



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA: MEDICINA VETERINARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MEDICA VETERINARIA**

**“INFLUENCIA DE LA SALINIDAD SOBRE LA
CONCENTRACIÓN DE VIBRIO spp. EN UN SISTEMA DE
CULTIVO CONTROLADO DE LA ARTEMIA FRANCISCANA.”**

**AUTORA:
AIDA SOLANGE VERA ARAUZ**

**TUTORA:
DRA. IVONNE ESPAÑA GARCÍA, MSC.**

**GUAYAQUIL- ECUADOR
2025**



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

APROBACIÓN DEL TUTOR

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **INFLUENCIA DE LA SALINIDAD SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE VIBRIO spp. EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTROLADO DE LA ARTEMIA FRANCISCANA**, realizado por la estudiante **Vera Arauz Aida Solange**; con cédula de identidad N° 0930877816 de la carrera **MEDICINA VETERINARIA**, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

DRA. IVONNE ESPAÑA GARCÍA, MSC.

Guayaquil, 11 de Diciembre del 2024



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “**INFLUENCIA DE LA SALINIDAD SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE VIBRIO spp. EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTROLADO DE LA ARTEMIA FRANCISCANA**”, realizado por la estudiante VERA ARAUZ AIDA SOLANGE, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Dr. Washington Antonio Yoong Kuffó, MSc.

PRESIDENTE

Dr. Angel Valle Garay, MSc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Dra. Ivonne España García, MSc.
EXAMINADOR SUPLENTE-PRINCIPALIZADO

Guayaquil, 11 de Marzo del 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por la fortaleza e inteligencia que me ha concedido para llevar a cabo esta investigación. A mi familia y a mi pareja, por su constante apoyo en los momentos más difíciles. También, a todos los docentes de la universidad y al personal del laboratorio de Wanbri S.A., quienes con su guía y disposición contribuyeron a la realización de este trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTO

Este trayecto no ha sido fácil pero no hubiera sido posible sin la activa colaboración de las grandiosas personas que he conocido durante este camino, quedo completamente agradecida con todos aquellos que mencionaré a continuación.

A mi pareja, quien me brindó sus conocimientos y esfuerzos físicos para armar toda la investigación.

A mi tutora, la Dra. España, y a la Dra. Hellen Lecaro, quienes, con su paciencia, respeto y valiosa guía, me brindaron las directrices necesarias para convertir este proyecto en un gran trabajo de titulación.

Al Gerente General del laboratorio Wanbri S.A., Dr. Walter Briones por compartir sus conocimientos, y apoyo para culminar este trabajo de investigación.

Y a mis amigos, ya que gracias a su apoyo pude tener fuerza y ánimo para no rendirme en los momentos más difíciles.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo, **Aida Solange Vera Arauz**, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre “**Influencia de la salinidad sobre la concentración de *vibrio spp.* en un sistema de cultivo controlado de la Artemia Franciscana**” para optar el título de **Médico Veterinario**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 11 de Diciembre del 2024

VERA ARAUZ AIDA SOLANGE

C.I. 0930877816

RESUMEN

La presente investigación se basa en la influencia de la salinidad sobre la concentración de vibrio spp. en un sistema de cultivo controlado de la *Artemia Franciscana*, considerando que estas bacterias representan desafíos significativos en la cría intensiva de moluscos, peces y crustáceos debido a su capacidad patogénica. Para ello, se realizaron cuatro tratamientos con diferentes niveles de salinidad durante un periodo de 15 días, los cuales fueron, 20 PPT, 33 PPT, 50 PPT y 80 PPT, además para garantizar resultados confiables se llevaron a cabo tres repeticiones de cada tratamiento. Los resultados mostraron que a medida que aumentaba la salinidad, la concentración de la bacteria disminuía, lo que indica que los niveles de salinidad juegan un papel crucial en el crecimiento de estas bacterias. Conjuntamente, se observó que la supervivencia de *Artemia franciscana* fue buena en condiciones con menor concentración de vibrios durante el periodo de estudio. En conclusión, este estudio no solo destaca la influencia de la salinidad en Vibrio spp., sino que también resalta la necesidad de seguir investigando sobre el comportamiento de estas bacterias en diferentes condiciones ambientales, lo cual es fundamental para asegurar prácticas más seguras y efectivas en la producción acuícola y la salud pública.

