

Evaluación del efecto de bacterias probióticas comerciales en cultivos larvarios de *Penaeus vannamei*

Evaluation of the effect of commercial probiotic bacteria on larval cultures of *Penaeus vannamei*

Clara Esperanza Lozano Farias¹ , Fernando Abasolo-Pacheco² , Angie Milena Gallo Saldarriaga³ , Danna Belén Castillo Quijije² 

¹Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Posgrado, Quevedo, Ecuador

²Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Quevedo, Ecuador

³Unidad Educativa Nuestra Señora de Fátima, Investigador independiente, Quevedo, Ecuador

Correspondencia: Fernando Abasolo Pacheco **E-mail:** fabasolo@uteq.edu.ec

Original article | Artículo original

Palabras clave

Interacciones benéficas
bacterias
Vibrio spp.
salud animal

RESUMEN | La intensificación de la acuicultura de *Penaeus vannamei* ha incrementado la incidencia de enfermedades bacterianas y la degradación de la calidad del agua, generando pérdidas económicas significativas. En este contexto, el uso de probióticos surge como una alternativa sostenible para mejorar la salud larval y el desempeño productivo. Este estudio evaluó el efecto de probióticos comerciales sobre la calidad del agua, el rendimiento productivo y la salud microbiana en el cultivo larval de *P. vannamei*. Se implementaron cuatro tratamientos: un control sin probióticos y tres con distintas combinaciones bacterianas (Probióticos A, B y C). Se monitorearon parámetros fisicoquímicos, microbiológicos, de crecimiento, supervivencia y biomasa, además del análisis costo-beneficio. Los resultados indicaron que el tratamiento con el Probiótico C (T4), compuesto por *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Pediococcus* sp., *Thiobacillus* sp. y *Paracoccus* sp., fue el más eficiente. Este tratamiento presentó la mayor densidad larval final (50 PL/g), el mayor peso promedio (20 mg), longitud final (9,0 mm), biomasa (3,889 g), uniformidad (92%) y tasa de supervivencia (70%). En contraste, el grupo control mostró valores inferiores. Además, T4 logró una reducción sustancial de bacterias patógenas como *Vibrio alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* y *Pseudomonas* sp., así como de hongos, en comparación con el control. El análisis de costo-beneficio reveló que, si bien T4 tuvo el costo por millar más alto (\$0,45), también generó el mayor rendimiento productivo, justificando su aplicación. Estos hallazgos respaldan el uso de probióticos como herramienta eficaz para optimizar el crecimiento, la salud larval y la rentabilidad en sistemas acuícolas, promoviendo prácticas más sostenibles.

Keywords

Beneficial interactions
bacteria
Vibrio spp.
animal health

ABSTRACT: The intensification of *Penaeus vannamei* aquaculture has increased the occurrence of bacterial diseases and water quality deterioration, resulting in significant economic losses. In this context, the use of probiotics emerges as a sustainable alternative to enhance larval health and productive performance. This study evaluated the effect of commercial probiotics on water quality, production performance, and microbial health in the larval culture of *P. vannamei*. Four treatments were implemented: a control without probiotics and three with different bacterial combinations (Probiotics A, B, and C). Physicochemical, microbiological, growth, survival, and biomass parameters were monitored, along with a cost-benefit analysis. Results indicated that the treatment with Probiotic C (T4), composed of *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Pediococcus* sp., *Thiobacillus* sp., and *Paracoccus* sp., was the most effective. This treatment achieved the highest final larval density (50 PL/g), average weight (20 mg), final length (9.0 mm), biomass (3.889 g), uniformity (92%), and survival rate (70%). In contrast, the control group showed lower values. Moreover, T4 substantially reduced pathogenic bacteria such as *Vibrio alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, and *Pseudomonas* sp., as well as fungi, compared to the control. The cost-benefit analysis revealed that although T4 had the highest cost per thousand (\$0.45), it also generated the greatest productive yield, justifying its application. These findings support the use of probiotics as an effective tool to optimize growth, larval health, and profitability in aquaculture systems, promoting more sustainable practices.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una industria clave a nivel mundial, especialmente en Asia, América Latina y el Pacífico, donde genera empleo y fortalece economías locales (González Salas *et al.* 2021). En Ecuador, la producción del camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* Boone 1931, ha experimentado un crecimiento desde 2017, lo que ha impulsado tanto el consumo interno como las exportaciones hacia mercados internacionales, incluyendo Europa, Asia y América del Norte (López López *et al.* 2015). Sin embargo, este crecimiento enfrenta desafíos importantes, como la proliferación de patógenos en los sistemas de cultivo, que comprometen la supervivencia larval y generan pérdidas económicas (Aragón-Noriega 2016). Entre estos patógenos se encuentran *Vibrio* spp. y virus como WSSV (virus de la mancha blanca) y TSV (virus del síndrome de Taura), que afectan el desarrollo fisiológico y morfológico de las larvas, reduciendo su capacidad de sobrevivir hasta la etapa de engorde (Arzola González *et al.* 2008).

En la provincia de Santa Elena, principal zona de producción larvaria en Ecuador, los laboratorios especializados enfrentan dificultades relacionadas con el exceso de materia orgánica y la acumulación de patógenos, particularmente del género *Vibrio* en el sedimento y la columna de agua. Estas condiciones ambientales adversas impactan en la salud de las larvas y, en consecuencia, la sostenibilidad de la producción (Coello Galvez 2021). Debido a la creciente regulación sobre el uso de antibióticos, desde el sector acuícola se ha incentivado la búsqueda de alternativas biológicas y sostenibles para garantizar la calidad y seguridad de los productos, promoviendo sistemas de producción libres de químicos (López López *et al.* 2015).

En este contexto, los probióticos han surgido como una herramienta prometedora para mejorar la salud de los cultivos de *P. vannamei*. Estos microorganismos beneficiosos no solo fortalecen la respuesta inmunológica de los animales, sino que también contribuyen a la reducción de enfermedades, mejoran las condiciones ambientales en los sistemas de cultivo y minimizan la dependencia de productos químicos (Gutiérrez Falcón 2021). En acuicultura, los probióticos pueden formularse como cepas individuales o mezclas multiespecíficas, solas o combinadas, actuando como mejoradores de la calidad del agua, estimuladores del sistema inmune, promotores del crecimiento y agentes antimicrobianos naturales (Hai 2015; Pérez-Chabela *et al.* 2020). La implementación de probióticos en dosis adecuadas mejora la supervivencia de las larvas y reduce la incidencia de enfermedades, contribuyendo así a la sostenibilidad del sector.

Ensayos previos con cepas como *Bacillus* sp. han mostrado potencial para reducir la incidencia de patógenos, aumentar la supervivencia larval y optimizar la producción, aunque aún es necesario evaluar cuáles combinaciones probióticas generan los mejores resultados (FAO 2016). Las bacterias del género *Bacillus* han sido ampliamente utilizadas por su capacidad de secretar enzimas digestivas, mejorar la eficiencia alimenticia, degradar materia orgánica y producir compuestos bioactivos que inhiben patógenos como *Vibrio* spp. (Olmos Soto 2021; Xue *et al.* 2016). Estudios como los de Decamp *et al.*, (2008) y Melgar Valdes *et al.*, (2013) han reportado mejoras significativas en supervivencia y crecimiento en larvas de *P. vannamei* mediante la aplicación de probióticos comerciales basados en *Bacillus* spp. Sin embargo, la eficacia de estos productos puede variar según condiciones de cultivo, formulación y dosis empleada (Zokaei Far *et al.* 2009).

