



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

Diseño de un protocolo de inclusión de aceites esenciales, como profiláctico y nutraceutico, para la optimización del proceso de producción de camarón blanco (*Penaeus vannamei*).

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Acuícola

Presentado por:

Rebeca Noemí Reyes Campoverde

César Enrique Valle Cedeño

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO 2021

DEDICATORIA

Este logro quiero dedicárselo a Dios, quién me ha permitido cumplir con tantos deseos y metas, quién me cuidó durante todos estos años, sin él no hubiese podido alcanzar nada.

A mis padres Blenda y Raúl, les quiero decir que todo lo que hago es por ustedes y para ustedes, cumplirles el sueño de verme como una profesional me llena de tanta alegría, todos los sacrificios y el apoyo que me han brindado se ven reflejados en este momento. Gracias mami por ser esa amiga incondicional y por siempre sentirte orgullosa de cada paso que doy. Gracias papi por impulsarme a ser mejor cada día y por apoyarme en las decisiones que tomo. A mi hermano Adrián, por ser paciente y apoyarme desde ese silencio tan acogedor que él tiene, te debo mucho hermano.

A mis abuelitos, José, Bélgica, Yolanda y mi angelito Bolívar desde el cielo, quienes desde el día 1 me motivaron a no rendirme y por inspirarme a cumplir el sueño de ver a sus nietos graduados. A mis tíos y primos por estar presentes en cada etapa importante en mi vida, por animarme y alentarme a siempre dar lo mejor de mí. A mi gordito y panchito, quienes me vieron empezar este largo camino, me acompañaron en todo momento sea bueno o malo pero siempre a mi lado.

A mi querida ESPOL, por convertirse en mi segundo hogar, donde logré crecer tanto personal como profesionalmente, por permitirme conocer a grandes personas que con el tiempo se convirtieron en hermanos. Gracias a mi team acuí, porque con ustedes aprendí el significado de amistad, lealtad y compañerismo, gracias por todos los buenos momentos que compartimos, por las vivencias y por todos los recuerdos que guardaré con mucho cariño en mi corazón.

En el transcurso de mi etapa universitaria conocí en el momento exacto a una persona, que se convirtió en mi mejor amigo, mi compañero de llantos, alegrías y también de materias. Gracias a ti mi Sebas, aprendí a apreciar cada momento y vivir el ahora, gracias por motivarme a lograr cosas que yo sola no hubiese podido, por ser mi apoyo, por amarme y por quedarte.

Rebeca Reyes

DEDICATORIA

Dedico este trabajo al creador de todas las cosas, él fue una guía indispensable en mi preparación profesional, me dió fortalezas en momentos que estuve a punto de caer y dejarlo todo; por ello dedico primeramente este trabajo a Dios.

De igual manera dedico este logro a mis padres, Maria Cedeño Cedeño y César Valle Veliz que han sido el pilar fundamental para poder cumplir esta meta. Les agradezco enormemente por haberme formado con valores y saber aconsejar en los momentos más difíciles. Hoy en día quiero expresar que me llena de orgullo poder decir que gracias a ustedes pude alcanzar la meta anhelada. También me gustaría dedicarles este logro a mis abuelitos Rosa Veliz y Samuel Cedeño, además de mis tíos y hermanos.

A mis grandes maestros, el PhD Marco Alvarez por transmitir sus experiencias y conocimientos, al Msc Jerry Landivar y al PhD Victor Osorio por explicar con paciencia y despejar las dudas académicas durante las clases. A mi pareja Mickaela Escobar que ha sido de gran apoyo para el desarrollo de esta investigación.

A mis grandes amigos que han sido y seguirán siendo piezas fundamentales en mi vida personal y profesional, a Darwin Chuya, Roy Quimi y María Nuñez.

César Valle Cedeño

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme permitido alcanzar este logro de mucha importancia en mi vida. A nuestro tutor de tesis, MSc. Adrián Márquez por confiar en nuestro proyecto, ayudarnos, guiarnos y motivarnos en todo el transcurso de esta investigación, además de ser uno de los mejores maestros que logré tener en mi etapa universitaria, por inculcar las ganas de ser excelentes profesionales.

También quiero extender mis agradecimientos a nuestros queridos profesores de FIMCM - ESPOL, en especial a los Ph.D. Marco Álvarez, Wilfrido Arguello, Francisca Burgos, Víctor Osorio; los MSc. Enrique Blacio, Eduardo Cervantes, Jerry Landivar, por ser los pilares fundamentales en mi formación como estudiante a través de los conocimientos brindados con mucha paciencia, dedicación y pasión en las aulas de clases, de donde me llevo grandes y buenos recuerdos.

Rebeca Reyes

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mis agradecimientos a Dios por permitirme formarme como profesional y a nuestro tutor de tesis, MSc. Adrián Márquez por su dedicación y apoyo para el desarrollo de esta investigación. A los excelentes profesionales que tuve la dicha de ser su alumno en especial a: PhD. Marco Alvarez por haber compartido sus experiencias laborales, PhD Stanislaus Sonnenholzner por compartir tan buenos conocimientos, al Msc Eduardo Cervantes por ser una pieza fundamental en nuestra formación académica. A la Phd Francisca Burgos, Ph.D. Bonny Bayot, Ph.D. Wilfrido Arguello y Víctor Osorio y al MSc. Enrique Blacio por pertenecer al maravilloso grupo de profesionales que conforman la ESPOL.

Finalmente, me gustaría agradecer a mis padres por el apoyo indispensable que fueron en esta etapa de mi vida. Y a los grandes profesionales que formaron parte de mi preparación profesional, como es la MSc Silvia Medranda y blga Liliana Merchán, entre otros.

César Valle Cedeño

DECLARACIÓN EXPRESADA

“Los derechos de titularidad y explotación, me(nos) corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Rebeca Noemí Reyes Campoverde* y *César Enrique Valle Cedeño*, doy(damos) mi(nuestro) consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Rebeca Noemí Reyes
Campoverde



César Enrique Valle
Cedeño

EVALUADORES

Jerry Landivar *Msc.*

Profesor de la materia



Firmado electrónicamente por:

**ADRIAN JOSE
MARQUEZ
MONTIEL**

Adrián Márquez *Msc.*

Profesor tutor

RESUMEN

Esta investigación tiene la finalidad de proponer un protocolo de selección e inclusión de aceites esenciales (EOs) para el cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) para mejorar la supervivencia en las etapas productivas, reduciendo así la incidencia de infecciones bacterianas del género *Vibrio spp*, además de ser una alternativa amigable con el medio ambiente al incorporar quimiotratamientos de bajo impacto ambiental. El desarrollo de este proyecto se basó en el análisis bibliográfico, donde se utilizaron los siguientes criterios para evaluar las mejores alternativas, tales como: 1) Identificación de propiedades bioquímicas de los EOs, 2) vías de administración, 3) toxicología, 4) y la actividad nutracéutica al ser incorporado en el alimento balanceado. Después de haber realizado la evaluación de los criterios se determinó que los aceites esenciales obtenidos del árbol de té (EOMa) y orégano (EOOv) son los que poseen mayor bioactividad (antimicrobiana y efectos sobre el quorum sensing) de bacterias de impacto para la acuicultura necesitando una menor concentración para obtener el mismo o mayor efecto que el resto de los aceites esenciales revisados bibliográficamente. Finalmente, es importante recalcar que este protocolo puede ser utilizado en cualquiera de las etapas productivas del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) debido que ha sido pensado para juveniles y adultos. Demostrando ser una alternativa sustentable y eficiente para el control de enfermedades bacterianas que cada vez toman más auge dentro de la industria acuícola.

Palabras clave: Aceites esenciales, compuestos bioactivos, *Vibrios*, propiedades bioquímicas.

ABSTRACT

This research aims to propose a protocol for the selection and inclusion of essential oils (EOs) for the cultivation of white shrimp (*Penaeus vannamei*) to improve survival in the production stages, thus reducing the incidence of bacterial infections of the genus *Vibrio* spp, as well as being an environmentally friendly alternative by incorporating low environmental impact chemotherapies. The development of this project was based on bibliographic analysis, where the subsequent studies were used to evaluate the best alternatives, such as 1) Attempted biochemical properties of EOs, 2) administration pathways, 3) toxicology, 4) and nutraceutical activity when incorporated into the feed. After the evaluation of the criteria, it was determined that the essential oils obtained from the tea tree (EOMa) and oregano (EOOv) are those with the most significant bioactivity (antimicrobial and effects on quorum sensing) of aquaculture-impacting bacteria requiring a lower concentration to obtain the same or more significant impact than the rest of the essential oils reviewed bibliographically. Finally, it is relevant to emphasize that this protocol can be used in any of the productive stages of the white shrimp (*Penaeus vannamei*) because it has been designed for juveniles and adults. It was proving to be a sustainable and efficient alternative for controlling bacterial diseases that are increasingly taking hold within the aquaculture industry.

Keywords: Essential oils, bioactive compounds, *Vibrios*, biochemical properties.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ABREVIATURAS	V
SIMBOLOGIAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción del problema	3
1.2. Justificación del problema	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Marco teórico	4
1.4.1. Camaronicultura.....	4
1.4.2. Enfermedades	5
1.4.3. Vibriosis	7
1.4.4. Métodos para control de enfermedades.....	7
1.4.5. Uso de aceites esenciales en Acuicultura	10
CAPITULO II.....	14
2. METODOLOGÍA.....	14
2.1 Selección de aceites esenciales.....	14
2.2 Selección de aceites esenciales en base a sus propiedades bioquímicas.....	14
2.3 Vías de aplicación de los aceites esenciales.	15
2.3.1. Inclusión de los EOs en el pienso alimenticio.....	15
2.3.2. Inmersión o adición directa	16
2.3.3. Encapsulación	16
2.3.4. Microencapsulación	17
2.4. Evaluación de las propiedades bacteriostáticas y bacteriológicas	18
2.5. Evaluación de la toxicidad de los EOs.....	18
2.6. Evaluación de las propiedades nutraceuticas.....	20
2.6.1. Los carotenoides.....	20

2.6.2.	Ácido linoleico conjugados.....	20
2.6.3.	Flavonoides	20
2.6.4.	Derivados de aminoácidos que contienen nitrógeno(N) y azufre(S).....	21
2.6.5.	Ácidos grasos poliinsaturados omega 3.....	21
2.6.6.	Terpenoides.....	21
2.7.	Diseño del protocolo según los criterios establecidos.....	21
	CAPITULO III.....	24
3.	RESULTADOS Y ANALISIS.....	24
3.1.	Selección de aceites esenciales.....	24
3.2.	Vías de aplicación de los EOs.....	26
3.3.	Selección de las combinaciones y efectos esperados.....	28
3.4.	Protocolo.....	30
	CAPITULO IV.....	32
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
4.1	CONCLUSIONES	32
4.2	RECOMENDACIONES.....	32
4.3	BIBLIOGRAFIA.....	¡Error! Marcador no definido.
	Bibliografía	34
	APÉNDICE	49

ABREVIATURAS

AOCC: Ácidos orgánicos de cadena corta

AOCM: Ácidos orgánicos de cadena media

CENAIM: Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas

EMS: Síndrome de la mortalidad temprana

EOs: Aceites esenciales

MIC: Mínima Concentración Inhibitoria

OD: Oxígeno disuelto

QS: Quorum sensing

SIMBOLOGIAS

UFC/mL: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

MMT: Miles de toneladas métricas.

PPT: Partes por mil (g/L)

PPM: Partes por millón (mg/L)

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 : Proyección de los productores de camarón en el mundo. Fuente: [8].....	5
Figura.1.2 : Países productores de camarón en América Latina, Fuente: [8].....	5
Figura. 2.1 : Inclusión de los EO's en el pienso alimenticio. Elaborado por: [47]	16
Figura 2.2 Inmersión o adición directa de los EOs. Elaborado por: [47]	16
Figura 2.3 : Proceso de los aceites esenciales. Fuente: [67].....	17
Figura. 2.4 : Recubrimiento convencional vs recubrimiento matricial. Fuente: [70].....	17
Figura 2.5 :Esquema del flujo de desiciones para aplicar EOs en el cultivo de camarón blanco (Penaeus vannamei). Elaborado por: [47].....	23
Figura.3.1 : Esquema del procedimiento para la obtención del protocolo. Elaborado por: [47].....	24
Figura 3.2 : Vías de administración de los EOs en diferentes etapas del cultivo según las fuentes bibliograficas.	27
Figura. 3.3 : Estructura del protocolo de aplicación de EOs en camarones blancos (Penaeus vannamei). Elaborado por: [47]	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Principales patologías asociadas al cultivo de camarón blanco (<i>P. vannamei</i>). Fuente: [20].....	6
Tabla 1.2: Estudios sobre los efectos de los aceites esenciales en especies de interés acuícola. Elaborado por: [47].....	12
Tabla 2.1 : Evaluación de la toxicidad de los EOs en diferentes organismo acuáticos de interes acuícola. Elaborado por: [47].....	19
Tabla 3.1 : Evaluación de las vías de administración de los EOs en función de tres variables. Elaborado por: [47].....	26
Tabla 3.2 : Componentes nutricionales esenciales de cada uno de los EOs utilizados en el desarrollo del protocolo. Elaborado por: [47]	28
Tabla 3.3 : Concentraciones finales de las combinaciones porcentuales de aceite esencial (Eos) de orégano (EOOv) y árbol de Té (EOMa). Elaborada por: [47].....	29
Tabla 3.4 : Concentraciones finales de las combinaciones porcentuales de aceite esencial (EOs) en el ensayo In vivo con las larvas de camarón blanco (<i>Penaeus vannamei</i>) utilizando aceites esencial de orégano (EOOv) y árbol de Té (EOMa). Elaborada por: [47].....	30

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente demanda de alimentos y crecimiento poblacional mundial, la acuicultura surge como la única alternativa sostenible para asegurar el alimento en el futuro [1]. Por ejemplo, en el 2016 se produjeron 110.2 MMT (Millones de toneladas) y la acuicultura representó el 51,5% [2] para el año 2018, se produjo 114.5 MMT (53 % por acuicultura) y se prevé que para el 2030 la producción mundial de acuicultura aumente hasta el 63% del total mundial de productos del mar [3]. En Latinoamérica, la camaronicultura representa una fuente de ingresos para los distintos países productores, con marcada notoriedad para Ecuador, donde la producción ha crecido de forma acelerada y sostenida en los últimos 10 años, convirtiéndolo en el primer producto no petrolero del país [4], que aún cuando la producción mundial del camarón representa el cuarto lugar en volumen de producción mundial, es el segundo en valor de producción y es justo allí donde destaca su relevancia [3].

