOS)



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Rueda Romero Ivana Nicole**, con C.C: # :**1105237653** autor/a del **Trabajo de Integración Curricular: Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco** previo a la obtención del título de **Ingeniera Agropecuaria**, en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, **6 de septiembre del 2023**

Nombre: **Rueda Romero Ivana Nicole**

C.C: **1105237653**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA Y SUBTEMA:	Evaluación de ácidos orgánicos en etapa de pre cría en la producción de camarón blanco		
AUTOR(ES)	Ivana Nicole Rueda Romero		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Ing. Franco Rodríguez, John E., Ph. D.		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Ingeniería Agropecuaria		
TITULO OBTENIDO:	Ingeniera Agropecuaria		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	6 de septiembre del 2023	No. DE PÁGINAS:	49
ÁREAS TEMÁTICAS:	Producción camaronera – Mejoramiento en producción – Calidad del camarón		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Vibrios, patógeno, Ácidos orgánicos, <i>pirAB</i> , hepatopáncreas, toxicidad, inhibitorio		
<p>Esta investigación se realizó en la Camaronera Pitahaya ubicada el Sector estero Hondo del cantón Arenillas de la provincia de El Oro. Anteriormente se utilizaban tratamientos que consistían en la aplicación de antibióticos contra infecciones bacterianas provocada por <i>Vibrio parahaemolyticus</i>. Por tanto, el uso y abuso de los mismos han generado resistencia bacteriana representando un poderoso peligro a la salud de las personas, los ecosistemas y sus componentes. Recientes estudios buscan alternativas para el uso de antibióticos en la actividad camaronera, Varias investigaciones demuestran que usar ácidos orgánicos por sus fuertes propiedades antimicrobianas se constituye en un excelente agente alternativo. Por lo que la presente investigación propone el uso individual de ácidos orgánicos como producto alternativo al uso de antibióticos para el control de <i>V. parahaemolyticus</i> (AHPND+) potencial patógeno dañino en el cultivo de camarones. La etapa de trabajo consistió en establecer la actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos sobre la proliferación de <i>V. parahameolyticus</i>. La eficacia de los ácidos butírico y acético denotan importante resultado preventivo ($P < 0.05$), en ambos casos. Su acción inhibitoria es diferente para <i>V. parahameolyticus</i>. La concentración Inhibitoria demostró diferencias entre los ácidos orgánicos aplicados y la cepa de <i>V. parahameolyticus</i> evaluadas. La aplicación del ácido butírico demostró mayor potencial de inhibición con diferencias significativas ($P < 0.05$) al ser comparado con el ácido acético contrastando la sobrevivencia con la mortalidad en ambos casos.</p>			
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593-4-0956345676	E-mail ivannarueda@cu.ucsg.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE)::	Nombre: Ing. Noelia Caicedo Coello. M.Sc.		
	Teléfono: +593- 98 736 1675		
	Noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			