Con base en estas premisas, la presente investigación tiene como objetivo principal evaluar el efecto de bacterias probióticas comerciales en cultivos larvarios de *P. vannamei* para optimizar la producción. Se busca caracterizar los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de los sistemas de cultivo sometidos a diferentes probióticos, analizando sus efectos sobre las características fisiológicas y morfológicas de las larvas, y establecer el rendimiento de la producción en términos de costo-beneficio. Por tanto, evaluar su desempeño en contextos productivos específicos resulta esencial para validar su efectividad y optimizar su uso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismos y condiciones de cultivo

Se emplearon 500 mil individuos por tratamiento, en etapa de postlarvas (PL) a los 11 días de cultivo en estadio postlarva 4 (PL4), obtenidos de un laboratorio de cultivo de larvas en Ecuador. Cada estadio postlarval tuvo una duración de 24 h, confirmándose su desarrollo a través de la observación de las branquias de los organismos.

Los tanques utilizados para el cultivo de las larvas estaban contruidos de cemento, con un recubrimiento de pintura epóxica y una capacidad de 6 t. Antes del inicio del experimento, fueron sometidos a un protocolo de limpieza que incluyó el lavado con agua dulce y jabón neutro, seguido de la desinfección con una solución de hipoclorito de sodio al 10 %, que se dejó actuar durante una hora. Posteriormente, los residuos de cloro fueron neutralizados mediante la aplicación de tiosulfato de sodio al 1 %. Finalmente, los tanques fueron enjuagados con agua limpia y llenados con 5000 L de agua de mar. Durante el experimento, se garantizó una aireación continua en cada tanque, manteniendo la temperatura del agua en un intervalo de 30 a 33 °C. El agua de mar utilizada fue filtrada previamente con bolsas de 0,5 µm. Se realizaron registros diarios de salinidad, temperatura y oxígeno mediante un equipo multiparámetro YSI PRO2030. Para el análisis de calidad del agua se midieron parámetros como alcalinidad, amonio, nitrito, nitrato, calcio, magnesio y potasio. El experimento se realizó desde diciembre de 2023 hasta enero de 2024.

Probióticos comerciales empleados

Se utilizaron tres tipos de probióticos comerciales. El probiótico A, formulado con microorganismos que inhiben *Vibrio* spp. y degradan desechos orgánicos (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus lactis*, *Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp.). Mientras que, el probiótico B, contenía microorganismos que reducen la presencia de Vibrios y otros compuestos tóxicos como amoníaco, nitritos y sulfuros (*Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Pediococcus* sp., *Thiobacillus* sp., *Paracoccus* sp.). Por otro lado, el probiótico C estuvo compuesto por *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, y *Bacillus pumilus*, además de enzimas como proteasas, amilasas, celulasas y xilanasas.

Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con 20 tanques distribuidos en cuatro tratamientos. Tratamiento 1 (T1) (control) sin probióticos, tratamiento 2 (T2) con probiótico A, tratamiento 3 (T3) con probiótico B y tratamiento 4 (T4) con probiótico C. Cada tratamiento contó con cinco repeticiones. Las postlarvas fueron distribuidas aleatoriamente en los tanques.

La densidad de siembra fue de 100 postlarvas por litro de agua, lo que resultó en 500 mil postlarvas por tratamiento. Las postlarvas fueron alimentadas por primera vez a las 9:00 a.m. tras su siembra en los tanques. Posteriormente, la alimentación se llevó a cabo cada 3 h con una dieta compuesta por alimento seco, Artemia y cystos de Artemia de la siguiente manera: PL4 – PL7 75% alimento seco y 25% de artemia; PL8 – PL9 50% alimento seco, 25% artemia y 25% cystos; PL10 – PL13 90% alimento seco y 10% cystos de artemia. La dosificación de los probióticos se realizó de acuerdo con las fichas técnicas de los productos, administrándolos directamente al agua desde el estadio postlarva 4 hasta el estadio postlarva 13. Se aplicaron una vez al día en concentraciones de 2 ppm a 4 ppm por tonelada de agua.

Conteo de postlarvas y determinación biométrica

Desde el estadio postlarva 4 (PL4), se utilizó el método gravimétrico para el conteo de postlarvas. Se tomaron muestras de organismos mediante un chayo, se escurrió el exceso de agua y se pesaban muestras desde 0,40 g para postlarva 4; 0,50 g para postlarva 5 y así sucesivamente hasta llegar al peso de 1 gramo, se contabilizó el número de postlarvas presentes en la misma y se dividió entre la cantidad pesada, obteniendo así el PL/gr. En base a este valor se pudo notar el crecimiento diario.

$$PL/g = \frac{\text{conteo de postlarvas (PL)}}{\text{cantidad pesada (g)}}$$

Mientras que el peso promedio se determinó manualmente pesando muestras de postlarvas de cada tratamiento con una balanza digital (Tabla 1). Este parámetro se determinó desde postlarva 4, y consistió pesar una muestra de postlarvas por cada tratamiento a razón de ±0,1 gramos por cada estadio. Ejemplo: un estadio de PL 8 se realizó 0,1 x 8 = 0,8 gramos de larvas. La muestra se colocó en una sola caída para no distorsionar los valores de la balanza digital el total se dividió para el número de organismos presentes en dicha muestra. Para la obtención de longitud promedio y uniformidad se determinó mediante el programa Larvia.

Tabla 1. Valores referenciales correspondientes al peso promedio y la cantidad de postlarvas por gramo en diferentes estadios de desarrollo del camarón blanco (*Penaeus vannamei*), desde el estadio PL3 hasta PL15.

Table 1. Referential values corresponding to the average weight and the number of postlarvae per gram at different developmental stages of the white shrimp (*Penaeus vannamei*), from stage PL3 to PL15.

| Tasa de crecimiento diario de larvas de <i>Penaeus vannamei</i> | | |
|---|----------|---------------------|
| Estadio | Peso (g) | Cantidad (larvas/g) |
| PL3 | 0,30 | 1200 |
| PL4 | 0,40 | 900 |
| PL5 | 0,50 | 700 |
| PL6 | 0,60 | 480 |
| PL7 | 0,70 | 350 |
| PL8 | 0,80 | 220 |
| PL9 | 0,90 | 190 |
| PL10 | 1,00 | 150 |
| PL11 | 1,00 | 120 |
| PL15 | 1,00 | 100 |

Nota: el peso representa el incremento progresivo del peso total de larvas por estadio, conforme las postlarvas avanzan en su desarrollo

Tasa de supervivencia

La tasa de supervivencia se determinó al final del cultivo mediante la fórmula (Soriano Aquino, 2017).

$$S = \frac{\text{Postlarvas cosechadas}}{\text{Postlarvas sembradas}}$$

Análisis microbiológico de *Penaeus vannamei*

Se realizaron análisis microbiológicos para detectar la presencia de *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp. y hongos filamentosos. Se utilizaron medios de cultivo específicos como Agar TCBS y Agar Chromagar Vibrio. Las muestras de tejido fueron sembradas siguiendo el método de diluciones seriadas (1:10) en solución salina al 2% de NaCl (Vinatea et al., 2011). Posteriormente, se incubaron en los medios de cultivo mencionados y se identificaron las colonias bacterianas mediante protocolos establecidos en el laboratorio de microbiología. Con mallas de diferente micraje según el estadio se filtraron las muestras. Cada muestra se enjuagó con agua destilada. Luego se pesó 1 g de la muestra en los estadios de postlarvas estas muestras se colocaron en un microtubo eppendorf previamente tratado para ser macerado. Después, la muestra macerada se centrifugó por 10 s. Posteriormente, se efectuó la siembra por el método de extensión (barrido) con asa de vidrio (asa de Drygalski) colocando 100 µl de la dilución en su respectiva caja Petri con Agar TCBS, agar Chromagar Vibrio y Dextrosa Sabouraud. Todas las placas se incubaron en posición invertida a 33 °C por 24 h para su posterior conteo. El total de muestras analizadas fue de 80, a razón de 20 muestras por ciclo

La identificación de colonias se realizó utilizando medios selectivos. En agar TCBS, las colonias se diferenciaron por su coloración, observándose colonias amarillas y verdes. En agar Chromagar Vibrio, la diferenciación se basó en la tonalidad específica de cada microorganismo: *Vibrio parahaemolyticus* presentó colonias de color malva a violeta, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae* mostraron una coloración azul verdoso a azul turquesa, mientras que *Vibrio alginolyticus* se identificó por colonias de color crema.