Palabras clave: Parámetros fisicoquímicos, Crustáceo, Supervivencia, Bacterias, Acuacultura, Producción.

ABSTRACT

The present research is based on the influence of salinity on the concentration of *vibrio spp.* in a controlled culture system of *Artemia Franciscana*, considering that these bacteria represent significant challenges in the intensive farming of mollusks, fish and crustaceans due to their pathogenic capacity. For this purpose, four treatments were carried out with different salinity levels during a period of 15 days, which were, 20 PPT, 33 PPT, 50 PPT and 80 PPT, in addition to guarantee reliable results, three replicates of each treatment were carried out. The results showed that as salinity increased, the concentration of bacteria decreased, indicating that salinity levels play a crucial role in the growth of these bacteria. In conjunction, it was observed that the survival of *Artemia Franciscana* was good in conditions with lower vibrio concentration during the study period. In conclusion, this study not only highlights the influence of salinity on *Vibrio spp.* but also highlights the need for further research on the behavior of these bacteria in different environmental conditions, which is essential to ensure safer and more effective practices in aquaculture production and public health.

Keywords: *Physicochemical parameters, Crustacean, Survival, Bacteria, Aquaculture, Production.*

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes del problema.....	1
1.2 Planteamiento y formulación del problema	1
1.2.1 <i>Planteamiento del problema</i>	1
1.3 Justificación de la investigación	2
1.4 Delimitación de la investigación	3
1.5 Formulación del problema:	3
1.6 Objetivo General	3
1.7 Objetivos específicos	4
1.8 Hipótesis.....	4
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Estado del arte	5
2.2 Bases Teóricas y Científicas	7
2.2.1 <i>Vibrio spp.</i>	7
2.2.2 <i>Vibriosis en la Seguridad Alimentaria</i>	9
2.2.3 <i>Factores Ambientales relacionados a Vibrio spp.</i>	10
2.2.4 <i>Artemia Franciscana</i>	10
2.2.5 <i>Parámetros Fisicoquímicos</i>	12
2.3 Marco Legal.....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Enfoque de la investigación.....	17
3.1.1 <i>Alcance de la investigación</i>	17
3.1.2 <i>Diseño de investigación</i>	17
3.2 Metodología.....	17
3.2.1 <i>Variables</i>	17
3.2.2 <i>Matriz de Operacionalización de variables</i>	18
3.2.3 <i>Tratamientos</i>	18
3.2.4 <i>Diseño experimental</i>	19
3.2.5 <i>Recolección de datos</i>	19
3.2.6 <i>Técnicas</i>	21
3.2.7 <i>Población y muestra</i>	27