Uno de los desafíos más grandes que enfrenta la camaronicultura son las enfermedades emergentes, generalmente producidas por virus, hongos, parásitos y bacterias, estas últimas con énfasis en el género *Vibrio* [5]. Ejemplo del impacto que pueden generar las enfermedades emergentes, fue la crisis camaronera del año 2000 en Ecuador, cuando el virus de la mancha blanca (White Spot Syndrome Virus, WSSV) provocó pérdidas del 70% al 95% de la producción con repercusiones catastróficas en las exportaciones, lo que representó una crisis económica no solo para Ecuador, sino; para muchos países de América Latina [6]. Se estima que las pérdidas monetarias por esta enfermedad hasta la actualidad serían de 10.000 millones USD aproximadamente [7]. Más recientemente en Asia, entre el año 2009 – 2012, la producción de camarón tuvo una reducción de 3,35 MMT a 3,01 MMT por la aparición de una nueva enfermedad que es el Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS) [8]. Afectando varios países como China, Tailandia, Malasia y otros.

Actualmente el protocolo utilizado para el tratamiento de enfermedades se basa en la aplicación de antibióticos, que ayudan a controlar y disminuir la presencia de patógenos en los cultivos, aunque su uso indiscriminado produce un alto impacto ambiental por la incorporación de químicos a los cuerpos naturales de agua y resistencia bacteriana a

través de presión selectiva. El exceso de medicamentos y la no suspensión a tiempo, provoca que el tejido del camarón contenga restos de antibiótico, lo que podría ser tóxico, no solo para el animal sino; para el ser humano y el ambiente, además de contener trazas que afectan su exportabilidad [9].

Otro problema asociado a los antibióticos, es que no son asimilados y son enviados al ambiente a través del alimento que no fue ingerido o restos fecales, convirtiéndose en alimento de organismos detritívoros o especies de organismos que se encuentran en los sistemas de cultivo [10], aumentando la posibilidad de que estas trazas de antibióticos alcancen otro tipo de organismos patógenos y estos se vuelvan resistentes, generando brotes de enfermedades nuevas o reemergentes. Debido a esto y la tendencia en la búsqueda de procesos más sustentables que permitan reducir el impacto de la acuicultura, se están explorando alternativas en el control de enfermedades, mediante el uso de probióticos, ácidos orgánicos, extractos naturales y aceites esenciales.

En los últimos años, los extractos naturales han generado un gran interés en la industria acuícola, por ejemplo, los extractos de plantas como antimicrobianos bloquean la transcripción de virus o patógenos [11], las macroalgas poseen carotenoides que generan una acción antioxidante y antiinflamatoria en los organismos [12]. Mientras que los aceites esenciales han logrado demostrar que mejoran la salud de los organismos, reducen los niveles de estrés y ayudan en el crecimiento óptimo de los camarones, como se demuestra en el estudio de Dominguez, donde se probó la actividad inhibidora de detección de quórum sensing (QS) de cuatro aceites esenciales en ensayos *in vitro* con análisis en larvas de camarón y ensayos *in vivo* controlando la vibriosis en postlarvas (PL8) de *Penaeus vanammei*, mostrando que estos EOs son ideales para reducir las enfermedades provocadas por *Vibrios sp.* y mejorar el rendimiento de los cultivos de camarón. [13]

La intención de este trabajo es dirigir refuerzos hacia el desarrollo de protocolos para el uso de aceites esenciales y proponer usos que mejoren la efectividad del uso sinérgico de EOs en el control de enfermedades de impacto para la camaronicultura.

1.1. Descripción del problema

En la actualidad los antibióticos en la acuicultura se utilizan para contrarrestar enfermedades bacterianas en especial las producidas por *Vibrios* sp. debido a su impacto (muchos de estos producen mortalidades del 90% tanto en postlarvas como juveniles) [5]. Aunque se ha demostrado que los compuestos quimioterapéuticos de alto riesgo ambiental (antibióticos) provocan dos grandes problemas: 1. Resistencia antimicrobiana a los antibióticos y el 2. Liberación de residuales químicos al ambiente, aún se siguen siendo la principal herramienta en el control de enfermedades [14].

Recientemente la regulación del uso de antibióticos implementada en la camaronicultura, deja evidenciando la necesidad de encontrar nuevas alternativas para el control de enfermedades y que a su vez sean amigables con el ambiente. El uso de productos naturales de plantas como los aceites esenciales son una buena opción, porque generan bajo impacto ambiental y no producen resistencia bacteriana, además se ha demostrado que reducen el estrés en los organismos, mejoran el sistema inmunológico y disminuyen la presencia de patógenos en el medio.

1.2. Justificación del problema

La implementación de productos orgánicos como los aceites esenciales (EOs) ha demostrado mejoras en las condiciones de salud y tasas de supervivencia diferentes tipos de organismos en la acuicultura [15]. Y que ciertos EOs sirven como preventivos de enfermedades infecciosas, lo cual pueden ser una estrategia prometedora para la reducción del uso de antibióticos convencionales en la actividad acuícola [16], ya que estos constan con propiedades bioquímicas como antimicrobianos, antioxidantes y antivirales [17].

Por lo que en este estudio se propondrá un diseño de protocolo de selección y aplicación de aceites esenciales para dilucidar si existe un efecto inhibitorio en el crecimiento de bacterias *Vibrios spp.* de impacto para el cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei*).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Diseñar un protocolo de aplicación y selección de aceites esenciales, con probado efecto benéfico en el control de enfermedades en el camarón blanco (*Penaeus vannamei*).

1.3.2. Objetivos específicos

- Identificar los mejores aceites esenciales en base a su efecto y rango de acción para optimizar la producción de camarón blanco (*Penaeus vannamei*).
- Identificar las mejores formas de inclusión de los aceites esenciales según sus propiedades y la fase de cultivo objetivo en la producción de camarón blanco (*Penaeus vannamei*).
- Desarrollo de una propuesta de protocolo para la aplicación individual y mezcla de los aceites identificados con mayor potencial para reducir el uso de antibióticos en el cultivo de camarón (*Penaeus vannamei*).

1.4. Marco teórico

1.4.1. Camaronicultura

La camaronicultura nace en Japón en 1993 basado en el estudio del camarón tigre (*Penaeus japonicus*) para su producción en cautiverio [18], y desde entonces ha ido creciendo en tecnología hasta lo que implica el manejo de la capacidad de carga en procesos altamente eficientes y rentables. Actualmente la producción de camarón predomina en países Asiáticos como China, Tailandia, Vietnam, Indonesia e India, que son los mayores exportadores de camarón en el mundo, aunque también los más afectados por brotes de enfermedades, en el año 2015 sus producciones se vieron afectadas por una nueva enfermedad ocasionando grandes pérdidas con una disminución sostenida del 6% hasta el 2016, donde las producciones incrementaron debido al control parcial de estas enfermedades ([Figura 1.1](#)). [19]

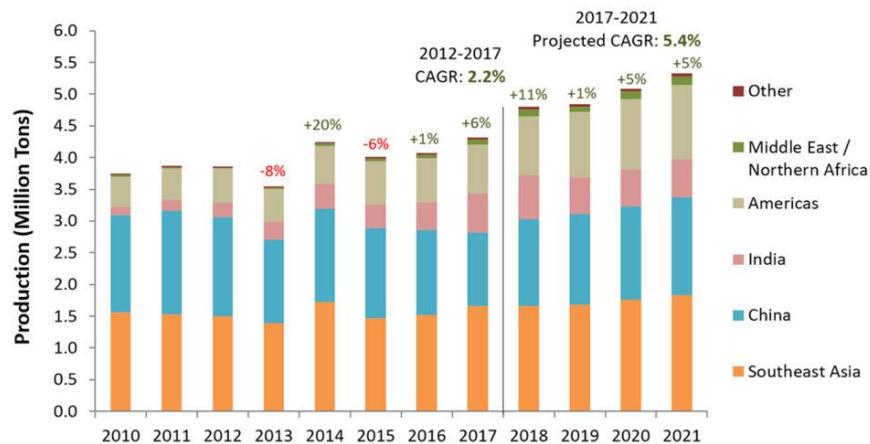


Figura 1.1 : Proyección de los productores de camarón en el mundo. Fuente: [8]

En América Latina los países pioneros en la producción fueron México y Ecuador, además de Brasil, Honduras, Nicaragua y Venezuela con producciones de 676,000 MT en el 2015, y proyecciones para el 2020 de 1MTM para America Latina, con Ecuador como el principal aportante ([Figura 1.2](#)).

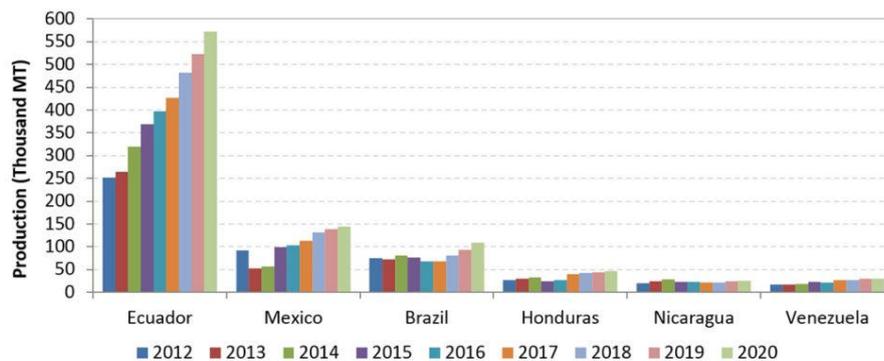


Figura 1.2: Países productores de camarón en América Latina, Fuente: [8]

Ecuador es el mayor productor de América Latina y el tercero a nivel mundial, con un mercado orientado a regiones como Europa y Asia. [8]

1.4.2. Enfermedades

Según el simposio de acuicultura, titulado desafíos sanitarios 2021, uno de los factores limitantes para la producción de camarón a nivel mundial son las enfermedades, estas pueden ser de origen bacteriano, viral, fúngicas y parasitarias. Las enfermedades se clasifican en emergentes y reemergentes, las cuales afectan los cultivos de camarón desde la etapa larvaria hasta engorde ([Tabla 1](#)).

Tabla 1.1 Principales patologías asociadas al cultivo de camarón blanco (*P. vannamei*).

Fuente: [20]

Patologías	Ciclo productivo	
	<u>Fase larvaria</u>	<u>Fase de engorde</u>
Síndrome de las bolitas blancas	X	
Síndrome de Zoea II	X	
Virus de la mancha blanca (WSSV)	X	X
Micosis larvaria	X	
Bacterias extracelulares: Vibriosis	X	X
Necrosis hepatopancreática aguda (NHP)	X	X
Síndrome de la mortalidad temprana (EMS)	X	X
Virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV)	X	X
Baculovirus penaei (BP)	X	X
Gregarinas		X
Metazoarios (Cestodos, nemátodos y trematodos)		X
Epicomensales		X
Virus de la mionecrosis infecciosa (IMNV)	X	X

1.4.2.1. Las enfermedades emergentes

Son aquellas infecciones que aparecen recientemente en la población, con mayor incidencia a nivel mundial y causantes de mayores tasas de mortalidades en los cultivos de camarón [21].

1.4.2.2. Enfermedades reemergentes:

Son aquellas que resurgen en un lapso, es decir enfermedades que redujeron su incidencia o aparentemente parecían erradicadas y reaparecen con resistencia a los quimiotratamientos utilizados, lo cual representa el mayor riesgo del uso de antibióticos [22].

1.4.3. Vibriosis

Es una de las enfermedades más problemáticas en acuicultura, producida por bacterias gram negativas extracelulares, causantes de mortalidades en los cultivos de camarones Peneidos. En los estadios larvarios del camarón la patogenicidad de los *Vibrios* pueden tener un mayor impacto que en juveniles debido a la diferencia en la susceptibilidad que en juveniles y adultos [23].

Esta enfermedad es capaz de producir mortalidades que representan más del 95% de la producción, y se debe a problemas relacionados con la mala calidad de agua, altas densidades en los sistemas de cultivo, variación de temperaturas (principalmente cuando la temperatura es muy elevada), disminución de oxígeno disuelto y un mal recambio de agua [24].

1.4.4. Métodos para control de enfermedades

Hoy en día existe la necesidad de controlar patologías de carácter infeccioso contagioso las cuales representan la mayor amenaza en la crianza de organismos acuáticos. Estas enfermedades se pueden dar por bacterias, hongos, virus y parásitos. Para ello es necesario intervenir, tempranamente previniendo mediante alternativas eficientes (probióticos, prebióticos, antibióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, entre otros) la propagación de enfermedades en los sistemas de cultivo.

1.4.4.1. Usos quimioterapéuticos de alto riesgo ambiental

1.4.4.1.1. Antibióticos:

Los antibióticos son sustancias químicas o medicamentos que ejercen acciones específicas sobre el funcionamiento de microorganismos. Su principal función es prevenir o tratar enfermedades de origen bacteriano, y en la acuicultura son empleados en todos los estadios que presenten algún tipo de infección bacteriana [25].

Los principales antibióticos empleados en la camaronicultura son oxitetraciclina, florfenicol y enrofloxacin para enfermedades producidas por *Vibrios spp* [26].

1.4.5.2. Usos quimioterapéuticos de bajo riesgo ambiental

1.4.5.2.1. Probióticos:

Los probióticos surgen de dos palabras griegas, las cuales son “pro” y “bios” que significan para la vida, es una sustancia microbiana capaz de estimular el crecimiento de los organismos, contribuyendo al equilibrio intestinal microbiano y a la conversión alimenticia [27].

Pueden ser administrados de tres maneras: 1. a través del alimento como un aditivo, aplicación de la técnica de microencapsulación o directamente en el agua [28], de esta manera ayuda en la inhibición de enfermedades y también mejora la calidad del medio en el que los organismos se encuentran [29], 2. En combinaciones con prebióticos produciendo beneficios adicionales, y 3. Dosificaciones.

Los probióticos aumentan la respuesta inmune de los organismos, mejoran la digestibilidad y tienen la capacidad de disminuir la presencia de patógenos, considerándolo como un agente quimioterapéutico sustituto en la prevención de enfermedades [27].