Por otra parte, el conteo de UFC/mL se calculó con la fórmula:

$$UFC/mL = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{Factor de dilución}}{mL \text{ de muestra}}$$

Siguiendo metodologías establecidas por Moreno Herrera (2002), se seleccionaron diluciones que permitieran contar entre 30 y 300 colonias por placa. Los valores de severidad de UFC en larvas y postlarvas se establecieron según criterios microbiológicos y productivos (Tabla 2).

Tabla 2. Características y rango de valores de severidad de *Vibrio* spp. observado en larvas y postlarvas de camarón *Penaeus vannamei*.
Table 2. Characteristics and severity value range of *Vibrio* spp. observed in larvae and postlarvae of shrimp *Penaeus vannamei*.

| Medio de cultivo | Colonias | Rango de valores | | |
|------------------|----------------------------|------------------|---------|---------|
| | | Normales | Elevado | Severo |
| TCBS | tipo 1 (amarillas) | $\leq 10^2$ | $>10^3$ | $>10^5$ |
| TCBS | tipo 2 (verdes) | $\leq 10^2$ | $>10^3$ | $>10^5$ |
| Chromagar Vibrio | <i>V. parahaemolyticus</i> | $\leq 10^1$ | $>10^2$ | $>10^3$ |
| Chromagar Vibrio | <i>V. vulnificus</i> | $\leq 10^1$ | $>10^1$ | $>10^2$ |
| Chromagar Vibrio | <i>V. alginolyticus</i> | $\leq 10^2$ | $>10^3$ | $>10^4$ |

Análisis patológico de *Penaeus vannamei*

Este análisis de patología en fresco se basó en la observación con un microscopio binocular marca Motic. Todos los días se evaluó el estado de salud de las larvas de cada tratamiento para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad de la infección, infestación, las observaciones se reportaron de acuerdo con las tablas de referencia citadas en la guía técnica de patología e inmunología por Cuéllar *et al.*, (2014). Esta información fue registrada en hojas de cálculo teniendo en cuenta: Actividad del organismo, branquias (presencia o ausencia de suciedad, necrosis), apariencia del intestino (lleno, medio o vacío), estado físico de las antenas (coloración o rotas), deformidad (rostro, abdomen o apéndices), apariencia de urópodos (coloración), exoesqueleto (presencia o ausencia de necrosis), hepatopáncreas (tamaño y coloración), cuantificación de larvas azuladas

A partir de esta tabla se aplicó la fórmula empleada por Morales-Covarrubias *et al.* (2011) en su estudio acerca de la prevalencia de enfermedades de *P. vannamei*.

$$Prevalencia = \frac{N^{\circ} \text{ animales con patología}}{\text{Total animales}} \times 100$$

Relación costo beneficio

Durante el cultivo, se llevó a cabo una exhaustiva evaluación de los costos directos e indirectos asociados al cultivo del experimento. Este análisis incluyó la consideración detallada de los diferentes tratamientos aplicados en el proceso. La finalidad de este enfoque fue determinar y comparar la eficacia económica de cada tratamiento, buscando identificar cuál de ellos resultó ser más rentable en términos de costos directos incurridos.

Análisis estadístico

Los datos se registraron en Microsoft Excel 365 y se analizaron mediante tablas de contingencia. La normalidad se evaluó con la prueba de Shapiro-Wilk ($N < 50$). Y la homocedasticidad con la prueba de Levene ($p > 0,05$). Dado que los datos presentaron distribución normal e igualdad de varianzas entre los grupos, se realizó un ANOVA, seguido de la prueba *a posteriori* de Tukey ($p < 0,05$) para identificar diferencias significativas en supervivencia y crecimiento tras 40 días de cultivo.

RESULTADOS

Considerando los parámetros fisicoquímicos registrados en las unidades de cultivo, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto entre los tratamientos ($P > 0,05$). De manera similar, no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la alcalinidad (CaCO_3) mg/L, y concentración de Calcio mg/L, Magnesio mg/L, Potasio mg/L, Nitrito (NO_2) mg/L y Amonio (N-NH_3) mg/L registrados durante los 40 días de experimentación. Esto indica que los parámetros mencionados se mantuvieron estables durante el experimento, debido al control durante el bioensayo. Es importante mencionar que se dieron leves fluctuaciones durante toda la experimentación en todos los tratamientos (Fig 1).

En cuanto a la dinámica microbiana, en la Tabla 3 se evidencian diferencias significativas en la concentración de bacterias del género *Vibrio* y en la presencia de *Pseudomonas* sp. y hongos filamentosos entre los distintos tratamientos. En particular, el grupo control (T1) presentó la mayor carga microbiana, mientras que los tratamientos con probióticos (T2, T3 y T4) mostraron una reducción progresiva en la presencia de estos microorganismos, siendo el T4 el tratamiento con la menor carga de *Vibrio* spp. y hongos filamentosos. Estos resultados sugieren un efecto positivo del uso de probióticos comerciales en la disminución de la carga microbiana potencialmente patógena en los cultivos de larvas de *P. vannamei*.