3.2.8 Análisis estadístico	28
4. RESULTADOS.....	30
4.1 Determinación de la carga de <i>Vibrios spp.</i> presente en el agua de cultivo de la <i>Artemia Franciscana</i>	30
4.2 Relación del comportamiento diario de la carga de <i>Vibrio spp.</i> durante el periodo de estudio.....	36
4.3 Asociar la supervivencia de la <i>Artemia franciscana</i> con la carga de <i>Vibrios spp.</i> en los diferentes niveles de salinidad.	46
5. DISCUSIÓN	49
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
6.1 Conclusiones.....	53
6.2 Recomendaciones.....	54
BIBLIOGRAFÍA.....	55
ANEXOS	62
APÉNDICES.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1: Preparación de la oxigenación en acuarios y otros parámetros fisicoquímicos necesarios para el experimento.....	62
Anexo N°2: Medición Precisa de Quistes de Artemia Utilizando una Gramera.....	62
Anexo N°3: Proceso de Eclosión de Quistes de Artemia utilizando un cono de laboratorio, el cual que facilita la eclosión en 24 Horas.....	63
Anexo N°4: Gestión de datos en el computador de parte de la investigadora.....	63
Anexo N°5: Prueba de TCBS en el agua utilizada para eclosión del quiste de <i>Artemia franciscana</i>	64
Anexo N°6: Observación microscópica de la eclosión de quistes de <i>Artemia franciscana</i>	64
Anexo N°7: Preparación del agar TCBS.	65
Anexo N°8: Primeros nauplios de <i>Artemia Franciscana</i>	65
Anexo N°9: Revisión de la vitalidad de los metanauplios.....	66
Anexo N°10: Conteo de UFC de <i>Vibrios spp.</i>	66
Anexo N°11: Cuantificación de las unidades formadoras de colonias por salinidad.....	67
Anexo N°12: Investigadora revisando los resultados de los UFC de Vibrio spp.	67
Anexo N°13: Ingreso de placas sembradas a la incubadora a 32 grados centígrados.	68
Anexo N°14: Ingreso de datos del conteo diario de UFC de <i>Vibrios spp</i> en Agar TCBS.....	68
Anexo N°15: Acuarios usados para el experimento.	69
Anexo N°16: Revisión de la artemia en el microscopio.....	69
Anexo N°17: Revisión de la artemia en estado adulto.	70
Anexo N°18: Finalización del conteo de UFC de <i>Vibrio spp.</i>	70

ÍNDICE DE APÉNDICES

Apéndice N°1: Supuestos de Normalidad	71
Apéndice N°2: Supuesto de Homocedasticidad.....	72
Apéndice N°3: Supuesto de Independencia de muestras	76
Apéndice N°4: Supervivencia de Artemia Franciscana	79

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes del problema

En el siglo XXI, la acuicultura ha emergido como un elemento fundamental para garantizar la seguridad alimentaria y nutricional a nivel mundial, superando a la pesca de captura silvestre (FAO, 2022). Este crecimiento exponencial provoca una preocupación sobre la prevalencia de bacterias del género *Vibrio*, las cuales mantienen una estrecha relación con los invertebrados acuáticos debido a que *Vibrio spp.* son habitantes naturales de entornos acuáticos con diversas salinidades y temperaturas cálidas, además de distribuirse extensamente en sistemas acuícolas (De Souza Valente y Wan, 2021).

Estas bacterias son conocidas por su potencial patogénico y su impacto en la salud pública y la economía, ya que causan enfermedades como la vibriosis en crustáceos, moluscos y peces de producción alimentaria. Históricamente, se asocian al cólera, una enfermedad transmitida por *V. cholerae* a través de agua o alimentos contaminados. Otras infecciones suelen darse por el consumo de mariscos contaminados o por el contacto con agua contaminada por otros tipos de *Vibrio spp.*, causando gastroenteritis, infecciones de heridas, otitis o septicemia (Brumfield, et al., 2021).

Dado que el *Vibrio spp.* puede adaptarse en el medio acuícola, esta investigación se centró en evaluar el impacto de la salinidad con la presencia de *Vibrio spp.* en un sistema de cultivo controlado de *Artemia franciscana*, debido a que este crustáceo proporciona un entorno favorable para el desarrollo de esta bacteria, por lo tanto, comprender cómo factores ambientales como la salinidad afectan la dinámica de estas bacterias es crucial para avanzar en el conocimiento de su comportamiento en entornos acuícolas, lo que a su vez contribuye a la seguridad alimentaria y la salud pública a nivel global.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Vibrio spp. representa un desafío significativo para la acuicultura, ya que investigaciones como la de Mohamad et al. (2019) señalan que aún falta conocimiento sobre *Vibrio spp.* y la enfermedad que provoca, conocida como vibriosis. Esta limitación en la comprensión de *Vibrio spp.* y sus efectos obstaculizan

el progreso en los aspectos de control y prevención de enfermedades en los organismos acuáticos, tal como lo señala el estudio de Defoirdt et al. (2006).