1.4.5.2.2. Prebióticos:

Los prebióticos son glúcidos, estructuralmente polisacáridos o galactosa, no digeribles capaces de estimular la proliferación de microorganismos originarios de un ambiente frente a microorganismos foráneos [30].

Los prebióticos utilizados en peces y crustáceos mejoran el crecimiento y la conversión alimenticia, además de incrementar la microbiota intestinal, , resistencia de patógenos, dando como resultado un incremento en la eficiencia en producciones sostenibles acuícolas [31].

En cuanto a salud animal, son capaces de limitar el crecimiento o la acción virueta de bacterias patógenas como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria* y otros [32]. Además se observan disminuciones del crecimiento de *V. anguillarom*; *V. salmonicidia*, entre otros [33].

1.4.5.2.3. Ácidos orgánicos:

Los ácidos orgánicos son compuestos químicos que en su estructura contiene grupos carboxilos (R-COOH) saturados e insaturados. Estos compuestos químicos se han utilizado en especies como truchas arcoíris, salmón del atlántico, carpa, tilapia y camarones marinos para combatir la resistencia de las enfermedades bacterianas. [34]

Los ácidos orgánicos más utilizados en las dietas alimenticias para animales son los ácidos propiónicos, fumárico, fórmico, láctico, butírico, entre otros. Estos últimos, utilizados en pruebas *in vitro* con *Vibrio harveyi* en los cuales se demostró que su capacidad bacteriostática se da en un $\text{pH} \leq 5$ [35].

1.4.5.2.4. Extractos vegetales

Los extractos de plantas y algas son una buena opción para combatir la patogenicidad de bacterias causantes de altas tasas de mortalidades en la producción acuícola, debido que estos pueden estar constituido por terpenoides, ácidos, alcohol, aldehídos entre otros compuestos que se pueden presentar como trazas. Para sintetizar extractos basta con utilizar el tallo, raíces, flores, frutos u hojas de la planta de interés [11], como noni (*M. citrifolia*), tomillo (*Thymus vulgaris*), romero (*Rossmarinus officinalis*), bálsamo de limón (*Melissa officinalis*), entre otras reportadas con efectos sobre el crecimiento de bacterias como *Flavobacterium spp*, *Pseudomonas spp* y *Vibrios spp* [36]. Actualmente hay un crecimiento en número de investigaciones en macroalgas. Algunos ejemplos de esto son camarones que son alimentados con nauplios de artemias previamente enriquecidos con una pasta de algas rojas, lo que permite aumentar la resistencia a infecciones provocadas por *Vibrio spp*. y también ayudan combatir el estrés producido por cambios de salinidad [37].

Las enfermedades infecciosas constituyen un factor importante que limita la capacidad productiva de los sistemas acuícolas, es por ello que los fitomedicamentos vegetales son una gran alternativa para el tratamiento de infecciones bacterianas.

1.4.5. Uso de aceites esenciales en Acuicultura

Los aceites esenciales al contar con propiedades analgésicas, antimicrobianas y antioxidantes, pueden ser utilizados como un sedante para reducir el estrés en los peces y también son capaces de inhibir la acción de patógenos por distintas vías [38].

Después de haberse realizado años de investigación con los aceites esenciales (EOs) ha determinado contienen compuestos químicos que inhiben la actividad bacteriana e interfieren en el quorum sensing (QS) de las bacterias *Vibrio spp* [13].

En camarones, estudios han evaluado el efecto de los EOs sobre cepas de *V. harveyi*, *V. campbelli*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, considerados los patógenos de mayor impacto en la acuicultura, donde se demostró que las dosis de aceites esenciales como el orégano y el árbol de té no llegan a ser tóxicos en los camarones y reducen la mortalidad de los mismos. En larvas de camarón sucede lo mismo debido que las sustancias orgánicas afectan la virulencia de los *Vibrios*. y aumentan el rendimiento de los camarones en los sistemas de cultivo [13].

Por lo que se decidió elegir los siguientes aceites esenciales ya que anteriormente han sido utilizados en investigaciones dirigidas al sector acuícola, obteniendo buenos resultados por las propiedades bioquímicas que cada uno de estos productos contiene ([Tabla 1.2](#)).

1.4.5.1. Orégano (*Organum vulgare*)

El orégano es una planta medicinal con metabolitos ideales para sintetizar fármacos, debido a la composición química a base de flavonoides y derivados del fenilpropano, se han identificado una serie de compuestos aromáticos en su estructura química, siendo de mayor importancia para la acuicultura el carvacrol y el timol por su acción bactericida en bacterias Gram positivas y Gram negativas como *V. campbelli*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* [39], [5].

1.4.5.2. Árbol de Té (*Melaleuca alternifolia*)

El aceite esencial del árbol de té es a base de hidrocarburos terpenos con radicales de alcohol asociados a su estructura química, empleado en la elaboración de remedios naturales a nivel mundial. Este aceite contiene compuestos aromáticos volátiles con diferentes propiedades terapéuticas, antivirales, desinflamatorias y antimicrobiana en

bacterias Gram positivas y Gram negativas de importancia acuícola como *V. harveyi* y *V. campbelli* [40].

1.4.5.3. Tomillo (*Thymus vulgaris* L)

También conocido como tremonillo, es una planta aromática empleada por ser un vegetal que cuenta con compuestos como flavonoides, flavonas metoxilas, flavonoles, taninos y otros componentes de mayor importancia como son los fenoles monoterpénicos donde podemos encontrar timol, carvacol, borneol y linalol, lo que permite ser utilizado para aminorar síntomas de enfermedad como la gripe en los humanos [41]. Por los múltiples beneficios que proporciona el tomillo, se han realizado estudios implementando el vegetal en otras áreas diferentes a la salud del ser humano por ejemplo en la acuicultura, ya que su actividad bactericida permite una inhibición de bacterias patógenas como *V. campbelli* [42].

1.4.5.4. Guayaba (*Psidium guajava* L)

Con el pasar del tiempo la guayaba ha sido estudiada en diferentes ensayos para tratar patologías humanas, en uno de ellos se demostró que los extractos de las hojas tienen propiedades bacteriostáticas. Así mismo, en investigación posteriores se evaluó la eficiencia y la MIC para inhibir bacterias patógenas que afectan a los camarones de cultivo [43].

1.4.5.5. Neem (*Azadirachta indica*)

El neem es una planta conocida por sus propiedades medicinales y se distribuye alrededor del mundo. Posee compuestos activos como azadiractina, meliantriol, salannim que permiten utilizar esta planta como anti inflamatorio, antifúngico, antibacteriano y más [5]. En la acuicultura, se han implementado extractos de neem en las producciones de larvas de camarón con administración dietética, mejorando las tasas de supervivencias y disminuyendo infecciones con *V. parahaemolyticus* [44].

1.4.5.6. Albahaca (*Ocimum basilicum*)

Es una planta aromática constituida principalmente por isoestragol, linalol, eugenol, cinamato de metilo, implementados en la industria alimentaria, medicinal y cosmética por las múltiples propiedades que contiene, aunque con mayor crecimiento en la industria acuícola por su potencial antibacteriano y alternativa para el uso de antibióticos en los cultivos de organismos marinos [45]. Según el estudio experimental de Ochoa [46] la actividad inhibitoria de este producto natural se la atribuye en gran parte al isoestragol.

1 **Tabla 1.2: Estudios sobre los efectos de los aceites esenciales en especies de interés acuícola. Elaborado por: [47]**

Aceites esenciales	Uso	Patógenos o bacterias	Especies estudiadas	Resultados	Referencias
Orégano (<i>Organum vulgare</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Propiedad antibacteriana - Antioxidante - Reducción de niveles de estrés 	<ul style="list-style-type: none"> <i>V. campbelli</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. vulnificus</i> <i>V. harveeyi</i> <i>Bacillus cereus</i>. <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Salmonella typhinurium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Camarones (<i>Litopenaeus vannamei</i>); Tilapia roja (<i>Oreochromis spp</i>); Almeja mano de león (<i>Nodipecten sunodosus</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Bactericida, Inhibición de <i>quorum sensing</i>, Inhibición en crecimiento de bacterias Gram negativas, Ganancia de peso, Proliferación de bacterias benéficas, Tratamiento terapéutico en el desarrollo embrionario de bivalvos. Suplemento en dietas. 	[48] [49] [50] [51]
Árbol de Té (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Efecto anestésico - Antioxidante - Actividad antiséptica - Antiparasitario - Antibacteriano 	<ul style="list-style-type: none"> <i>V. campbelli</i> <i>V. harveeyi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Bagre plateado (<i>Rhamdia quelen</i>) Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) Dorada (<i>Sparus aurata</i>) Camaron blanco (<i>Penaeus vannamei</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Inhibición de <i>quorum sensing</i>, Bactericida , Inhibición de luminiscencia de <i>Vibrios sp.</i> 	[13] [52]
Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Antimicrobiano - Inmunoestimulante - Actividad antimicrobiana 	<ul style="list-style-type: none"> <i>V. campbelli</i> <i>E. coli</i> <i>Brochotrix themosphacta</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Dorada (<i>Sparus aurata</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Bactericida, inhibición de <i>quorum sensing</i>, 	[53] [54]

<i>Salmonella typhimurium</i>					
Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	- - - -	Actividad antimicrobiana Antioxidante Inmunoestimulante Inhibidores de peroxidación lipídica	<i>Vibrios</i> sp. inoculados en Agar TCBS	Salmón del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) Cobaya (<i>Cavia porcellus</i>)	Tratamiento para IHN en peces, Ganancia de peso, Evita estrés oxidativo, [55] [56]
Neem (<i>Azadirachta indica</i>)	- - -	Antibacteriano Diurético Antimicrobiano	<i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. alginoliticus</i> <i>V. harveyi</i> <i>A. salmonicida</i>	Tilapia (<i>Oreochromis spp.</i>) Camarón blanco (<i>Penaeus vannamei</i>) Bagre (<i>Clarias batrachus</i>)	Mejora actividad respiratoria, respuesta de anticuerpos, control de síndrome ulcerativo [5] [57]
Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>)	- - - -	Propiedad antiparasitaria Antibacteriano Antiviral Antimicrobiano	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Tilapia (<i>Oreochromis spp.</i>) Camarón (<i>Penaeus monodon</i>)	Inhibición de bacterias infecciosas en piscicultura, Bacteriostáticos, Bactericidas, Antiviral contra virus de cabeza amarilla [58]

CAPITULO II

2.METODOLOGÍA

2.1 Selección de aceites esenciales

Los componentes activos en los aceites esenciales influyen en las propiedades y beneficios que proporciona cada sustancia, por ese motivo se buscó los principales biocompuestos ([Tabla 1.2](#)), los cuales son aplicados como quimiotratamiento para disminuir el impacto de los organismos patógenos en los cultivos de camarón. Por ejemplo, el timol y carvacrol que por su composición a base de fenol, cuentan con propiedades antimicrobianas y fungitóxicas [59]. Además de lograr regenerar los tejidos dañados de los organismos marinos, antiinflamatorio y antioxidante [60].

2.2 Selección de aceites esenciales en base a sus propiedades bioquímicas.

Se evaluaron los principales componentes bioactivos presentes en los EOs de diferentes especies de plantas ([Tabla 2.1](#)), identificando para el primer criterio cuales tenían mayor número de propiedades (antimicrobianas, fungitóxicas, antiinflamatorias, antioxidantes, regenerativas) y valorándolas en orden de mayor a menor. Como un criterio adicional tenemos la efectividad probada en diferentes ensayos de estos EOs provenientes de diferentes especies vegetales contra patógenos de camarón que nos permitirá realizar una selección de los EOs de forma individual o en sinergia (Mix de 2 EOs). Esta selección será el primer paso para identificar posibles tratamientos que nos permitirán incrementar su potencial como quimitratamiento o nutraceutico, ideales para su aplicación dentro de una industria acuícola más sustentable y rentable.

Tabla 2.1. Características de los principales componentes activos en EOs. Elaborado por: [47]

Componentes activo	Nomenclatura química	Propiedades	Porcentaje en aceites esenciales	Fuentes
Timol	2-isopropil-5-metilfenol	Antioxidante Antifúngico Antiinflamatorias Antimicrobiano	Oregano (64%) Tomillo (10 – 64%)	[61] [62]
Carvacrol	2-metil-5-(1-metiletil)fenol)	Antimicrobiano Antiinflamatorio Antioxidante Antifúngico Modulación enzimática	Orégano (60-70%) Tomillo (2 – 11%)	[61] [60]
Azadiractina	$C_{35}H_{44}O_{16}$	Antiséptico Antimicrobiano Antifúngico Antiinflamatorio	Neem (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	[5]
Terpenoides		Antimicrobiano Antiviral Antiinflamatorio Antiséptico	Árbol de té (>50%) Tomillo (1-5%)	[63]

2.3 Vías de aplicación de los aceites esenciales.

Para la aplicación de los aceites esenciales se logró identificar tres vías de administración, las que son ideales para optimizar el proceso de producción de postlarvas, juveniles y adultos de camarón blanco. Estas se clasifican en: 1. Inclusión en el pienso alimenticio, 2. Adición directa o inmersión, 3. Encapsulación, y microencapsulación. Las cuales serán evaluadas según los criterios de diferentes estudios científicos, en los cuales se analizará su eficiencia en cuanto a la trasmisión de las propiedades esperadas para mejorar el cultivo, el costo de producción y aplicación de estas vías.

2.3.1. Inclusión de los EOs en el pienso alimenticio

La palabra incluir se refiere a poner algo dentro de una cosa o conjunto, esta puede realizarse de diferentes maneras como es humedecimiento, dispersión o disolución sobre un cuerpo solido como lo es el pienso o pellet. En este caso, la inclusión de aceites esenciales se realiza rociando el liquido en el alimento balanceado, hasta obtener una mezcla húmeda ([Figura 2.1](#)) [64], esta es una alternativa que ayuda a complementar sus requerimientos ya que actúa como antibacteriano en el tracto intestinal de esta manera mejora la eficiencia del uso de los nutrientes presentes en el pienso alimenticio, la adherencia y absorción se realiza en un corto tiempo y mejora el metabolismo de los

organismos, siendo una alternativa de bajo costo y aplicable a cualquier tipo de alimento [65].