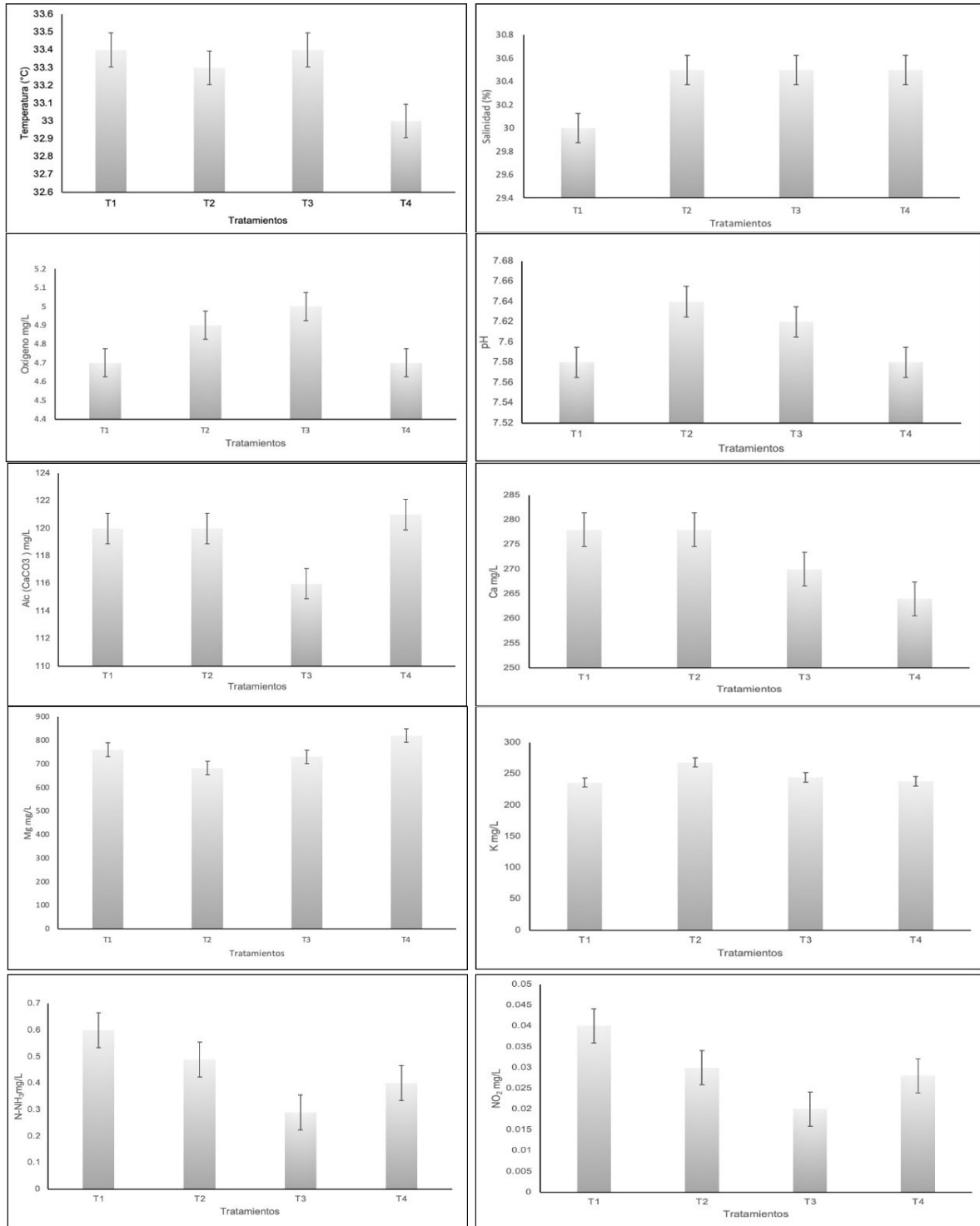


Figura 1. Parámetros fisicoquímicos del agua en las unidades experimentales sometidas a cuatro tratamientos de probióticos comerciales. Las barra denota la media y la línea vertical sobre la barra la desviación estándar.

Figure 1. Physicochemical parameters of water in the experimental units subjected to four commercial probiotics treatments. The bar denotes the mean and the vertical line above the bar the standard deviation.

Tabla 3. Comparación de la carga microbiana en unidades experimentales sometidas a tratamientos con probióticos comerciales.
Table 3. Comparison of microbial load in experimental units subjected to treatments with commercial probiotics.

| Variables | <i>V. alginolyticus</i> | <i>V. vulnificus</i> | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>Pseudomonas</i> sp. | Hongos filamentosos |
|-----------|-------------------------|----------------------|----------------------------|------------------------|---------------------|
| T1 | 181880a | 102600a | 134400a | 1620a | 700a |
| T2 | 16000b | 7415,60b | 825b | 1960a | 1b |
| T3 | 9000b | 920b | 264b | 220a | 0b |
| T4 | 59b | 11,02b | 23,8b | 39,20a | 0,40b |
| CV% | 102,25 | 220,20 | 169,09 | 257,26 | 129,23 |
| EE | 23657,26 | 27313,68 | 25618,57 | 1104,26 | 101,34 |
| P | 0,0004 | 0,0430 | 0,0061 | 0,5760 | 0,0007 |

Valores de las medias, CV%= coeficiente de variación, EE= error estándar y P= probabilidad. Letras distintas son significativamente diferentes (P<0,05).

Análisis de patología de las larvas de *Penaeus vannamei* durante los ciclos de cultivo.

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en las variables patológicas evaluadas. El tratamiento control (T1) presentó los valores más elevados en flacidez (78,2%), larvas azules (85,4%), necrosis muscular (96,0%) y otras alteraciones (apendicular, branquial y deformidades), mientras que el tratamiento T4 mostró la menor incidencia de estas patologías, con reducciones notables en flacidez (24,0%), larvas azules (13,8%) y necrosis muscular (20,0%). Los tratamientos intermedios (T2 y T3) mostraron valores decrecientes en estas variables, con T3 mostrando mejores resultados en comparación con T2. No se encontraron diferencias significativas en el contenido lipídico entre los tratamientos (100% en promedio) (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis patológico de larvas de *Penaeus vannamei* sometidas a tratamientos con probióticos comerciales durante su ciclo de cultivo.

Table 4. Pathological analysis of *Penaeus vannamei* larvae subjected to treatments with commercial probiotics during their culture cycle.

| Variables | Flacidez | Larvas azules | Necrosis muscular | Necrosis apendicular | Necrosis branquial | Deformidad | Cromatóforos expandidos | Lípidos (50-100%) |
|-----------|----------|---------------|-------------------|----------------------|--------------------|------------|-------------------------|-------------------|
| T1 | 78,20a | 85,40a | 96,00a | 72,40a | 75,20a | 9,80a | 35,00a | 100a |
| T2 | 53,40b | 40,20b | 86,80b | 36,00b | 58,20b | 5,00b | 20,40c | 100a |
| T3 | 43,60c | 30,60c | 68,00c | 24,40ab | 37,20b | 2,00c | 26,20b | 98a |
| T4 | 24,00d | 13,8d | 20,00d | 11,20c | 15,40c | 5,00b | 10,00d | 100a |
| CV% | 10,26 | 10,15 | 4,30 | 28,32 | 32,13 | 4,10 | 12,14 | 2,25 |
| EE | 2,29 | 1,93 | 1,30 | 4,55 | 6,68 | 0,10 | 1,24 | 1 |
| P | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 | 0,0002 | 0,0001 | 0,0001 | 0,4449 |

Valores de las medias, CV%= coeficiente de variación, EE= error estándar y P= probabilidad. Letras distintas son significativamente diferentes (P<0,05).

Desarrollo de los parámetros de crecimiento de las larvas de *Penaeus vannamei* con probióticos comerciales.

Crecimiento larvario

En la figura 2 se visualiza como el tratamiento T1 presentó el mayor crecimiento con 125 PL/g, seguido por T2 con 115 PL/g, T3 con 80 PL/g y el control T1 con 50 PL/g.

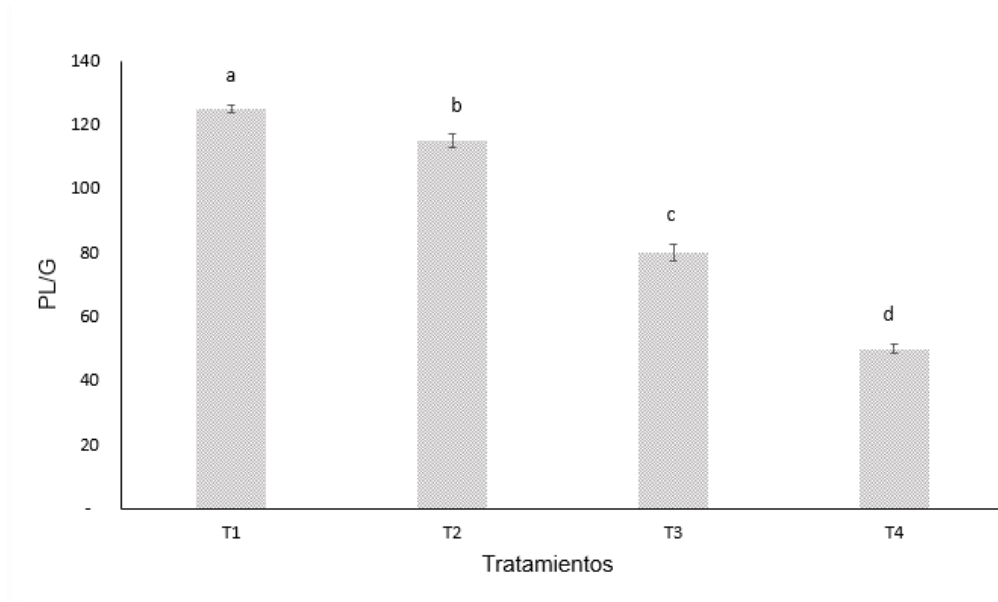


Figura 2. Crecimiento (PL/g) final de larvas tratadas con probióticos comerciales. Las barras representan la media y la línea vertical sobre la barra representa la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas, prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Figure 2. Final growth (PL/g) of larvae treated with commercial probiotics. The bars represent the mean and the vertical line above the bar represents the standard deviation. Different letters denote significant differences, Tukey test ($\alpha=0.05$).