Entre los vibrios más conocidos en la acuicultura son *Vibrio harveyi*, *Cholerae*, *alginolyticus* y *parahaemolyticus*, los cuales representan desafíos significativos en la cría intensiva de moluscos, peces y crustáceos debido a su capacidad patogénica. Además de que estas bacterias son capaces de tolerar un amplio rango de salinidades (Leyton y Riquelme, 2008).

En este contexto, la *Artemia Franciscana* al ser un organismo acuático, proporciona un entorno propicio para el crecimiento de bacterias como *Vibrio spp.* ya que es ampliamente empleada en larvicultura debido a su fácil manejo, tamaño adecuado y alta calidad nutricional (Mali, et al., 2023). Asimismo, Millán-Almaraz et al. (2021) indican que la artemia es uno de los organismos más utilizados como alimento para las larvas de diversas especies marinas, lo que representa un riesgo potencial tanto para la salud humana como para la producción en general. Esto se debe a que la artemia puede ser consumida por otros organismos que forman parte de la cadena alimentaria destinada al consumo humano, además de que la producción acuícola puede resultar afectada por la vibriosis, lo cual puede ocasionar mortalidad en dicha producción.

Sin embargo, también es relevante destacar la importancia de entender los factores ambientales que influyen en el crecimiento de *Vibrio spp.* ya que investigaciones como la de Yang y Sun (2023) señalan que la salinidad, el pH, el oxígeno y la temperatura son parámetros fisicoquímicos que afectan el desarrollo de estas bacterias debido a su alta sensibilidad ambiental.

1.3 Justificación de la investigación

Debido a que *vibrio spp.* tiene una diversidad significativa en todo el mundo y además tiene una interacción directa con crustáceos, peces y moluscos se destaca la necesidad de comprender su complejidad para asegurar la salud y la bioseguridad en la acuicultura. En este contexto, López-Hernández et al. (2014) resaltan que uno de los problemas de salud pública se da por las enfermedades transmitidas por los alimentos.

La evaluación de la presencia de *Vibrio spp.* en distintos niveles de salinidad en un cultivo de *Artemia franciscana* es crucial, ya que se reconoce su importancia

comercial, tal como se menciona en el estudio de Lee et al. (2022). Su manipulación es simple y rápida en condiciones de laboratorio, lo que hace que este crustáceo se adapte bien a varios enfoques metodológicos (Albarano, et al., 2022).

La proliferación de patógenos oportunistas como son los *vibrio spp.* han impedido el rápido desarrollo de la acuicultura (Wang, et al., 2024). Por lo cual esta investigación de tipo experimental sobre la influencia de la salinidad en *Vibrio spp.* proporciona información vital para contribuir con la salud y producción en la acuicultura al obtener información sobre la salinidad adecuada para un bajo crecimiento de la bacteria y así obtener seguridad alimentaria.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** Este estudio se realizó en el laboratorio y camaronera Wanbri SA, ubicado en el Km 1.9 sector Mar Bravo, Salinas. El cual proporciona producción de larvas de camarón del género *Litopenaeus vannamei*, además de artemias y algas, las cuales se usan en la alimentación de los mismos. En estas instalaciones se encuentra el área dedicada a la Bacteriología y Artemia, equipados con los insumos necesarios que ayudaron con esta investigación.
- **Tiempo:** El tiempo que tomó esta investigación fue de 15 días.
- **Población:** *Artemia Franciscana* de la marca MACKAY MARINE VERDE, la cual contiene 244950 huevos/gramo y cuenta con una taza de eclosión del 87.58%. Se utilizó en cada acuario 1 nauplio por cada mL, garantizando un control meticuloso del proceso.

1.5 Formulación del problema:

¿Cómo influyen los diferentes niveles de salinidad sobre la concentración de *Vibrio spp.* en un cultivo controlado de *Artemia franciscana*?

1.6 Objetivo General

Evaluar la influencia de los distintos niveles de salinidad sobre la concentración de *Vibrio spp.* en un sistema de cultivo controlado de la *Artemia franciscana*.