Figura 2.1: Inclusión de los EO's en el pienso alimenticio. Elaborado por: [47]

2.3.2. Inmersión o adición directa

La técnica de adición directa de los Eos, es generalmente utilizada para conservar alimentos, sea en estado físico, químico o biológico, durante todas las etapas de producción o manejo [66]. Esta alternativa es funcional solo para la etapa de larvas y se propone como un tratamiento para mejorar las condiciones de transporte.

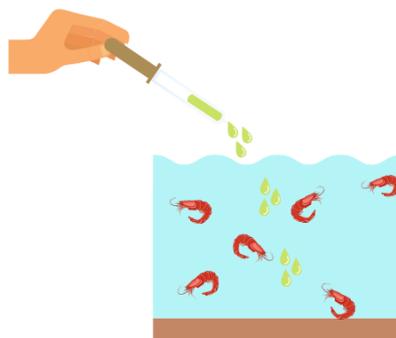


Figura 2.2. Inmersión o adición directa de los EOs. Elaborado por: [47]

2.3.3. Encapsulación

La encapsulación es un proceso fisicoquímico que se utiliza para introducir sustancias bioactivas, este permite aislar ingredientes que pueden interactuar con los demás (Figura 2.3). Una de las ventajas de esta técnica, es que limita la pérdida de los EO's en los procesos como calentamiento o evaporación; también evita la degradación de los componentes activos presentes en cada sustancias, no alterando sus propiedades

biológicas [67]. La encapsulación de aceites esenciales puede realizarse mediante secado por aspersión y por gelificación iónica [68].

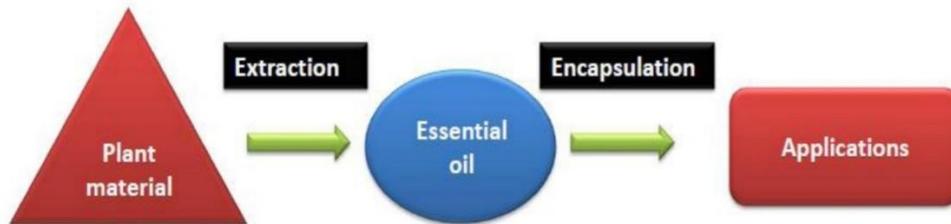


Figura 2.3 ¡Error! Utilice la pestaña Inicio para aplicar 0 al texto que desea que aparezca aquí.:

Proceso de los aceites esenciales. Fuente: [67]

2.3.4. Microencapsulación

Esta técnica permite derivar otros procesos tecnológicos como la microencapsulación, que se define por el tamaño de la partícula que recubre las biomoléculas con la finalidad de mantener y prolongar las funciones de los compuestos bioactivos [69]. Se puede clasificar mediante dos técnicas: Las cápsulas mononucleares y las cápsulas matriciales ([Figura 2.4](#)). Las cápsulas mononucleares son matrices que se distribuyen homogéneamente los compuestos activos y las cápsulas matriciales son sustancias botánicas más robustas que se distribuyen uniformemente mejorando las propiedades tecnológicas [70].

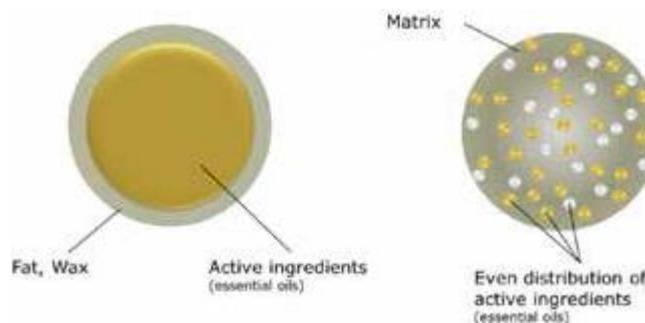


Figura 2.4: Recubrimiento convencional vs recubrimiento matricial. Fuente: [70]

2.4. Evaluación de las propiedades bacteriostáticas y bacteriológicas

2.4.1 Ensayo *In vitro*

Los ensayos *in vitro* nos permiten identificar las propiedades antibacterianas de los EOs. Para el desarrollo del ensayo *in vitro* se debe inocular diferentes cepas de bacterias *Vibrios spp.* en el caldo de cultivo luria bertani (LB). Estos se deben de realizar en microplacas transparentes para poder medir la actividad antibacteriana a través de métodos turbidimétricos a 640 nm. Una vez que las cepas bacterianas alcancen la concentración deseada se deberá añadir las concentraciones de los EOs y evaluar la MIC, con la intención de identificar las concentraciones ideales de administración para obtener los efectos deseados como bactericida, bacteriostático.

2.4.1 Ensayo *In vivo*

Los ensayos *in vivo* nos permiten identificar el efecto de los EOs y sus propiedades antibacterianas en condiciones de cultivo sobre los camarones (larvas y juveniles). Este experimento se puede desarrollar mediante cuatro vías de aplicación: inclusión, inmersión, encapsulación y microencapsulación de los EOs en el pienso. En la inmersión se coloca la suspensión bacteriana y después se agrega una concentración determinada de EOs, se evalúa durante 96 horas la mortalidad, crecimiento bacteriano y las implicaciones fisiológicas en los organismos de cultivos. En la inclusión se puede rociar o sumergir el pienso en EOs teniendo en cuenta que este se va a perder en gran proporción durante la alimentación. Por otro lado, la microencapsulación es un proceso complejo que se divide en dos: mecánico y químico donde se aprovecha la inclusión de sustancia que mejoran el sistema inmunológico, inhiben el crecimiento bacteriano y sirven como métodos terapéuticos [71].

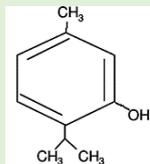
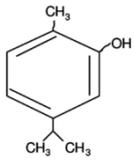
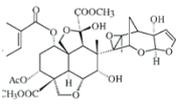
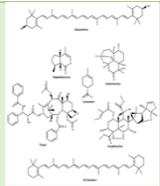
2.5. Evaluación de la toxicidad de los EOs

Los estudios de toxicidad permiten evaluar si un compuesto es seguro para ser consumido sin producir efectos adversos en los organismos [72], esto se debe a que la toxicidad en las células puede afectar su funcionamiento, aumentar las mortalidades y disminuir el crecimiento de las mismas ([Tabla 2.1](#)) [73].

La prueba consiste en utilizar soluciones salinas donde se realiza el cultivo celular, el daño de las células es medido con el método formazán y la lectura es realizada en microplacas de 620 nm [37]. Con la aplicación de la siguiente fórmula:

$$\text{Viabilidad celular (OD)} = \left(\frac{\text{OD células expuestas}}{\text{OD células control}} \right) \times 100$$

Tabla 2.1: Evaluación de la toxicidad de los EOs en diferentes organismo acuáticos de interes acuícola. Elaborado por: [47]

Compuesto activo	Representación química	Concentración letal media (LC50)	Fuentes bibliográficas
Timol		Se determino que el LC50 para peces guppys hembras es de 12.51 mg/L y 10.99 mg/L para machos.	[74]
		El LC50 para la bacteria <i>S. aureus</i> es de 7 mg/L.	[75]
		En las bacterias gran negativas: <i>V. alginolyticus</i> la MIC es de 100 mg/L.	[76]
Carvacrol		El LC50 para la bacteria <i>S. aureus</i> es de 15 mg/L.	[75]
		En las bacterias gran negativas: <i>V. alginolyticus</i> la MIC es de 50 mg/L.	[76]
Azadiractina		El LC50 para el microcrustaceo, <i>Daphnia magna</i> es de 0.019 mg/L.	[77]
		El LC50 para alevines de la trucha arcoiris es de 8.80 mg/L después de 96 h.	[78]
		Extractos de 100 mg/L en los peces guppy causan la mortalidad del cincuenta por ciento (LC50).	[79]
Terpenoides		El LC50 para la bacteria <i>S. aureus</i> es de 30 mg/L.	

2.6. Evaluación de las propiedades nutraceuticas

El termino nutraceutico proviene de las palabras “nutrientes” y “farmacéuticos”. Este se lo puede definir como un suplemento dietético que contiene sustancias bioactivas concentradas que mejoran la salud, aumentando el sistema inmunológico [80]. Existen diferentes clases de nutraceuticos, los cuales se pueden dividir en:

- a) Carotenoides
- b) Ácido linoleico conjugado (CLA)
- c) Flavonoides
- d) Derivados de aminoácidos que contienen nitrógeno (N) y azufre (S).
- e) Ácidos grasos poliinsaturados omega 3
- f) Terpenoides

2.6.1. Los carotenoides

Los carotenoides son pigmentos que tienen la capacidad de absorber la luz visible y su papel nutraceutico está relacionado con la protección molecular contra el ataque de radicales libres o actividad antioxidante [81].

2.6.2. Ácido linoleico conjugados

Es un isómero del ácido linoleico caracterizado por tener enlaces dobles en su estructura molecular, es decir, surge de la mezcla de ácidos grasos y posee efectos inmunomoduladores, estimula el sistema inmunológico, actividad antioxidante y efectos antimicrobianos ya que ha permitido la inhibición de bacterias patógenas [82].

2.6.3. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en vegetales, poseen actividades que resultan rentables no solo para la salud humana sino también para cultivos de organismos marinos, al contar con un efecto citoprotector que actúa sobre los diferentes órganos como el hígado y páncreas, además de ser beneficiosos para el sistema coronario y vascular por su capacidad de inhibición [83].

2.6.4. Derivados de aminoácidos que contienen nitrógeno(N) y azufre(S)

Las principales estructuras presentes en las plantas son derivados de los aminoácidos como los alcaloides y glucósidos cianogénicos, las mismas que son moléculas con toxicidad que permiten defenderse de sus depredadores. Además poseen propiedades antioxidantes [81].

2.6.5. Ácidos grasos poliinsaturados omega 3

La gran diversidad de ácidos orgánicos permite la formación de permeabilidad en la bicapa fosfolípida de las células y orgánulos de las especies, ya que son biomoléculas presentes en las funciones biológicas. Los ácidos orgánicos poliinsaturados (PUFA) omega 3, son de gran importancia para los animales porque mejoran la respuesta inmune, aumentan sobrevivencia y disminuyen el estrés, dichos lípidos se encuentran activamente en las plantas [84].

2.6.6. Terpenoides

También conocidos como terpenos o isoprenoides, por su unidad estructural que es el isopreno, son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en un grupo determinado de productos naturales. La clasificación de dicho grupo depende de los números de átomos de carbono presentes en cada grupo, los más importantes en los aceites esenciales son los monoterpenos y sesquiterpenos. Una de las funciones que realizan es originar hormonas vegetales y también utilizarlos como antibióticos ya que actúan como alelopáticos [85].

2.7. Diseño del protocolo según los criterios establecidos

El diseño del protocolo se basó en la obtención de información y revisión bibliográfica, de estudios realizados con la aplicación de aceites esenciales en la acuicultura. Es por ello, que esta investigación consta de 4 criterios y 5 pasos que se deben de seguir para optimizar su aplicación.

Criterios:

1. Selección de los aceites esenciales:
 - a) Evaluación de las propiedades bioquímicas de los EOs.
 - b) Diversidad de propiedades asociados a estos efectos.
2. Evaluación de las vías de administración:
 - a) Facilidad de aplicación
 - b) Costos de aplicación
3. Determinación de la actividad toxicológica
4. Evaluación de la actividad nutraceutica

Después de plantear los criterios de selección, se representó mediante un esquema gráfico el proceso para la aplicación de los EOs en las unidades productivas, ya sean en laboratorios de producción de postlarvas u organismos en la etapa de engorde dentro de las fincas camaroneras.

En el esquema que se representa a continuación (Figura 2.5), se detalla el procedimiento propuesto para la aplicación de los aceites esenciales, como primer paso se debe evaluar la problemática o la finalidad de la aplicación de los EOs, después se detalla que puede ser usado en todas las etapas productivas debido que lo pueden implementar en el cultivo larvario o en la etapa de engorde, por lo que se explica que si el técnico de producción requiere implementarlo para controlar una infección bacteriana, uso terapéutico o nutricional debe tomar decisiones que involucran las vías de administración y mantener la aplicación de buenas practicas de producción acuicola para evitar el estrés fisiológico en los organismos de cultivo y tener valores aberrantes a los esperados.

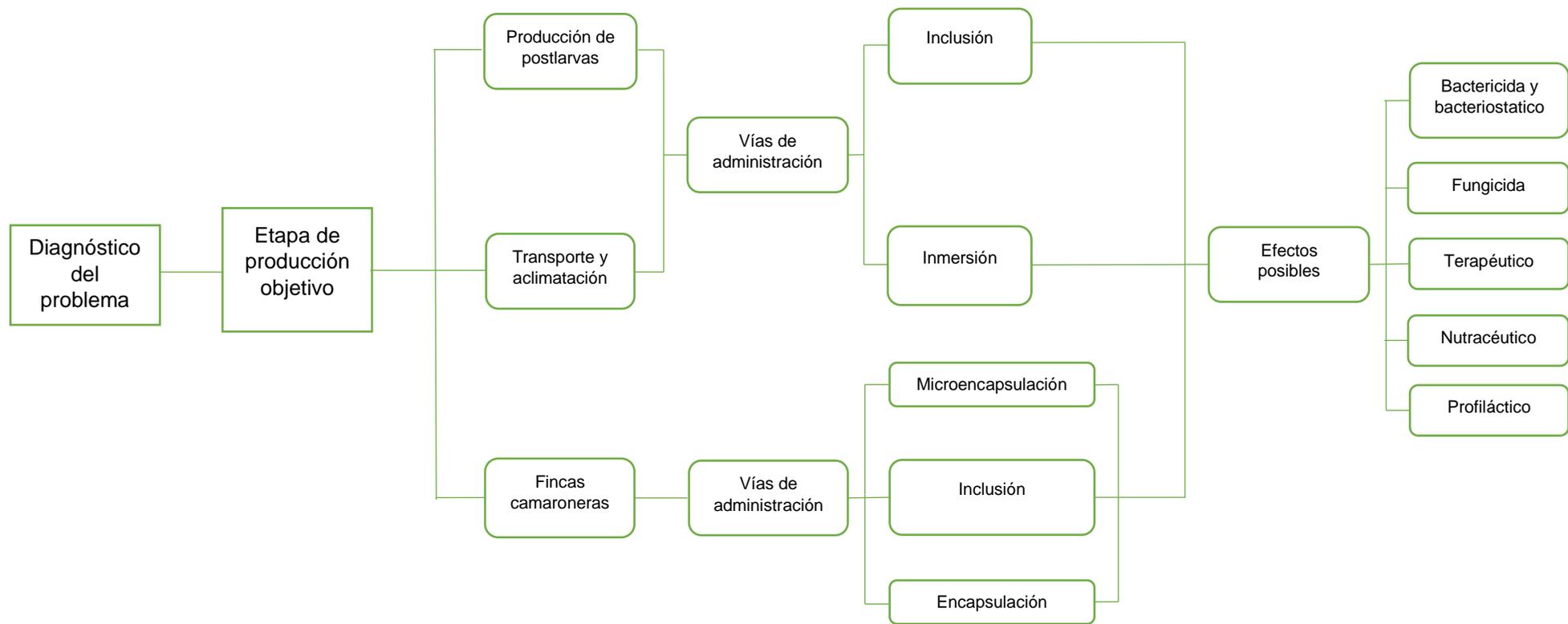


Figura 2.5 :Esquema del flujo de desiciones para aplicar EOs en el cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Elaborado por: [47]