Peso y biomasa de larvas

Los tratamientos T3 y T4 mostraron los mayores pesos promedio con 12,50 mg y 20 mg, respectivamente, mientras que T1 y T2 obtuvieron valores menores de 8 mg y 8,60 mg. Así mismo, se evidencia que T4 alcanzó la mayor biomasa con 3.889 g, seguido por T2 con 2.583 g. Los valores más bajos correspondieron a T3 (2.400 g) y T1 (1.964 g) (Fig.3)

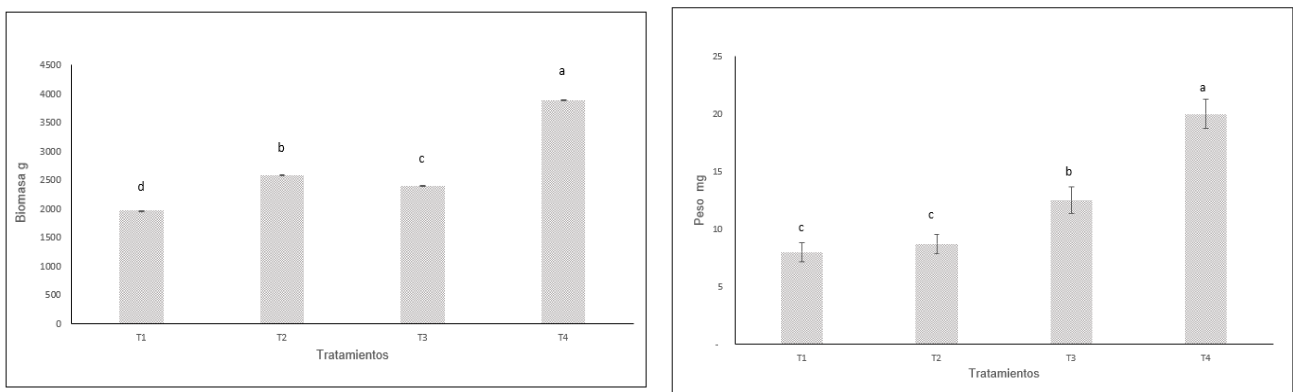


Figura 3. Peso y biomasa promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos. Las barras representan la media y la línea vertical sobre la barra representa la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas, prueba de Tukey ($\alpha=0,05$).

Figure 3. Average larval weight and biomass per production cycle for each treatment. Bars represent the mean, and the vertical line above the bar represents the standard deviation. Different letters denote significant differences, Tukey test ($\alpha=0.05$).

Longitud final de larvas

Las larvas en T4 y T2 alcanzaron las mayores longitudes con 9,0 mm y 8,7 mm, mientras que T1 y T3 presentaron valores menores de 8,6 mm y 8,5 mm (Fig 4).

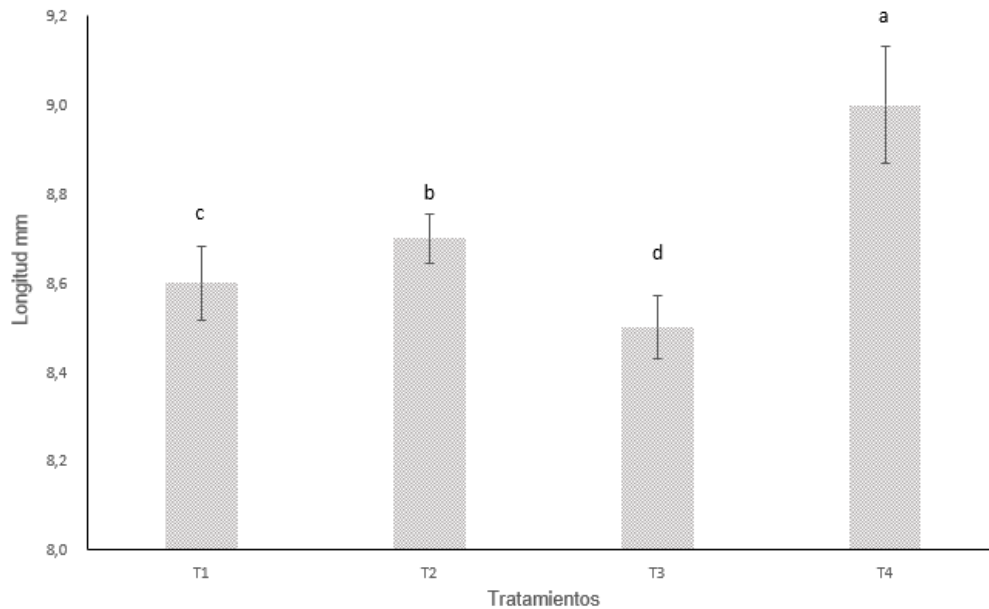


Figura 4. Longitud promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos. Las barras representan la media y la línea vertical sobre la barra representa la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas, prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 4. Average larval length per production cycle for the treatments. The bars represent the mean and the vertical line above the bar represents the standard deviation. Different letters denote significant differences, Tukey test ($\alpha = 0,05$).

Uniformidad

En la figura 5 se puede visualizar que el tratamiento T4 mostró la mayor uniformidad (92%), seguido de T2 y T3 (85%), mientras que T1 presentó el valor más bajo (75%).

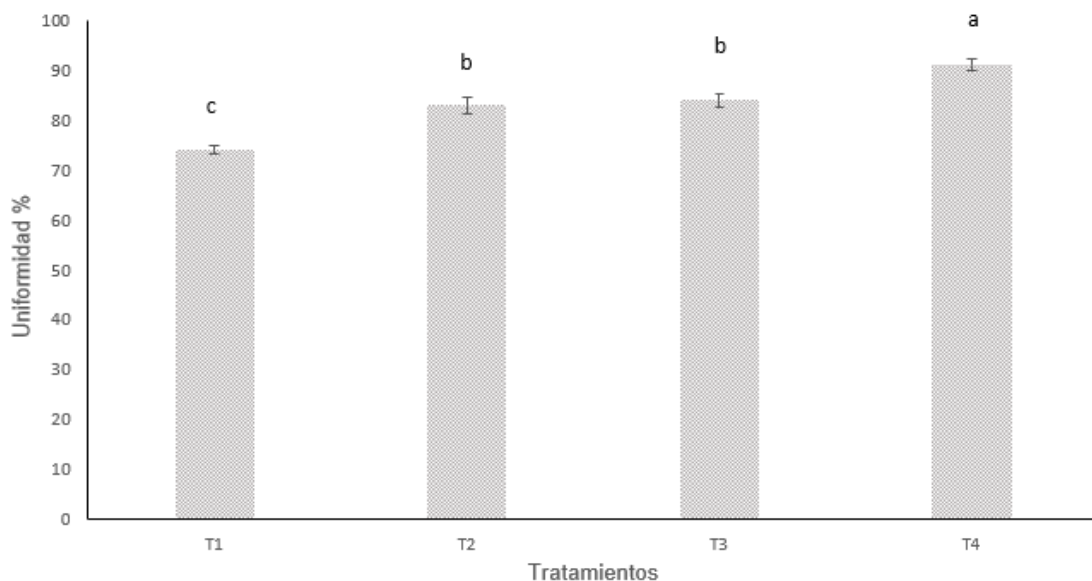


Figura 5. Uniformidad promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos. Las barras representan la media y la línea vertical sobre la barra representa la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas, prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 5. Average uniformity of larvae per production cycle of the treatments. The bars represent the mean and the vertical line above the bar represents the standard deviation. Different letters denote significant differences, Tukey test ($\alpha = 0,05$).