1.7 Objetivos específicos

- Determinar la carga de *Vibrios spp.* presente en el agua de cultivo de la Artemia Franciscana.
- Relacionar el comportamiento diario de la carga de *Vibrio spp.* durante el periodo de estudio.
- Asociar la supervivencia de la Artemia franciscana con la carga de *Vibrios spp.* en los diferentes niveles de salinidad.

1.8 Hipótesis

Hipótesis Nula: Los diferentes niveles de salinidad no influyen en la concentración de *Vibrio spp.* en un sistema de cultivo controlado de *Artemia franciscana*.

Hipótesis alternativa: Los diferentes niveles de salinidad si influyen en la concentración de *Vibrio spp.* en un sistema de cultivo controlado de *Artemia franciscana*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

De acuerdo con la investigación de Castañeda-Chávez et al. (2018) realizada en el Golfo de México, se identificaron diferentes tipos de bacterias patógenas en tres arrecifes de coral, el mismo que incluye *Vibrio spp.* en donde se tomaron 10 muestras de agua de cada arrecife, estas muestras fueron analizadas utilizando agar TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa) como medio de cultivo selectivo. Los resultados mostraron que más del 50% de las muestras contenían *Vibrio spp.* Además, las condiciones ambientales durante el estudio, incluyendo temperaturas y salinidades, fueron las normales del océano Atlántico.

Según el estudio de Bauer et al. (2020), en el que se analizaron muestras de agua de 14 tanques, se determinó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por ml de agua utilizando un agar Columbia Sheep Blood (CSB) en donde sus resultados mostraron que la composición de Vibrio varía significativamente según la salinidad del agua, observándose un aumento en especies potencialmente patógenas como *V. parahaemolyticus*, *V. owensii* y *V. campbellii* en condiciones de mayor salinidad. En el caso específico de *V. parahaemolyticus*, se identificaron varios factores de patogenicidad, subrayando la necesidad de una investigación más profunda sobre la presencia y comportamiento de estas cepas en diferentes entornos acuáticos.

Además, una investigación realizada por Sandoval y Aguilar (2022) aislaron e identificaron una cepa de *Vibrio parahaemolyticus* a partir de 20 muestras de órganos de crustáceos. Se verificó la presencia del plásmido pVPA1 y las toxinas PirA y PirB mediante un bioensayo, confirmando su capacidad para causar enfermedad mostrando variaciones significativas, siendo la mayor expresión observada en un cultivo con 5% de salinidad. Además, se encontró que una temperatura de 30°C y un pH de 6 también aumentaron significativamente la expresión de ambos genes, lo que indica que estos parámetros físico-químicos, especialmente la salinidad, influyen en la virulencia de *Vibrio parahaemolyticus* en entornos acuáticos.

En el estudio de Pinheiro Junior et al. (2023), investigaron a *Vibrio harveyi* utilizando 360 postlarvas de *Penaeus brevis* distribuidas en 36 acuarios de 1 L. a

5PPT. Se emplearon métodos de cultivo como TCBS, LM, Zobell, Chalk y Boss para evaluar su concentración y luminiscencia. Los resultados mostraron que los mayores valores de luminiscencia y concentración se obtuvieron en los medios LM y Zobell subrayando la necesidad urgente de realizar más investigaciones sobre estos patógenos en más medios de cultivos, dada su importancia y las limitaciones actuales en los estudios relacionados con Vibrios en general.

De acuerdo con el informe de la Fundación io (2023), se reporta de 150 a 200 casos anuales por infecciones debido a *Vibrio vulnificus* en Estados Unidos, con un enfoque en áreas costeras donde estas infecciones son más prevalentes. Los resultados revelan un incremento en los casos, con una tasa de mortalidad significativa del 20% debido a que se reportan de 150 a 200 casos anuales de infecciones por *Vibrio vulnificus* en Estados Unidos.