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y ANALISIS

El desarrollo de la propuesta planteada se sustentó en el capítulo 2 y 3 donde se explicaron conceptos relacionados al uso y selección de los EOs en el cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Para el desarrollo del protocolo se determinó criterios de selección los cuales son detallados a continuación mediante un esquema de procesos (Figura 3.1)

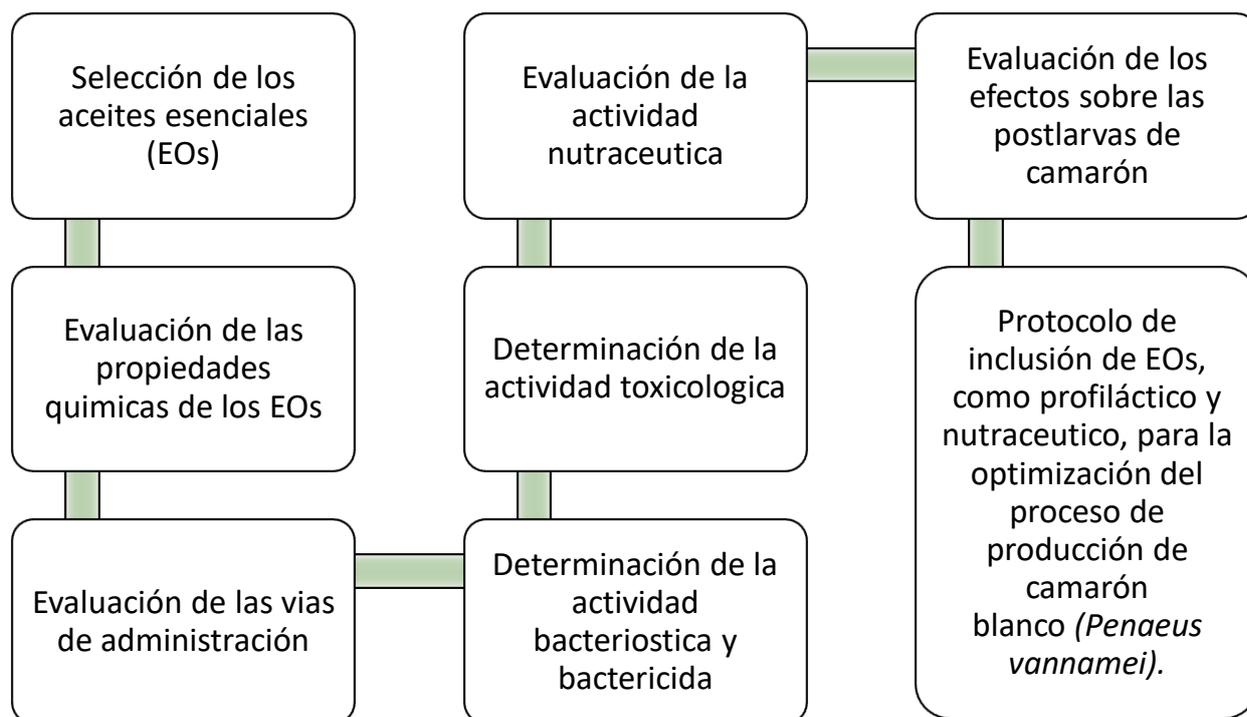


Figura 3.1: Esquema del procedimiento para la obtención del protocolo. Elaborado por: [47]

3.1. Selección de aceites esenciales

La efectividad de los diferentes ensayos de EOs contra patógenos presentes en los cultivos de camarón blanco, demostró que el aceite de orégano cuenta con una alta propiedad antimicrobiana, por su composición química al poseer 64% de timol y 70% de carvacrol, mientras que aceite de árbol de té posee altas concentraciones de terpenoides (>50%). Siendo estos los aceites con más propiedades bioquímicas ideales para su uso como quimioterapias en la industria acuícola.

En el estudio realizado por [13], se evaluaron cinco diferentes aceites esenciales frente a cuatro vibrios que afectan grandemente a la industria como son *V. harveyi*, *V. campbelli*, *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus*, demostraron que el aceite de orégano (EOOv) y el aceite de árbol de té (EOMa) eran las sustancias con mayor inhibición de QS, es decir que interrumpían la comunicación bacteriana, como se demuestra en la prueba de determinación de dosis letales de los EO's, donde los valores de MIC y MBC obtenidos de EOOv y EOMa correspondían a los más bajos entre todos los aceites, indicando que su actividad inhibitoria era la más efectiva.

La bioluminiscencia es la emisión de luz en organismos vivos ocasionada por una reacción química exergónica que luego es transformada en energía luminosa y sucede con algunas bacterias Gram negativas [86]; como las de género *V. harveyi* y *V. campbelli*, que fueron las cepas bacterianas analizadas en el estudio, en el que se demostró una reducción del 50% de bioluminiscencia con EOOv, utilizando una concentración de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

El mismo estudio detalla que la prueba de toxicidad *in vitro* realizada con los aceites esenciales, demostró que las concentraciones inferiores a $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ no afectan a los hemocitos a comparación de lo que sucedió con las concentraciones de $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Asimismo, en las pruebas *in vivo* recalcan que se obtendrá una mayor susceptibilidad de los EO's mientras más temprana sea la etapa larvaria. Por ejemplo, en el estadio zoea, se utilizaron los dos EO's donde las dosis de $0,25 - 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ no afectaron la supervivencia de las larvas; en mysis el efecto fue negativo aplicando dosis de $5,0 - 10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$; mientras que en los PL's, las concentraciones de EOMa no afectaron la supervivencia a comparación de EOOv que si afectó en concentraciones de $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

De acuerdo con [5], el aceite de orégano es capaz de inhibir cepas de *Vibrios spp.* como lo demostró en su ensayo, en el que los halos de inhibición del patógeno eran menores a los halos producidos por los antibióticos como la oxitetraciclina. Por otra parte [87], realizaron una prueba de alimentación en el que estudiaron el crecimiento, microbiota intestinal, inmunidad innata y resistencia a enfermedades en camarones blancos (*Penaeus vannamei*) frente a cepas de *V. parahaemolyticus*. Demostrando que el EO's posee una gran capacidad antioxidante y antimicrobiana contra patógenos que afectan grandemente la industria acuícola.

3.2. Vías de aplicación de los EOs

Después de haber revisado las vías de aplicación más comunes en las diferentes etapas del cultivo ([Tabla 3.1](#)), se evaluara cada una de las vías de administración analizadas en función de la factibilidad, eficiencia y el costo de la aplicación ([Figura 3.2](#)).

Tabla 3.1: Evaluación de las vías de administración de los EOs en función de tres variables. Elaborado por: [47]

Vías de administración	Estadios larvarios del camarón blanco			Valoración (x/15)	Resultado	Porcentaje
	Viabilidad	Eficiencia	Costos			
Larvas de camarón						
Adición directa o inmersión	4	3	3	10/15	0.67	67%
Inclusión en el pienso	5	3	2	10/15	0.67	67%
Encapsulación	0	1	5	6/15	0.40	40%
Microencapsulación	0	1	5	6/15	0.40	40%
Juveniles de camarón						
Adición directa o inmersión	0	0	5	5/15	0.33	33%
Inclusión en el pienso	5	5	4	14/15	0.93	93%
Encapsulación	5	4	5	14/15	0.93	93%
Microencapsulación	3	3	5	11/15	0.73	73%
Adultos de camarón						
Adición directa o inmersión	0	0	5	5/15	0.33	33%
Inclusión en el pienso	5	5	5	15/15	1.00	100%
Encapsulación	4	5	5	14/15	0.93	93%
Microencapsulación	3	4	5	12/15	0.93	93%

La escala de calificación fue definida del 0 – 5. En la **variable viabilidad** el 0 significa poco viable y el 5 muy viable. Para la **variable eficiencia** de la aplicación del EOs 0 significa poco eficiente y 5 muy eficiente. Por último, para **costos** el 0 significa menos costoso y el 5 muy costoso.

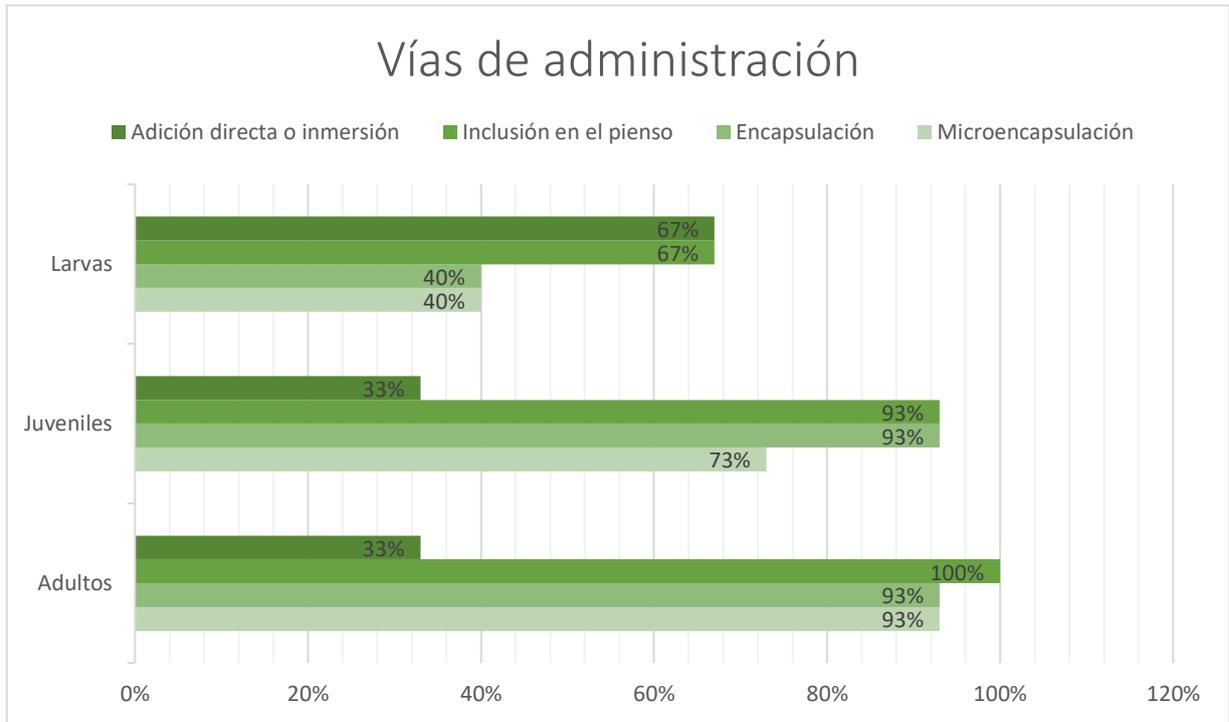


Figura 3.2: Vías de administración de los EOs en diferentes etapas del cultivo según las fuentes bibliograficas.

Las vías de administración mejor valoradas para larvas de camarón blanco, corresponden a: 1. adición directa o inmersión directa de los EO's que es la técnica más utilizada en los cultivos de organismos acuático pero cuenta con varias desventajas, se ha observado que la concentración de los aceites esenciales debe ser mayor para que el efecto sea el esperado, lo que no asegura su total aprovechamiento y por ende, existen perdidas tanto del producto como económicas. 2. Inclusión en el pienso alimenticio.

Para los juveniles y adultos de camarón blanco, las vías de administración con mayor puntuación corresponde a la técnica de inmersión de los EOs en el pienso alimenticio. Los estudios analizados donde incluían EOs en el alimento balanceado probados en piscinas camaroneras obtuvieron buenos resultados como el incremento de la supervivencia y producción de postlarvas, y fue posible gracias a las comparaciones realizadas con el grupo control. Con respecto a las dosis empleadas ($2,5$ y $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$) de EOOv, la supervivencia fue de 92.2% y 93.1% a comparación del control que fue de 72.0% y el rendimiento de $953,7 \text{ kg/ha}$ y $1041,4 \text{ kg/ha}$ frente al control de $715,9 \text{ kg/ha}$, demostrando que los resultados fueron significativamente altos.

Al contrario de lo que sucedió con EOMa, debido a que la concentración de (2,5 mg/kg) no presentó cambios con respecto al control, mientras que con la concentración de (5,0 mg/kg) existieron mejoras en la tasa de crecimiento, peso promedio, supervivencia y rendimiento. Uno de los criterios importantes dentro de las pruebas realizadas en las piscinas de engorde fueron los parámetros biológicos como temperatura, oxígeno disuelto y salinidad, ya que fue necesario que los valores se encuentren dentro del rango óptimo para el cultivo de *Penaeus vanammei* [88].

La técnica de encapsulación y microencapsulación es una de las vías mas prometedoras para la inclusión de EOs en el pienso, ya que el recubrimiento comestible o encapsulación de alimento, enriquecido con los EOs facilita el control y potencia las propiedades de los aceites esenciales y del, pero costos son sumamente altos ya que están relacionados con las plantas procesadoras de balanceado. [89]

3.3. Selección de las combinaciones y efectos esperados

La combinaciones de los EOs en esta propuesta se fundamento su elección en las propiedades nutricionales, bacteriostáticas y bactericidas analizadas en el capítulo anterior (3.2), para ello se evaluaron diferentes estudios con aceites esenciales, que fueron seleccionados por las características ya mencionadas. Es por ello que se propone usar el aceite esencial de orégano (EOOv) y el aceite de árbol de té (EOMa), a diferentes concentraciones y proporciones por lo que se espera resultados positivos en el desarrollo del ensayo, tales como; la inhibición de bacterias *Vibrio spp.*, aumentar la flora intestinal y la inmunidad innata ante enfermedades causadas por el género de bacterias ya descrito. A continuación se describen los tratamientos a realizarse en el ensayo *In vitro* e *In vivo*.