Supervivencia

T4 mostró la mayor tasa de supervivencia (70%), seguido de T2 (62%), mientras que T1 y T3 presentaron tasas más bajas (55% y 60%, respectivamente) (Fig 6).

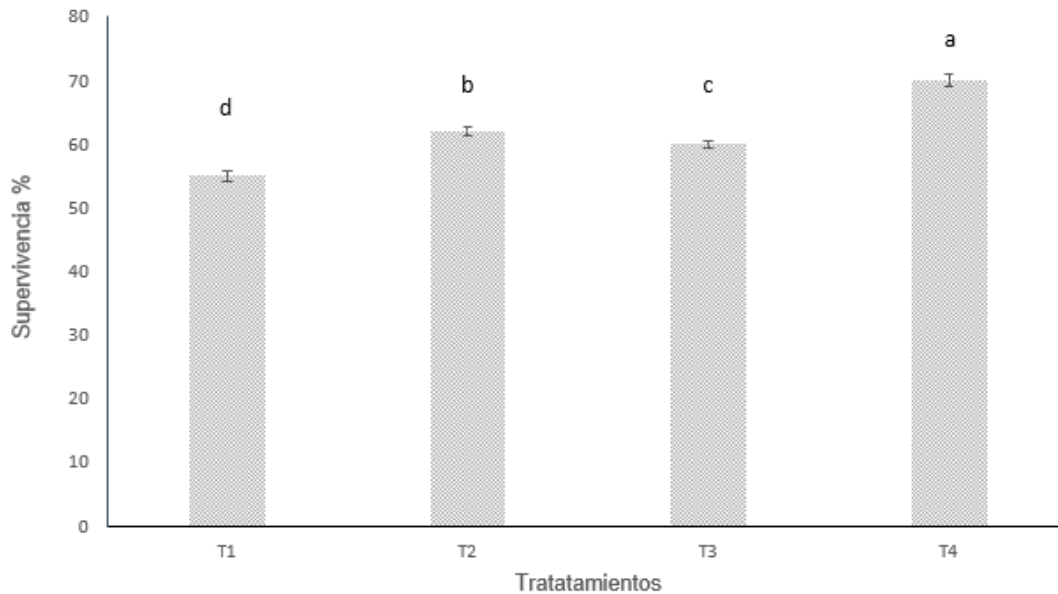


Figura 6. Supervivencia promedio de las larvas por ciclo de producción de los tratamientos. Las barras representan la media y la línea vertical sobre la barra representa la desviación estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas, prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Figure 6. Average larval survival per production cycle for the treatments. The bars represent the mean and the vertical line above the bar represents the standard deviation. Different letters denote significant differences, Tukey test ($\alpha = 0,05$).

Costo beneficio

El análisis costo-beneficio evaluó el impacto económico del uso de distintos probióticos en los ciclos de producción (Tabla 5). El tratamiento T1, sin uso de probiótico, presentó el menor costo total (\$1228,99), pero también una menor cantidad facturada (\$275,00). Los tratamientos T2 y T3, que incluyeron probióticos A y B, mostraron costos totales de \$1356,67 y \$1397,05 respectivamente, con un costo por millar similar (\$0,43). T4, con probiótico C, tuvo el mayor costo total (\$1595,27) y el costo por millar más alto (\$0,45), aunque reflejó un beneficio por millar ligeramente mayor debido al mayor número de unidades facturadas (\$350,00). Este análisis permite evaluar la relación entre inversión y rendimiento económico en cada tratamiento.

Tabla 5. Estimación económica a través del análisis Costo-Beneficio de los diferentes tratamientos de probióticos comerciales.

Table 5. Economic estimation through the Cost-Benefit analysis of the different commercial probiotic treatments.

| Tratamiento | Probiótico | Costo total (\$) | Cantidad facturada | Costo por millar (\$) |
|-------------|------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| T1 | Ninguno | 1.228,99 | 275.000 | 0,44 |
| T2 | A | 1.356,67 | 310.000 | 0,43 |
| T3 | B | 1.397,05 | 300.000 | 0,43 |
| T4 | C | 1.595,27 | 350.000 | 0,45 |

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que el uso de probióticos comerciales reduce significativamente la carga microbiana potencialmente patógena en cultivos de larvas de *Penaeus vannamei*. En los tratamientos con probióticos (T2, T3 y T4), la concentración de *Vibrio* spp. y hongos filamentosos fueron menores en comparación con el grupo control (T1), donde se observó una carga microbiana considerablemente mayor. El tratamiento T4 mostró la mayor reducción de *Vibrio* spp., con valores de 59, 11,2 y 23,8 UFC/mL para *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus*, respectivamente. Estos hallazgos coinciden con estudios previos que evidencian la capacidad de los probióticos para modular la microbiota y estimular la respuesta inmune en organismos acuáticos (Nayak 2010). Además, se ha reportado que su inclusión en la dieta mejora la supervivencia de larvas de *P. vannamei* (Campa-Córdova *et al.* 2020). El mecanismo de acción de los probióticos puede estar relacionado con la producción de compuestos antimicrobianos, competencia por nutrientes y exclusión competitiva, limitando el crecimiento de microorganismos patógenos en el ambiente de cultivo (Zhu *et al.* 2021). En este sentido, la reducción de *Pseudomonas* spp. y hongos filamentosos en los tratamientos con probióticos sugieren un efecto modulador sobre la microbiota del agua, favoreciendo un ambiente más estable para el desarrollo larval.

En cuanto a las patologías observadas, el grupo control (T1) presentó las tasas más altas de flacidez (78,20%), larvas azules (85,40 %) y necrosis muscular (96%). Las deformidades observadas —como malformaciones apendiculares, alteraciones branquiales y otros tipos de deformidad morfológica— en larvas de *P. vannamei* pueden responder a múltiples factores de estrés durante el cultivo temprano, como perturbaciones ambientales, deficiencias nutricionales o infecciones subclínicas. Por ejemplo, estudios han documentado que la exposición a plaguicidas neonicotinoides incrementa significativamente la tasa de deformidades larvales en *P. vannamei*, afectando aspectos estructurales y funcionales del organismo en desarrollo (Rojo-Arreola *et al.* 2020). Asimismo, la presencia de bacterias patógenas del género *Vibrio* spp., responsables de síndromes como el “zoea 2” o la necrosis aguda de hepatopáncreas (AHPND) en larvas, se ha asociado con bajas tasas de supervivencia y daños histológicos que pueden manifestarse también a nivel morfológico (Reyes *et al.* 2023; Intriago *et al.* 2023). En este contexto, las deformidades apendiculares y branquiales que se presentan podrían interpretarse como una respuesta somática al estrés fisiológico, que compromete la normalidad del desarrollo larval y que, de persistir, puede tener implicaciones negativas para el rendimiento del cultivo. Por tanto, es imprescindible que los programas de crianza de larvas incluyan monitoreos detallados de calidad de agua, alimentación balanceada y vigilancia microbiológica, ya que la interacción de estos factores condiciona la aparición de alteraciones morfológicas tempranas que, aunque quizá no provoquen mortalidad inmediata, reducen la calidad y viabilidad de los juveniles.