Por otro lado, en la investigación de Annies y Rosamma (2020), se examinó el impacto del estrés salino en la resistencia de crustáceos frente a bacterias, específicamente Vibrios. Los crustáceos fueron criados en tanques de concreto con agua de mar a una salinidad de 15‰ y se les proporcionó una dieta comercial durante el estudio, como resultado se observó que los crustáceos bajo estrés salino no pudieron combatir eficazmente las bacterias, mostrando una mayor capacidad de supervivencia frente a *Vibrio harveyi* a la salinidad de 15‰. Estos resultados subrayan la relevancia crítica de la salinidad como factor determinante en la resistencia de los crustáceos a patógenos en la acuicultura, enfatizando la necesidad de gestionar cuidadosamente este parámetro ambiental en la producción acuícola.

Según Martins et al. (2020), se realizaron experimentos con larvas de crustáceos en diferentes salinidades: 0, 5, 15, 25 y 35 PSU. Cada grupo de larvas fue criado individualmente en placas de plástico para cultivo celular, con un total de 120 unidades experimentales por tratamiento. El estudio se llevó a cabo bajo condiciones controladas de fotoperíodo natural y temperatura constante. Los resultados mostraron que las larvas solo lograron sobrevivir y completar su desarrollo hasta la etapa metanauplio en las salinidades de 25 PSU y 35 PSU. El desarrollo larval del crustáceo que incluye cinco o seis etapas de zoea y una de megalopa, alcanzó la metamorfosis completa solo en las salinidades de 25 PSU

(con una supervivencia del 1.66%) y 35 PSU (con una supervivencia del 15%). En contraste, en las salinidades de 0, 5 y 15 PSU, todas las larvas murieron en diversas etapas de zoea. Además, se observó que el tiempo de supervivencia fue directamente proporcional a la salinidad: las larvas murieron rápidamente en 0 PSU (en menos de 24 horas), sobrevivieron hasta 48 horas en 5 PSU, y alcanzaron hasta 22 días de supervivencia en 15 PSU, llegando hasta la etapa ZIII del desarrollo larval.

Una investigación dirigida por Beux y Zaniboni Filho (2018), en donde evaluaron la supervivencia de 10,320 nauplios de *Artemia* sp. en cubas de vidrio con aireación continua durante un experimento de 36 horas. Los nauplios fueron expuestos a cuatro salinidades diferentes (0%, 1.7%, 3.3% y 5.0%), cada una replicada tres veces. Durante el experimento, se monitorizó la temperatura y el oxígeno disuelto en el agua. Los resultados mostraron una disminución significativa en la supervivencia de los nauplios en todas las salinidades ($P < 0.05$), siendo más pronunciada en agua dulce (0%). Se observó que un aumento leve en la salinidad prolongó la supervivencia de los nauplios de *Artemia* sp., destacando la influencia crítica de la salinidad en la respuesta fisiológica de estos organismos acuáticos.

2.2 Bases Teóricas y Científicas

2.2.1 *Vibrio* spp.

Estas bacterias son gram-negativos, los cuales prosperan en aguas cálidas, se asocian con invertebrados acuáticos, especialmente crustáceos y zooplancton (Brumfield, et al., 2021).

Los miembros del género *Vibrio* tienen diferentes formas, pueden ser cortos, rectos o curvados, con tendencia al pleomorfismo, pudiendo observarse formas cocobacilares e incluso cocoides. Son anaerobios facultativos y crecen mejor en condiciones alcalinas. El género *Vibrio* está compuesto por microorganismos cuyo hábitat natural son los ecosistemas marinos y fluviales. Son bacterias móviles que presentan un flagelo polar cuando crecen en medios líquidos (De Souza Valente y Wan, 2021).

2.2.1.1 Caracterización taxonómica

La familia *Vibrionaceae* pertenece a la clase Gammaproteobacteria. La cual contiene ocho géneros, a saber, *Aliivibrio*, *Enterovibrio*, *Grimontia*, *Paraphotobacterium*, *Photobacterium*, *Salinivibrio* y *Thaumasiiovibrio* (Ina-Salwany, et al., 2019).