Tabla 3.2: Componentes nutricionales esenciales de cada uno de los EOs utilizados en el desarrollo del protocolo. Elaborado por: [47]

Productos	Porcentaje de los componentes nutricionales				Referencias
	Proteína	Carbohidratos	Lípidos	Otros	
Hojas secas de oregano	9.00	68.92	4.28	17.80	[90]
Árbol de té (<i>Azadirachta indica</i>)	15.50	50.00	4.60	29.90	[91]
Hojas de tomillo	9.28	-	2.81	-	[92]

Hoja de guayaba	18.53	12.74	0.62	68.11	[93]
Hojas de neem	15.50	-	4.60	-	[94]

En la columna otros se considero vitaminas, cenizas, iones, ácidos grasos esenciales, etc.

En la tabla anterior se detalla los componentes nutricionales que tiene cada uno de los productos naturales evaluados. Este análisis en conjunto con los anteriores sirvieron para la seleccionar la combinación porcentual de los EOs de oregano y árbol de té. Para la evaluación de la sinergia en base a la literatura revisada se propone una serie de combinaciones para determinar la mejor mezcla ([Tabla 3.3](#))

Tabla 3.3: Concentraciones finales de las combinaciones porcentuales de aceite esencial (Eos) de orégano (EOOv) y árbol de Té (EOMa). Elaborada por: [47]

N°	Tratamiento	Concentración ($\frac{\mu g}{mL}$)
T1	Control	-----
T2	EOOv (75%) + EOMa (25%)	5.00
T3	EOOv (50%) + EOMa (50%)	5.00
T4	EOOv (25%) + EOMa (75%)	5.00
T5	EOOv (75%) + EOMa (25%)	2.50
T6	EOOv (50%) + EOMa (50%)	2.50
T7	EOOv (25%) + EOMa (75%)	2.50
T8	EOOv (75%) + EOMa (25%)	1.25
T9	EOOv (50%) + EOMa (50%)	1.25
T10	EOOv (25%) + EOMa (75%)	1.25
T11	EOOv (75%) + EOMa (25%)	0.50
T12	EOOv (50%) + EOMa (50%)	0.50
T13	EOOv (25%) + EOMa (75%)	0.50

En cada uno de los tratamientos se realizaron seis replicas y se midió cualitativamente la capacidad inhibitoria después de 24 horas de la infección bacteriana, ante cepas de *V. Harvery* y *V. parahaemolyticus* con concentración de 1×10^6 UFC/mL.

Tabla 3.4: Concentraciones finales de las combinaciones porcentuales de aceite esencial (EOs) en el ensayo In vivo con las larvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) utilizando aceites esencial de orégano (EOOv) y árbol de Té (EOMa). Elaborada por: [47]

N°	Tratamiento	Concentración $\left(\frac{mg}{Kg}\right)$
T1	Control	-----
T2	EOOv (75%) + EOMa (25%)	10.00
T3	EOOv (50%) + EOMa (50%)	10.00
T4	EOOv (25%) + EOMa (75%)	10.00
T5	EOOv (75%) + EOMa (25%)	5.00
T6	EOOv (50%) + EOMa (50%)	5.00
T7	EOOv (25%) + EOMa (75%)	5.00
T8	EOOv (75%) + EOMa (25%)	3.00
T9	EOOv (50%) + EOMa (50%)	3.00
T10	EOOv (25%) + EOMa (75%)	3.00
T11	EOOv (75%) + EOMa (25%)	1.00
T12	EOOv (50%) + EOMa (50%)	1.00
T13	EOOv (25%) + EOMa (75%)	1.00

En cada uno de los tratamientos se realizaron seis replicas y se midió el LC50 para determinar la máxima concentración bactericida aplicable (MBC) en las larvas de camarón.. La concentración de *V. Harvery* y *V. parahaemolyticus* que se evaluó fue de 1×10^6 UFC/mL.

3.4. Protocolo

El desarrollo de este protocolo se sustentó con información bibliográfica revisada en el capítulo 2, donde se detallaron los componentes de los aceites esenciales, conceptos relacionados con el estado nutricional y profiláctico de los crustáceos en estudio. También se establecieron criterios de selección para los EOs en el capítulo anterior, estos debían cumplir con propiedades bactericidas, bacteriostáticas, terapéuticas, u otras, que ayuden a reducir las altas tasas de mortalidades causadas por las bacterias del género *Vibrio spp.* Es por ello, que se planteó un esquema del proceso de la elaboración de un protocolo de inclusión profiláctica y nutraceuticas para la producción de larvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Como anexo del protocolo se realizó una serie de recomendaciones para su aplicación, las que incluyen la evaluación y diagnóstico de los animales mediante técnicas macro y microscópicas. Además, del

procedimiento que se debe seguir en una aclimatación de postlarvas y el proceso de eliminación de residuos.

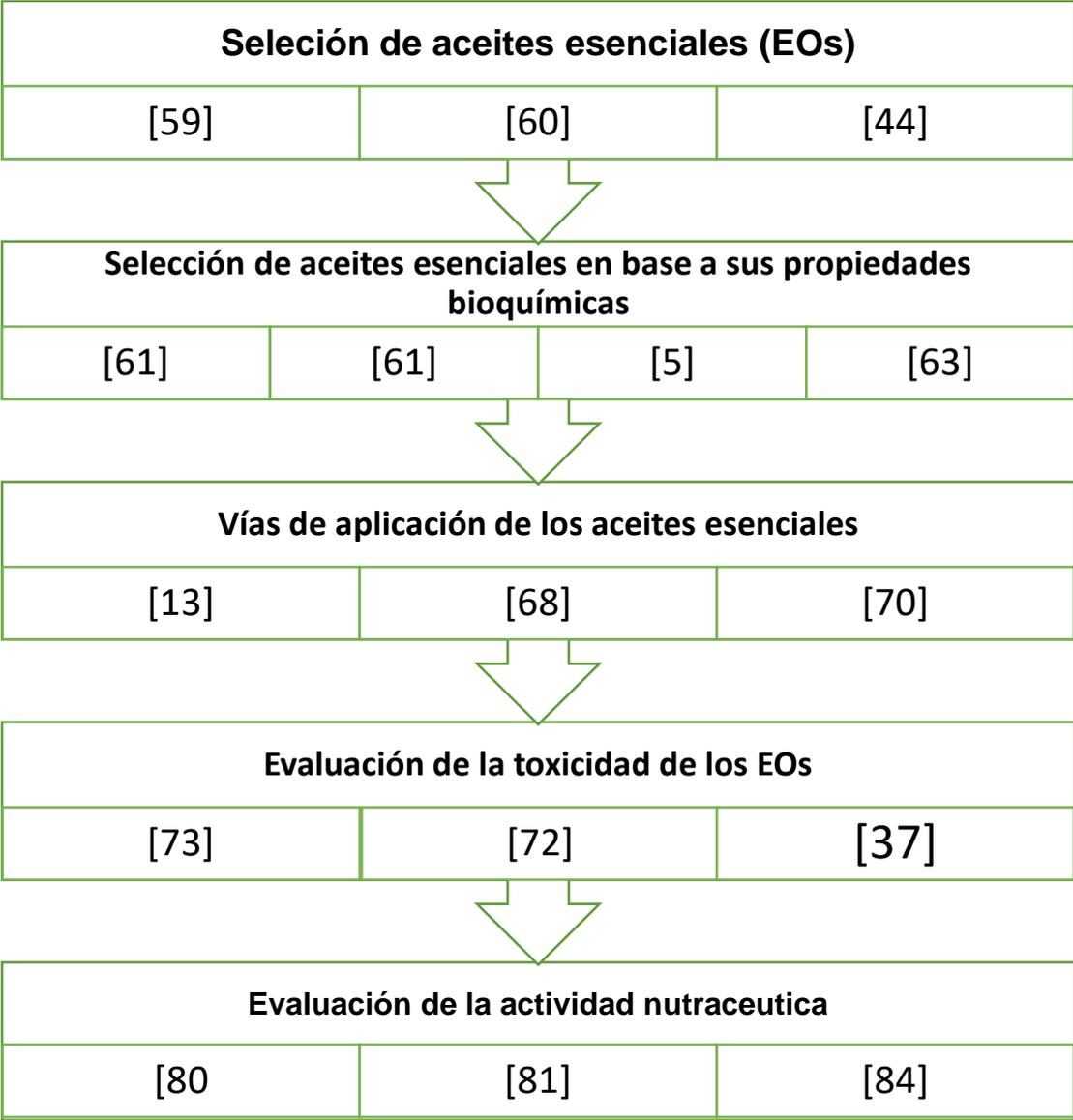


Figura 3.3: Estructura del protocolo de aplicación de EOs en camarones blancos (*Penaeus vannamei*). Elaborado por: [47]

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Los aceites esenciales de orégano (EOOv) y árbol de té (EOMa) fueron evaluados y determinados como la mejor opción para la combinación porcentual de los tratamientos debido a sus propiedades nutricionales, bacteriostáticas, antioxidantes y toxicológicas que ayudarán a disminuir la probabilidad de infecciones bacterianas por *Vibrio spp.* y a mejorar la sobrevivencia final del ciclo de cultivo, además se prevee que la sinergia o mix de estos dos tipos de aceites esenciales puede potenciar su efecto mediante la suma de las propiedades identificadas.
- En las vías de administración evaluadas para la aplicación de EOs se determinó que éstas dependen de la fase de cultivo por lo que para larvas de camarón se recomienda utilizar la inmersión o la inclusión en el alimento balanceado. Para las otras dos fases de cultivo que son juveniles y adultos se pudo evaluar que la inclusión y encapsulación de los componentes bioactivos son la mejor opción de administración.
- La aplicación de este protocolo representa una mejora en cuanto al uso de quimioterapias de alto riesgo ambiental, que podrían llegar a optimizar la producción aumentando el crecimiento de los camarones y controlando las enfermedades sin el impacto ambiental generado por los antibióticos.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda, realizar investigaciones con la combinación de aceites esenciales (EOs), mediante ensayos *In vitro* e *In vivo* que determinen la MIC y la MCB en el cultivo larvario de camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Así mismo, se debe estudiar las implicaciones fisiológicas que tienen los compuestos orgánicos de cada uno de los EOs combinados sobre dichos crustáceos.

- Se recomienda que antes de utilizar los EOs en los tanques de postlarvas del laboratorio o en los raceways que mantenga el camaronero en su granja se debe revisar las condiciones fisicoquímicas del agua para descartar cualquier resultado aberrante a los esperados.
- Existe poca información acerca del tiempo de exposición y su efecto en las postlarvas, por lo tanto recomendamos que se realicen estudio en base a lo mencionado anteriormente y de esta manera optimizar la producción de camaron blanco.

Bibliografía

- [1] Fideicomiso de Riesgo Compartido , "Gobierno de México," 5 Diciembre 2016. [Online]. Available: <https://www.gob.mx/firco/articulos/acuacultura-actividad-de-gran-importancia>.
- [2] FAO, "El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos.," FAO, Roma, 2016.
- [3] FAO, "El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción," 2020. [Online]. Available: <https://doi.org/10.4060/ca9229es..>
- [4] FAO, "Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura," 2021. [Online]. Available: <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/es>.
- [5] L. A. Chanta, "Efecto del neem (*Azadirachta indica*) y orégano (*Origanum vulgare*) en el crecimiento de *Vibrio* spp. resistentes a antibióticos, aislados de *Litopenaeus vannamei*," Tumbes, 2019.
- [6] Y. Piedrahita, "La industria de cultivo de camarón en Ecuador, parte 1," *Global Aquaculture Advocate* , pp. 1-9, 2018.
- [7] M. Piriou, "Reducing early impact of WSSV in shrimps.," *Future farming*, pp. 1-7, 2019.
- [8] J. L. Anderson, D. Valderrama and D. Jory, "Revisión y pronóstico de la producción mundial de camarón: crecimiento constante por delante," *Global Aquaculture Advocate*, pp. 1-6, 2018.
- [9] P. García, "Resistencia bacteriana en Chile," *Rev Chil Infect*, vol. 20, no. 1, pp. 11-23, 2003.
- [10] Buschmann, Alejandro, "Impacto Ambiental de la acuicultura. El estado de la investigación en Chile y el mundo," Osorno, Chile, 2001.

- [11] J. García Márquez , Artist, *Selección de extractos vegetales como inhibidores de bacterias patógenas de peces y utilización en la acuicultura*. [Art]. Universidad de Cádiz, 2018.
- [12] M. Rivas, A. Miranda and M. Sandoval, "Compuestos bioactivos de origen marino y su aplicación en acuicultura," in *Alimentos funcionales y compuestos bioactivos* , México, 2015, pp. 161-172.
- [13] C. Domínguez-Borbor, A. Sánchez-Rodríguez, S. Sonnenholzner and J. Rodríguez, "Essential oils mediated antivirulence therapy against vibriosis in *Penaeus vannamei*," *Aquaculture*, vol. 529, 15 December 2020.
- [14] S. P. Newman, "¿Por qué los residuos de antibióticos en el camarón de cultivo son algo importante?," *Global Aquaculture Alliance* , pp. 1-6, 2019.
- [15] M. Howell, "Es complicado: revisar el uso de aceites esenciales en la acuicultura.," 30 06 2019. [Online]. Available: <https://thefishsite.com/articles/its-complicated-reviewing-the-use-of-essential-oils-in-aquaculture>.
- [16] J. A. Da Cunha, B. M. Heinzmann and B. Baldisserotto, "The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens - a review.," *Journal of applied microbiology* 125(2), pp. 328-344, 2018.
- [17] M. A. Sotomayor, J. K. Reyes, L. Restrepo, C. Domínguez Borbor, M. Maldonado and B. Bayot, "Efficacy assessment of commercially available natural products and antibiotics, commonly used for mitigation of pathogenic *Vibrio* outbreaks in Ecuadorian *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* hatcheries.," *PloSone* 14(1), 2019.
- [18] L. J. Cifuentes, M. D. P. Torres Gracia and M. Frías Mondragón, "Biblioteca digital," 1997. [Online]. Available: http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/090/html/ocean_o11.html.
- [19] J. L. P. Anderson, D. P. Valderrama and J. P. Darryl E. , "GOAL 2019: Revisión de la producción mundial de camarones," *Global Aquaculture Advocate*, pp. 1-5, 2019.