En este sentido los probióticos evaluados mostraron eficiencia en cuanto a reducir las patologías evaluadas, siendo el tratamiento T4 el que mostró reducciones notables en flacidez (24,0%), larvas azules (13,8%) y necrosis muscular (20,0%). Diversos estudios han indicado que la aplicación de probióticos en el agua y la dieta de *P. vannamei* mejora su colonización en el tracto gastrointestinal, fortalece el sistema inmune y aumenta la resistencia a infecciones bacterianas, lo que se traduce en una mayor supervivencia y rendimiento del crecimiento (Kumar *et al.* 2008). Entre los probióticos evaluados, las especies del género *Bacillus* han demostrado ser particularmente efectivas debido a la producción de metabolitos antimicrobianos como glucopéptidos, lipopéptidos, péptidos cíclicos y bacteriocinas (Soltani *et al.* 2019). Además, *Bacillus* spp. mejora la digestión y absorción de nutrientes al sintetizar enzimas digestivas, estimula la microflora intestinal beneficiosa y fortalece la inmunidad innata y adaptativa del camarón (Kuebutornye *et al.* 2020).

Por otro lado, los parámetros de crecimiento también mostraron mejoras significativas en los tratamientos con probióticos. El tratamiento T4 presentó la mayor densidad larval final (50 PL/g), mayor peso promedio (20 mg), mayor longitud final (9 mm) y una biomasa final superior (3.889 g) en comparación con el grupo control (1.964 g). Estos resultados respaldan el uso de probióticos como promotores del crecimiento en sistemas acuícolas, ya que optimizan la digestión y absorción de nutrientes (Nayak 2010). Además, la uniformidad en el desarrollo larval fue mayor en T4 (92%) en comparación con T1 (75%). En términos de supervivencia, T4 obtuvo la tasa más alta (70%), seguido de T2 (62%), mientras que T1 y T3 presentaron valores menores (55% y 60%, respectivamente). La mayor supervivencia en T4 podría contribuir a la mejora en la calidad del agua, la reducción de patógenos y la estimulación de la respuesta inmune. Otros estudios han reportado efectos positivos al incluir combinaciones de probióticos como *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Thiobacillus* y complejos enzimáticos en la dieta de larvas de camarón, resultando en mejoras significativas en crecimiento, supervivencia y eficiencia alimenticia (Altamirano Ruiz 2009).

El uso individual del probiótico B mostró menor efectividad en comparación con el probiótico C, lo que podría estar relacionado con su composición de una sola cepa bacteriana, en concordancia con lo reportado por Villamil Díaz y Martínez Silva (2016). Estudios previos han destacado que la combinación de cepas probióticas puede ser más beneficiosa que los probióticos monoespecie, mejorando la supervivencia y el crecimiento del camarón (Toledo et al. 2018). En esta línea, Indariyanti y Aprilia (2022) demostraron que una combinación de *Lactobacillus* y *Bacillus* aumentó el apetito de las postlarvas y optimizó la digestión de proteínas, favoreciendo la absorción de nutrientes. Investigaciones previas han reportado efectos positivos de probióticos como *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*, con tasas de supervivencia superiores al 60% en comparación con el grupo control (<55%), donde se observaron signos de necrosis branquial y muscular (Cárdenas Canizalez 2024). Del mismo modo, Boonanuntanasarn et al. (2016) encontraron que *B. subtilis* incrementó la abundancia de bacterias benéficas y redujo la presencia de *Vibrio* spp. en el intestino del camarón, mientras que Toledo et al. (2018) reportaron efectos similares al administrar *Bacillus* spp. en la dieta.

Finalmente, en el análisis de costo-beneficio evidenció que el tratamiento T4, con probiótico, presentó el mayor costo total (\$1595,27) y el costo por millar más alto (\$0,45). No obstante, este tratamiento también reflejó un mayor rendimiento productivo, justificando la inversión. Estos resultados coinciden con lo reportado por Calderón et al. (2023), quienes destacaron que el uso de cepas probióticas como *B. subtilis* y *B. licheniformis* incrementa la supervivencia en cultivos intensivos de *P. vannamei*, reduciendo los costos operativos a largo plazo. Además, Monier et al. (2023) demostraron que la adición de *Bacillus* spp. directamente al agua de cultivo mejora la uniformidad y supervivencia, confirmando su viabilidad económica.

CONCLUSIONES

La incorporación de probióticos en la dieta de larvas de *Penaeus vannamei* demostró ser una estrategia viable para mejorar el crecimiento y la supervivencia en cultivos acuícolas. El tratamiento T4, compuesto por *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* y *B. pumilus*, presentó las tasas de crecimiento más altas, con valores promedio de 50 PL/g, 20 mg de peso, 9 mm de longitud y una uniformidad del 92 %. Adicionalmente, la inclusión del probiótico C favoreció la biomasa final (3.889 g), mejoró el factor de conversión alimenticia (1,15) y aumentó la tasa de supervivencia (70 %), así como una mejor relación costo beneficio.

Durante los ciclos de producción, las especies de *Vibrio* estuvieron presentes en todos los tratamientos, pero se registraron concentraciones significativamente más altas en el grupo control. En este, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *Pseudomonas* sp. alcanzaron valores elevados, mientras que en los tratamientos con probióticos (A, B y C), sus niveles se mantuvieron bajos, evidenciando el efecto beneficioso de estos microorganismos en la reducción de patógenos.

Declaración de conflicto de interés de los autores

Los autores declaran no tener conflictos de interés relacionado con el presente trabajo.

Declaración de buenas prácticas en el uso de seres vivos

Los autores declaran haber seguido todas las pautas internacionales, nacionales o institucionales aplicables para el cuidado y uso de animales en la realización del presente trabajo, siguiendo los protocolos establecidos en los laboratorios de referencia.

Declaración de contribución de autoría (CrediT)

Clara Esperanza Lozano Farias: Desarrollo de metodología, actividades de gestión de análisis de laboratorio y realización bioensayos; *Fernando Abasolo-Pacheco*: Conceptualización. Responsable de ejecución de la investigación. *Angie Milena Gallo Saldarriaga*: Depuración de datos y organización de datos para tratamiento estadístico. *Danna Belén Castillo Quijije*: Análisis formal, redacción, revisión y edición. Redacción de borrador.

Agradecimientos

Los autores agradecen al laboratorio de cultivo de larvas por el apoyo logístico otorgado al presente trabajo. A la Facultad de Posgrado de la UTEQ y a SENEcyT por la beca otorgada a la estudiante de posgrado Lozano Farias.