- [20] V. Morales and J. Cuéllar-Anjel, Guía técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos, Panamá, Rep. Panamá, 2014, p. 392.
- [21] Marcos Godoy, "Marcos Godoy," 18 Agosto 2013. [Online]. Available: https://www.marcosgodoy.com/index.php?option=com_content&view=article&id=149:el-desafio-de-las-infecciones-emergentes-y-reemergentes-en-acuicultura&catid=124:enfermedades-emergentes&Itemid=435&lang=es.
- [22] A. Figeredo, J. L. Fuentes, T. Cabrera, J. León, J. Pattl, J. Silva, E. Ron, O. Pichardo y N. Marcano, «Bioseguridad en el cultivo de camarones penaeidos: una revisión,» *AquaTechnica*, pp. 1-22, 2020.
- [23] J. Cuellar Anjel, "Vibriosis," Iowa, 2013.
- [24] L. P. Osorio and J. Cuéllar-Anjel, "Vibriosis en camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*," Bogotá, 2019.
- [25] M. L. S. H, A. E. P. and M. d. C. B. A., "Uso de antibióticos en la camaronicultura," *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 40, no. 3, pp. 22-32, 3 Julio 2009.
- [26] C. M. R. López, "Toxicidad de antibióticos utilizados en acuicultura sobre una microalga marina," 2014.
- [27] L. Sorroza, D. Padilla, F. Acosta, L. Román, B. Acosta and F. Real, "Uso de probióticos en Acuicultura," *Revista Canarias de las Ciencias Veterinarias*, vol. 6, no. 7, pp. 51-54, 2009.
- [28] L. M. Mosquera, L. M. Cardona, C. P. Carvalho and C. R. Narváez, "Probióticos y prebióticos en acuicultura," 2015.
- [29] D. Iribarren, P. Dagá, M. T. Moreira and G. Feijoo, "Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture," *Aquaculture Internstional*, vol. 20, pp. 779-789, 2012.
- [30] J. Suárez, "Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos," *Nutrición Hospitalaria*, vol. 31, no. 1, pp. 3-9, 2015.

- [31] E. Ringoe, R. E. Olsen and R. A. Dalmo, "Prebiotics in aquaculture," *Aquaculture Nutrition*, vol. 16, no. 2, pp. 117-136, January 2010.
- [32] D. M. Gatlin, P. L. Wang, G. S. Burr, F. Castille and A. L. Lawrence, "Potential Application of Prebiotics in Aquaculture," *Nutricio Acuícola*, pp. 371-376, 2006.
- [33] J. P. Palacios, C. Santander, A. Z. Lucero and J. L. Macias, "Evaluacion comparativa de prebióticos y probióticos incorporados en el alimento comercial sobre el crecimiento y la sobrevivencia de una especie nativa, el sábalo amazónico (*Brycon melanopterus*) y una especie foránea, trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*)," *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola*, vol. 2, 2007.
- [34] N. P. Wing Keong and K. P. Chik-Boon , "Organic acids in aquafeeds: A potential substitute for antibiotics," *Global Aquaculture Alliance*, pp. 1-6, 2018.
- [35] R. B. Saori Mine, "Effect of Organic Acids on Shrimp Pathogen, *Vibrio harveyi*," *Springer*, pp. 1-7, 2011.
- [36] M. G. Agurto Rodríguez, Artist, *Selección y evaluación de concentraciones de extractos naturales con potencial actividad antibacteriana, antioxidante e inmunoestimulante sobre el camarón (*Penaeus vannamei*)*. [Art]. Universidad técnica de Machala, 2011.
- [37] A. A. Aguilar and M. A. Astudillo, "Diseño de un protocolo de inclusión de extractos de macroalgas como estrategia para mejorar la supervivencia en postlarvas de camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*)," Guayaquil, 2020.
- [38] C. d. Freitas, M. D. Baldissera, B. Baldisserotto, B. M. Heinzmann, J. A. Martos-Sitch and J. M. Mancera, "Essential Oils as Stress- Reducing Agents for Fish Aquaculture," *Frontiers in Physiology*, 20 June 2019.
- [39] C. Orozco Medina, H. Martina, Gracia Valenzuela and C. Molina Maldonado, "Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en

- bacterias patógenas de camarón *Litopenaeus vannamei*., " *Scielo*, pp. 201 - 206, 2012.
- [40] C. Carson, K. Hammer and T. Riley, "Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties," in *Revisiónes de microbiología clínica* , 2006, pp. 50-62.
- [41] M. T. L. Luengo, "Tomillo," *Ámbito Farmacéutico Fitoterapia*, vol. 25, no. 1, pp. 74-77, Enero 2006.
- [42] Y. Carbay and L. Sorroza, "Uso de extracto alcoholico de las plantas tomillo (*Thymus vulgaris*), guayaba (*Psidium guajava*) y eucalipto (*Eucalyptus melliodora*) frente a la vibriosis en acuicultura," *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, vol. 2, no. 3, pp. 48-55, Septiembre 2019.
- [43] S. Direkbusarakom, A. Herunsalee, M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura, "Title Efficacy of Guava (*Psidium Guajava*) Extract Against Some Fish and Shrimp Pathogenic Agents," in *Third Symposium on Diseases in Asian Aquaculture.*, Bangkok, Thailandia, 1997.
- [44] D. García, "Ciencia y Acuicultura," 26 Abril 2020. [Online]. Available: <https://dgacuicultura.com/2020/04/26/enfoque-biologico-para-el-control-de-enfermedades-en-acuicultura/>.
- [45] L. Flores, "Comparación in vitro de la actividad antifúngica de aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*) e hinojo (*Foeniculum vulgare*) frente a agente causal de la antracnosis," Cuenca, 2019.
- [46] S. O. L. Scarlett, Artist, *Evaluación del efecto de dos plantas medicinales sobre la presencia de Vibrios spp. en el cultivo de camarón blanco (Litopenaeus vannamei)*.. [Art]. Universidad técnica de Machala, 2019.
- [47] R. Reyes and C. Valle, "Diseño de protocolo para la inclusion de aceites esenciales en la producción de camaron blanco *Penaeus vannamei*," Guayaquil, 2021.

- [48] M. C. Anguisaca, "Evaluación del efecto de dos plantas medicinales sobre la presencia de *Vibrios* sp. en agua de piscina camaronera," Machala , 2015.
- [49] H. Loeza-Concha, S. Salgado-Moreno, F. Ávila-Ramos, R. Gutiérrez-Leyva, A. Domínguez-Rebolledo, M. Ayala-MARTínez and F. Escalera-Valente, "Revisión del aceite de orégano spp. en salud y producción animal," *Abanico Agroforestal*, pp. 1-22, 2019.
- [50] L. S. García, "Uso de aceites esenciales y prebióticos como aditivo sobre el alimento balanceado, evaluación de su efecto en la tasa de crecimiento y sobrevivencia en *Litopenaeus vannamei*," Guayaquil, 2014.
- [51] J. Revilla, A. Márquez, D. Rodríguez, C. Dominguez, J. Rodríguez, C. Lodeiros and S. Sonnenholzner, "Oregano oil as a therapeutic treatment in the production of mixotrophic larvae of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus*," *Aquaculture*, vol. 498, pp. 422-427, 2019.
- [52] C. F. Souza, M. D. Baldissera, L. d. L. Silva, M. A. Geihs and B. Baldisserotto, "Is monoterpene terpinen-4-ol the compound responsible for the anesthetic and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil (tea tree oil) in silver catfish?," *Aquaculture*, vol. 486, pp. 217-223, 3 February 2018.
- [53] A. Hernández, B. G. García, M. Caballero, S. Torrecillas and M. Hernández, "Aceite esencial de tomillo como inmuno-estimulante en dorada (*Sparus aurata*): Histología intestinal," 2013.
- [54] V. S. Saldaña, "Evaluación de productos naturales para el control profiláctico de patógenos en el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)," Machala, 2019.
- [55] M. Abdel-Tawwab and H. S. Hamed, "Antagonistic effects of dietary guava (*Psidium guajava*) leaves extract on growth, hemato-biochemical, and immunity response of cypermethrin-intoxicated Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings," *Aquaculture*, vol. 529, p. 735668, 15 December 2020.
- [56] C. d. F. Souza, C. Rampelotto, B. B. Loureiro, F. A. Pereira, A. E. Bianchini, C. D. Corcine, A. Varela, T. Emanuelli, L. P. d. Silva, S. T. d. Costa and K. Bertolin,

- "Effects of dietary microencapsulated *Cymbopogon flexuosus* essential oil on reproductive-related parameters in male *Rhamdia quelen*," *Fish Physiol Biochem*, vol. 44, pp. 1253-1264, 2018.
- [57] M. Kumar, J. Kumar and Satyanarayana, "Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture," *Scholars Research*, vol. 2, no. 3, pp. 397-400, 2012.
- [58] L. Sorroza, M. Campoverde and R. Santacruz, "Estudio preliminar del extracto de dos plantas medicinales con efecto antibacteriano para uso en acuiculturas," *Aquatic*, no. 49, pp. 1-7, 2017.
- [59] M. Numpaque, L. Oviedo, J. Gil, C. García and D. Durango, "Timol y carvacrol: biotransformación y actividad antifúngica contra los hongos fitopatogénicos *Colletotrichum acutatum* y *Botryodiplodia theobromae*," *Tropical Plant Pathology*, vol. 36, no. 1, pp. 003-013, 2011.
- [60] G. Swangdacharuk, H. S and S. T. Tan, "Fitobióticos y ácidos orgánicos como método natural para controlar la vibriosis en camarones peneidos," *Aquacultura*, vol. 141, pp. 34-37, Junio 2021.
- [61] E. Palou-García and R. García, "Mecanismo de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos," *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, vol. 2, no. 2, pp. 41-51, 2008.
- [62] M. J. Erazo, F. Arroyo, D. Arroyo, M. Castro, S. Santacruz and A. d. C. Armas, "Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de *Streptococcus mutans*," *Revista Cubana de Estomatología*, vol. 54, no. 4, 2017.
- [63] N. López, "Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud," *Revista Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, vol. 40, no. 1, 2012.
- [64] H. Barrera and A. Rodríguez, "Elaboración de un balanceado para pollitas con aceite esencial de orégano," Bogotá, 2008.

- [65] A. Ortíz, "Evaluación de aceites esenciales y antibióticos sobre los índices productivos y morfometría de las vellosidades intestinales en pollos de engorde," Cevallos, 2018.
- [66] S. Astudillo, "Utilización de aceites esenciales naturales como conservantes en la elaboración de salchichas de pollo," Cuenca, 2014.
- [67] A. E. Asbahani, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E. Ait, H. Casabianca, A. E. Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F. Renaud and A. Elaissari, "Essential oils: From extraction to encapsulation," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 483, no. 1, pp. 220-243, 2015.
- [68] M. Saenz, F. Aguilar, F. Alarcón, R. Pedrosa, E. Peña, R. Martínez, R. Guerrero, W. Matamoros and C. Áñvarez, "Alimentos microencapsulados para el cultivo de larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)," *Revista de Biología Tropical*, vol. 66, no. 3, Julio-Septiembre 2018.
- [69] G. Tapuy, "Elaboración de queso andino con la adición de una mezcla de aceites esenciales microencapsulados de plantas aromáticas comestibles," Pastaza, 2019.
- [70] B. H. G. A. Rui Gonçalves Gonçalo A. Santos, "Extrusión, aceites esenciales y optimización de los alimentos acuícolas.," *Aquafeed*, pp. 1-7, 2018.
- [71] R. A. Parra Huertas, "Revisión: Microencapsulación de Alimentos," *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), pp. 5669-5684, 2010.
- [72] M. Pateiro, P. E. Munekata, C. Tsatsanis, R. Domínguez, W. Zhang, F. Barva and J. Lorenzo, "Evaluation of the protein and bioactive compound bioaccessibility/bioavailability and cytotoxicity of the extracts obtained from aquaculture and fisheries by-products," in *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 92, 2020, pp. 97-125.
- [73] I. Casado, N. Mora, G. Ferrer, S. Fernández and D. Pino, "Citotoxicidad in vitro y potencialidades de los compuestos quinoídes como agentes antitumorales,"

Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia, vol. 32, no. 1, Enero 2016.

- [74] B. Vasakorn , M. Warasinee , L. Nutthalak and J. Puntipa , "Acute toxicity of essential oil compounds (thymol and 1,8-cineole) to insectivorous guppy, *Poecilia reticulata* Peters, 1859," *Agriculture and Natural Resources*, pp. 190-194, 2018.
- [75] A. C. Guimaraes, L. Martins Meireles, M. Fumiere Lemos, M. C. Cunegundes Guimaraes, D. Couthinho Endringer, M. Fronza and R. Scherer, "Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids. Present in Essential Oils," *MPDI Open Access Journals*, pp. 95-103, 2019.
- [76] M. H. Gracia-Valenzuela, C. Orozco Medina and C. Molina Maldonado, "Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en bacterias.," *Hidrobiológica*, pp. 201-206, 2012.
- [77] A. Jimenez, L. Ramírez, E. Cano and M. E. Ocete, "Toxicidad de la azadiractica y del triclorfón sobre especies presentes en los cultivos de arroz de las marismas del Bajo Guadalquivir.," *Boletín de sanidad vegetal*, pp. 1003-1008, 1998.
- [78] R. Larson, "The commercialization of neem. In *Fociis on Phytochemical pesticides. The Neem Tree.*," pp. 155-168, 1989.
- [79] C. Zebitz, " In *Proceedings, 3rd International Neem Conference on natural Pesticides from the Neem Tree (Azadirachta indica) and other Plants.*," in *Potential of neem seed extracts in mosquito control.*, Eschbom., 1987.
- [80] E. L. Fernández, *Alimentos funcionales y nutraceuticos*, Madrid, España: Sociedad española de cardiología, 2007, pp. 1-93.
- [81] C. . E. Restrepo Flórez, H. H. Estrada López and H. G. Saumett España, "Nutracéuticos y alimentos funcionales: Una revisión de oportunidades," in *Productos de confite nutraceuticos y biofertilizantes. Una opción empresarial para cultivadores de frutas y hortalizas.*, Barranquilla, Universidad Simón Bolívar, 2017, pp. 141-178.

- [82] J. León-Sánchez, M. Salgado-Cruz, M. Sánchez-Mundo and A. Cortés-Sánchez, "Ácido linoleico conjugado: de la naturaleza al uso de la biotecnología," *Revista Cubana de Química*, vol. 26, no. 3, pp. 235-258, 3 Agosto 2014.
- [83] J. Muniyappan, VanithaVaradharajan and Pushpabharathi, "Biochemical Screening and Determination of Bioactive Components of Commercially Cultured Pacific White Shrimp *Penaeus vannamei*," *Pharmacogn*, May 2021.
- [84] H. Nolasco, "Estimación de la Heredabilidad de Ácidos Grasos en *Litopenaeus vannamei*," Baja California, 2016.
- [85] J. Palá, "Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género *Eryngium* L., en la Península Ibérica," Madrid, 2002.
- [86] A. Martín, S. Serrano, A. Santos, D. Marquina and C. Vázquez, "Bioluminiscencia bacteriana," *Reduca Biología, Serie Microbiología*, vol. 3, no. 5, pp. 75-86, 2010.
- [87] W. He, S. Rahimnejad, L. Wang, K. Song, K. Lu and C. Zhang, "Effects of organic acids and essential oils blend on growth, gut microbiota, immune response and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus*," *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 70, pp. 164-173, 2017.
- [88] C. L. Domínguez Borbor, "'ACEITES ESENCIALES COMO INHIBIDORES DE LA VIRULENCIA DE *Vibrio* spp. PATÓGENOS DE CAMARÓN *P. vannamei*'," Guayaquil, Ecuador, 2020.
- [89] A. Hassoun and O. Emir, "Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 68, pp. 26-36, 2017.
- [90] A. d. C. T. Llerena, "Efectos del Aceite Esencial de Orégano (*Oreganum vulgare*) como Promotor Efectos del Aceite Esencial de Orégano (*Oreganum vulgare*) como Promotor.," Quito, 2015.
- [91] F. A. Cristancho Vanegas, "Propiedades y cualidades del árbol de Neem (*Azadirachta indica* a. juss) como especie promisorio en arreglos agroforestales.," Ibagué, 2020.

- [92] K. A. H. A. M. y. E. M. Sadek, "Evaluación de Digestarom y tomillo como aditivos alimentarios fitogénicos para pollos de engorde.," *Ciencia avícola europea* , 78, pp. 1-12, 2014.
- [93] M. T. M. A. R. S. V. N. M. M. C. .. y. S. V. Kumar, "Hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.): composición nutricional, perfil fitoquímico y bioactividades promotoras de la salud.," *Alimentos*, p. 752, 2021.
- [94] N. Puvaca, E. Lika , S. Cocoli, T. Shtylla Kika, V. Bursic, G. Vukovic, M. T. Simin, A. Petrovic and M. Cara, "Use of Tea Tree Essential Oil (*Melaleuca alternifolia*) in Laying Hen's Nutrition on Performance and Egg Fatty Acid Profile as a Promising Sustainable Organic Agricultural Tool.," *Sustainability MPDI*, p. 3420, 2020.
- [95] J. Cuéllar-Anjel, "Vibriosis," *The center food security & Public health* , p. 5, 2013.
- [96] B. Gomez Gil, A. Roque and S. Soto Rodriguez, "Vibriosis en camarones y su diagnostico," in *Avance en acuicultura y manejo ambiental*, Mexico, 2015, pp. 137-150.
- [97] C. Dominguez Borbor, A. Sánchez-Rodríguez, S. Sonnenholzner and J. Rodríguez, "Terapia antivirulencia mediada por aceites esenciales contra la vibriosis en *Penaeus vannamei*," *Science direct*, p. 14, 2020.
- [98] FAO, "Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura," 2016. [Online]. Available: <http://www.fao.org/3/i5555s/i5555s.pdf>. [Accessed 19 Junio 2021].
- [99] F. Moreno, "Industria del camarón: su responsabilidad en la desaparición de los manglares y la contaminación acuática," *REDVET. Revista Electrónica Veterinaria* , vol. 11, no. 5, 05 Mayo 2010.
- [100] Yahira Piedrahita, «La industria de cultivo de camarón en Ecuador, parte 1,»
] *Aquaculture Allience*, pp. 1 - 9, 23 Julio 2018.
- [101] Piedrahita Yahira, "La industria de cultivo de camarón en Ecuador, parte 2,"
] *Aquaculture allience*, pp. 1 - 9, 2018.

- [102 Y. C. Uyaguari, "Uso de extracto alcoholico de plantas tomillo, guayaba y eucalipto frente a la vibriosis en la Acuicultura," Machala, 2019.
- [103 A. Buschmann, "Riesgos asociados al uso de antibioticos en acuicultura," Chile, 2019.
- [104 M. González, S. Gonzalo, I. Rodea, F. Leganés, R. Rosal, K. Boltes, E. Marco and F. Fernández, "Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment," *Water Research*, vol. 47, no. 6, pp. 2050-2064, 15 Abril 2013.
- [105 H. L. Concha, S. S. Moreno, F. Á. Ramos, R. G. Leyva, A. D. Rebolledo, M. A. Martínez and F. E. Valente, "Revisión del aceite de orégano spp. en salud y producción animal.," *Abanico Agroforestal*, pp. 1-22, 01 04 2020.
- [106 D. R. Pesantes, C. Lodeiros, J. Revilla, A. Marquez and S. Sonnenholzner, "Tratamiento físico-químico del agua para el cultivo larvario y el asentamiento de ostras del Pacífico *Crassostrea gigas*," Guayaquil, 2020.
- [107 A. V. -. Mejías and R. A. -. Mora, "Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura," *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* , vol. 29, no. 1, 2018.
- [108 J. R. Delgado, *Sensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de *Penaeus vannamei**, La Libertad, Santa Elena , 2018.
- [109 L. V. Díaz and M. M. Silva, "Probióticos como herramienta biotecnológica en el cultivo de camarón," *Bol. Invest. Mar. Cost*, vol. 38, no. 2, pp. 165-187, 2009.
- [110 J. Reyes, Artist, *Sensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de *Penaeus vannamei**. [Art]. Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena, 2018.
- [111 Cuéllar-Anjel, Jorge, "Síndrome de mortalidad temprana (EMS)," *The center for food security and public health*, p. 7, 2013.

- [112 L. R. Intriago, "Principales síntomas y técnicas para la identificación del Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS) en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*," Machala , 2019.
- [113 W. Intriago, "Problemas de aislamiento y caracterización de bacterias asociadas al Síndrome de Zoea II y demostración experimental de su patogenicidad," Guayaquil, 1998.
- [114 C. P. Limsuwan and C. P. Ching, "Postlarvae evaluation key to controlling shrimp diseases," *Global Aquaculture Alliance*, pp. 1-6, 2013.
- [115 Cámara Nacional de Acuicultura, "Camarón - Reporte de Exportaciones Ecuatorianas Totales," 2021.
- [116 H. Pérez-Cano and A. Robles-Contreras, "Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana," *Revista Médica MD*, vol. 4, no. 3, pp. 186-191pp, 01 Mayo 2013.
- [117 J. K. Reyes Delgado, Artist, *ensibilidad bacteriana a agentes terapéuticos utilizados para controlar problemas bacterianos en larvicultura de *Penaeus Litopenaeus vannamei**. [Art]. Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2018.
- [118 B. Marín Soler, Artist, *Propiedades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de *Oreganum Compactum* de cultivo ecológico: Revisión*. [Art]. Universidad Miguel Hernández de Elche, 2016.
- [119 A. Blanco Hernández, R. García Contreras, R. E. Sánchez Fernández , M. Palma Tenango, J. Cibrián Tovar, N. Muñoz Cazares and Castillo Juárez , "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIVIRULENCIA DE ACEITES ESENCIALES CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*," *Revista Fitotecnia Mexicana*, pp. 215-225, 2019.
- [120 M. A. Hosain and X. Liangyi, "Impacts of probiotics on feeding technology and its application in aquaculture," *ournal of Aquaculture, Fisheries & Fish Science*, vol. 3, no. 1, pp. 147-185, 2020.

- [121 I. Rodríguez, "El uso de ácidos orgánicos (ACID5FIVE) pueden reemplazar el uso
] de antibióticos en la producción camaronera," *Aquacultura*, vol. 127, pp. 43-48,
Febrero 2019.
- [122 S. Rimoldi, E. Gliozheni, C. Ascione, E. Gini and G. Terova, "Effect of a specific
] composition of short- and medium-chain fatty acid 1-Monoglycerides on growth
performances and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)," *Aquatic
Biology*, 2018.
- [123 J. García, "Selección de extractos vegetales como inhibidores de bacterias
] patógenas de peces y utilización en acuicultura," 2018.
- [124 S. M. Chávez and R. L. Montoya, " Medidas de bioseguridad en granjas
] camaronícolas.," *Panorama Acuícola Magazine*, pp. 54-59, 2005.
- [125 J. O. Errecalde, "Uso de Antimicrobianos en animales de consumo," *FAO*, 2004.
]
- [126 S. Bravo, H. Dolz, M. Silva, C. Lagos, A. Millanao and M. Urbina, "Diagnostico del
] uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura," Puerto Monnt ,
2005.
- [127 N. Mendoza and A. Campos, "Tetraciclinas," *Rev Fac Med*, vol. 51, no. 1, pp. 29-
] 32, Enero 2008.
- [128 P. M. Manage, "Heavy use of antibiotics in aquaculture; emerging human and
] animal health problems—a review.," Nugegoda, Sri Lanka, 2018.
- [129 R. M. García García and E. Palou García, "Mecanismos de acción antimicrobiana
] del timol y carvacrol sobre microorganismo de interés en alimentos.," Puebla,
México, 2008.
- [130 M. Alagawany, M. E. Abd El-Hack, F. Mayada Ragab, T. Ruchi y D. Kuldeep,
] «Biological Effects and Modes of Action of Carvacrol in Animal and Poultry
Production and Health - A Review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*,»
ResearchGate, pp. 73-84, 2015.

- [131 FAO, "Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura," 2019. [Online]. Available: <http://www.fao.org/in-action/globefish/marketreports/resource-detail/es/c/1241384/>.
- [132 F. Marino, G. Di Caro, C. Gugliandolo, A. Spanò, C. Faggio, G. Genovese, M. Morabito, A. Russo, D. Barreca, F. Fazio and A. Santulli, "Preliminary study on the in vitro and in vivo effects of *Asparagopsis taxiformis* bioactive phycoderivates on teleosts," *Frontiers in physiology*, 7, 459, 2016.
- [133 C. Domínguez, B. Chalén and J. Rodríguez, "A simple in vitro method to evaluate the toxicity of functional additives used in shrimp aquaculture," *MethodsX*, vol. 5, pp. 90-95, 2018.
- [134 G. Horna, M. Silva, W. Vicente and J. Tamariz, "Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.," *Revista Médica Herediana*, vol. 16, no. 1, pp. 39-45, 2005.
- [135 ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", "Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución," vol. 32, no. 2, 2012.
- [136 C. Barros and V. Gamez, "Determinación de la concentración letal media (CL50-96) del Glifosato Roundup 747SG, por medio de bioensayos utilizando alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)," Bogotá, 2008.
- [137 T. Walters, "Investopedia," 28 2021. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/a/anova.asp>.

APÉNDICE



Apéndice 1. Portada del protocolo de selección y aplicación de aceites esenciales en camarón blanco. Elaborado por: [47]



01	INTRODUCCIÓN	Pag. 4
02	IMPORTANCIA	Pag. 5
03	DESCRIPCIÓN	Pag. 6
04	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS EOS	Pag. 7
05	VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	Pag. 8
06	ACTIVIDAD BACTERIOSTÁTICA Y BACTERIOLÓGICA	Pag. 10
07	ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA	Pag. 11
08	ACEITES ESENCIALES EN LA INDUSTRIA ACUÍCOLA	Pag. 12
09	VIBRIOS EN ECUADOR	Pag. 16
10	BIBLIOGRAFÍA	Pag. 17

Apéndice 2. Índice con los temas tratados en el protocolo de inclusión de aceites esenciales.
Elaborado por: [47]

A continuación se presenta una tabla con estudios sobre los efectos de los aceites esenciales en especies de interés acuícola como crustáceos y peces. Demostrando los múltiples beneficios gracias a sus propiedades.



ACEITE ESENCIAL	PROPIEDADES	PATÓGENOS O BACTERIAS	ESPECIES ESTUDIADAS	ESPACIO	REFERENCIA
Orégano (<i>Organum vulgare</i>)	Antimicrobiano Antioxidante Reducción de niveles de estrés	<i>V. campbelli</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. harveeyi</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	Camarones (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Tilapia roja (<i>Oreochromis spp</i>) Almeja mano de león (<i>Nodipecten sunodosus</i>)	Bactericida, Inhibición de quorum sensing, Inhibición en crecimiento de bacterias Gram negativas, Proliferación de bacterias benéficas, Tratamiento terapéutico en el desarrollo embrionario de bivalvos. Suplemento en dietas.	(Anguisaca, 2015) (Loeza-Concha, y otros, 2019) (García L. S., 2014) (Revilla, y otros, 2019)
Árbol de Té (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	Efecto anestésico Antioxidante Antiséptico Antiparasitario Antibacteriano	<i>V. campbelli</i> <i>V. harveeyi</i>	Bagre plateado (<i>Rhamdia quelen</i>) Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) Dorada (<i>Sparus aurata</i>) Camarón blanco (<i>Penaeus vannamei</i>)	Inhibición de quorum sensing Bactericida Inhibición de luminiscencia de Vibrios sp.	(Dominguez-Borbor, Sánchez-Rodríguez, Sonnenholzner, & Rodríguez, 2020) (Souza, Baldissera, Silva, Geihs, & Baldisserotto, 2018)
Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	Antimicrobiano Inmunoestimulante Actividad antimicrobiana	<i>V. campbelli</i> <i>E. coli</i> <i>Brochotrix thomosphacta</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Dorada (<i>Sparus aurata</i>)	Bactericida Inhibición de quorum sensing	(Hernández, García, Caballero, Torrecillas, & Hernández, 2013) (Saldana, 2019)

Apéndice 3. Principales aceites esenciales utilizados en la industria acuícola. Elaborado por: [47]