REFERENCIAS

- Altamirano Ruiz C.R. (2009). Evaluación de la efectividad del Probiótico “Sanolife Pro” en estanques de cultivo de camarones “*Litopenaeus vannamei*” en la Granja Acuicultura Torrecillas, Chinandega, Nicaragua, en el periodo comprendido de Junio a Septiembre, 2008. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/1846/1/212294.pdf>
- Aragón-Noriega E.A. (2016). Crecimiento individual de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) y camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874) (Decapoda: Penaeidae) con un enfoque multi-modelo. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44(3):480–486. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue3-fulltext-6>
- Arzola González J.F., Flores Campaña L.M., Izabal Ceja A., Gutiérrez Rubio Y. (2008). Crecimiento de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en un estanque rústico a baja salinidad. *AquaTIC* 28, 8–15. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49418026002>
- Boonanuntanasarn S., Wongsasak U., Pitaksong T., Chaijamrus S. (2016). Effects of dietary supplementation with β -glucan and synbiotics on growth, haemolymph chemistry, and intestinal microbiota and morphology in the Pacific white shrimp. *Aquaculture Nutrition* 22(4):837–845. <https://doi.org/10.1111/ANU.12302>
- Calderón Y.A., Cruz A.A., Naderkhani G. (2023). Efectos de *Bacillus* sp. como bacterias biofloculantes en el cultivo del camarón. *Revista de Producción Animal* 35(3):93–107. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202023000300093
- Campa-Córdova A.I., Yenni-Morales C., Guzmán-Murillo M.A., Aguirre-Guzman G. (2020). Evaluación de la respuesta productiva e inmune en juveniles de camarón *Litopenaeus vannamei* alimentado con mezclas probióticas. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 55(1):73–78. <https://doi.org/10.22370/RBMO.2020.55.1.2394>
- Cárdenas Canizalez A. (2024). Efecto de bacterias heterótrofas con actividad desnitrificante aeróbica y agente biocontrol en el cultivo de juveniles de *Penaeus vannamei*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México. http://repositorio.uas.edu.mx/jspui/handle/DGB_UAS/724
- Coello Galvez R.P. (2021). Efectos de la Aplicación de Bacterias Biorremediadoras (*Bacillus* sp.) al Agua de Estanque Acuicolas, Frente a Vibrios Patogenos. Tesis de pregrado. Universidad Técnica de Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/16578>
- Decamp O., Moriarty D.J.W., Lavens P. (2008). Probiotics for shrimp larviculture: Review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research* 39(4):334–338. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2007.01664.X>
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y de la acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma. <https://www.fao.org/3/i5555s/i5555s.pdf>
- González Salas R., Vidal del Río M., Pimienta Concepción I. (2021). Uso intensivo de antibióticos profilácticos en la acuicultura: un problema creciente para la salud humana y animal. *Revista Universidad y Sociedad* 13(2):204–210. <https://redi.cedia.edu.ec/document/296469>
- Gutiérrez-Falcón A, Padilla D., Ramos Sosa, M.J, Martín Barrasa, J.L, Acosta-Hernández B., Sánchez Henao A., ... Real F. (2020). Caracterización in vitro de nuevas cepas bacterianas con potencial efecto probiótico cruzado contra la vibriosis en especies de peces relevantes para la acuicultura marina. *Journal of Applied Animal Research* 48(1):553–558. <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1844714>

- Hai N.V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology* 119(4):917–935. <https://doi.org/10.1111/JAM.12886>,
- Indariyanti N., Aprilia T. (2022). Probiotic Supplementation in Feed on Nutritional Quality, Feed Efficiency, and the Growth of Vannamei Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1012(1):012044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1012/1/012044>
- Intriago P., Medina A., Espinoza J., Enriquez X., Arteaga K., Aranguren L.F., Shinn A.P. (2023). Acute mortality of *Penaeus vannamei* larvae in farm hatcheries associated with the presence of *Vibrio* sp. carrying the VpPirAB toxin genes. *Aquaculture International* 31(6):3363–3382. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01129-0>
- Kuebutornye F.K.A., Abarike E.D., Lu Y., Hlordzi V., Sakyi M.E., Afriyie G., Wang Z., Li Y., Xie C.X. (2020). Mechanisms and the role of probiotic *Bacillus* in mitigating fish pathogens in aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry* 46(3):819–841. <https://doi.org/10.1007/S10695-019-00754-Y>
- López L.G.L., Galeano M.J.A., Salinas M.L.R., Sirias M.C.H., González J.E.M. (2015). Crecimiento de los camarones *Litopenaeus vannamei* en etapa de juveniles en dos sistemas de alimentación: 1.-dieta comercial combinada con melaza y 2.-dieta comercial mezclada con semolina y melaza. *Universitas (León)* 6(1):121-130.
- Melgar Valdes C.E., Barba Macías E., Álvarez-González C.A., Tovilla Hernández C., Sánchez A.J. (2013). Efecto de microorganismos con potencial probiótico en la calidad del agua y el crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) en cultivo intensivo. *Revista de Biología Tropical* 61(3):1215–1228. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442013000400018&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Monier M.N., Kabary H., Elfeky A., Saadony S., El-Hamed N.N.B.A., Eissa M.E.H., Eissa E.S.H. (2023). The effects of *Bacillus* species probiotics (*Bacillus subtilis* and *B. licheniformis*) on the water quality, immune responses, and resistance of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Fusarium solani* infection. *Aquaculture International* 31(6):3437–3455. <https://doi.org/10.1007/S10499-023-01136-1/METRICS>
- Morales-Covarrubias M.S., Ruiz-Luna A., Pereira Moura-Lemus A., Solís Montiel V.T., Conroy G. (2011). Prevalencia de Enfermedades de Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*) Cultivado en Ocho Regiones de Latinoamérica. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias -LUZ* 21(5):434- 446.
- Morales Q.V., Cuéllar-Anjel J. (2014). Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. OIRSA, Panamá, Rep. de Panamá. 382 (Vol. 01, Issue 01).
- Moreno Herrera C.X. (2002). Polimorfismo intracromosómico de los genes del rRNA 16S y presencia de genes relacionados con patogenicidad en aislados ambientales del género vibrio en la costa chilena. Tesis de doctorado. Universidad de Chile, Santiago, Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/106683>
- Nayak S.K. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology* 29(1):2–14. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2010.02.017>
- Olmos Soto J. (2021). Feed intake improvement, gut microbiota modulation and pathogens control by using *Bacillus* species in shrimp aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 37(2):1–7. <https://doi.org/10.1007/S11274-020-02987-Z/METRICS>
- Pérez-Chabela M. de L., Alvarez-Cisneros Y.M., Soriano-Santos J., Pérez-Hernández M.A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica* 30(1):93–105. <https://doi.org/10.24275/UAM/IZT/DCBS/HIDRO/2020V30N1/PEREZ>
- Reyes G., Andrade B., Betancourt I., Panchana F., Solórzano R., Preciado C., Sorroza L., Trujillo L.E., Bayot B. (2023). Microbial signature profiles of *Penaeus vannamei* larvae in low-survival hatchery tanks affected by vibriosis. *PeerJ* 11:e15795. <https://doi.org/10.7717/peerj.15795>

- Rojo-Arreola L., García-Carreño F., Romero R., Díaz Domínguez L. (2020). Proteolytic profile of larval developmental stages of *Penaeus vannamei*: An activity and mRNA expression approach. *PLoS ONE* 15(9):e0239413. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239413>
- Soltani M., Ghosh K., Hoseinifar S.H., Kumar V., Lymbery A.J., Roy S., Ringø E. (2019). Genus *Bacillus*, promising probiotics in aquaculture: Aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 27(3):331–379. <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1597010>
- Soriano Aquino R.R. (2017). Efecto de la harina de espirulina *Arthrospira platensis* como complemento alimenticio sobre el crecimiento y supervivencia de la zoea y mysis de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Tumbes, Perú.
- Toledo A., Castillo N.M., Carrillo O., Arenal A. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal* 30(2):57–71. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Villamil Díaz L., Martínez Silva M.A. (2016). Probióticos Como Herramienta Biotecnológica en el Cultivo de Camarón: Reseña. *Bulletin of Marine and Coastal Research* 38(2):165–187. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2009.38.2.177>
- Vinatea L., Muedas W., Arantes R. (2011). The impact of oxygen consumption by the shrimp *Litopenaeus vannamei* according to body weight, temperature, salinity and stocking density on pond aeration: A simulation. *Acta Scientiarum - Biological Sciences* 33(2):125–132. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v33i2.7018>
- Xue M., Wen C., Liang H., Ding M., Wu Y., Li X. (2016). In vivo evaluation of the effects of commercial *Bacillus* probiotics on survival and development of *Litopenaeus vannamei* larvae during the early hatchery period. *Aquaculture Research* 47(5):1661–1669.
- Zhu X.H., Zhang S., Zhou L., Ao S., Tang H., Zhou Y., Chen Q., Gao X., Jiang Q., Zhang X. (2021). Probiotic potential of *Bacillus velezensis*: Antimicrobial activity against non-O1 *Vibrio cholerae* and immune enhancement effects on *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture* 541:736817. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2021.736817>
- Zokaei Far H., Roos C., Saad B., Daud H.M., Harmin S.A., Shakibazadeh S. (2009). Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *African Journal of Biotechnology* 8(14):3369–3376. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/61100>