2.2.1.2 Vibrio Cholerae

Vibrio cholerae (no-O1/no-O139) es un patógeno poco común que causa infecciones en humanos y que se encuentra en vida libre en ambientes acuáticos como ríos y mar, donde coloniza peces, crustáceos y moluscos, fuente principal de contagio para los humanos (Motta, et al., 2020)

Cepa epidémica responsable de la enfermedad del cólera. Provoca una enfermedad gastrointestinal aguda producto de una toxina conocida como la toxina colérica, que provoca síntomas graves como diarrea acuosa profusa y vómitos, lo que puede llevar rápidamente a la deshidratación y, en casos severos, a la muerte si no se trata adecuadamente. A esta especie le son atribuibles infecciones extraintestinales como son: infecciones de heridas, infecciones biliares y renales, otitis, así como septicemia primaria y secundaria (Bravo, et al., 2000).

2.2.1.3 Vibrio parahaemolyticus

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria Gram negativa halófila común en ambientes acuáticos, incluidos estuarios y agua de mar. Estas cepas se han diseminado mundialmente desde su emergencia en el sudeste asiático en 1996 puesto que la enfermedad causada por esta bacteria es una gastroenteritis aguda, a menudo de tipo secretorio, acompañada de cólicos, náuseas, vómitos y fiebre, que generalmente se resuelve en dos o tres días. Sin embargo, puede ser severa en personas con condiciones de salud subyacentes, como diabetes o enfermedad hepática, y puede conducir a bacteremia en casos graves. El diagnóstico se facilita con el historial de consumo de mariscos crudos y se confirma mediante cultivo en placas de TCBS (Hernández, et al., 2005).

2.2.1.4 Vibrio alginolyticus

Es una bacteria Gram negativa, está presente en diversos entornos marinos y puede causar enfermedades oportunistas al adherirse al mucus del huésped. En

la acuicultura, donde las enfermedades bacterianas son un problema común, *V. alginolyticus* ha sido identificado como responsable de enfermedades en organismos cultivados, especialmente en etapas tempranas de vida, causando síntomas como septicemia, hemorragias y úlceras (Espinel, et al., 2017). Este bacilo, perteneciente a la familia Vibrionaceae, es un nadador ágil gracias a sus flagelos, y es especialmente resistente a la salinidad. En los humanos, puede causar enfermedades cuando se consume mariscos crudos. Desde la década de 1970, se ha observado un aumento en los casos de infecciones asociadas con esta bacteria (Zavala, et al., 2005).

2.2.1.5 *Vibrio harveyi*

La bacteria marina gramnegativa *Vibrio harveyi* es un miembro esencial de la familia Vibrionaceae ampliamente presente en los sistemas acuáticos naturales, causante la vibriosis luminosa en organismos cultivados comercialmente (Montánchez y Kaberdin, 2020).

Ha sido reconocido como patógeno de varias larvas de crustáceos, lo que conduce a mortalidades masiva, sus factores de virulencia incluyen sideróforos, hemolisinas, quitinasas y bacteriófagos, y la expresión variable de estos factores afecta su capacidad para adherirse, colonizar o invadir los tejidos del huésped (Paul y Sullivan, 2005).

2.2.2 *Vibriosis en la Seguridad Alimentaria*

Se sabe que al menos 12 especies de *Vibrio* causan infección en humanos, y *Vibrio cholerae* está bien documentado como el agente etiológico del cólera pandémico. Los virus patógenos no cólera *Vibrio spp.*, por ejemplo, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, causan gastroenteritis, septicemia y otras infecciones extraintestinales. Además, no es posible eliminar los *Vibrio spp.*, ya que son autóctonos del medio acuático y muchos desempeñan un papel fundamental en el ciclo del carbono y el nitrógeno (Brumfield, et al., 2021).

Esto se debe al consumo de alimentos o agua contaminada con dichas bacterias, pudiendo causar diarrea acuosa, a menudo acompañada de cólicos abdominales, náuseas, vómitos, fiebre y escalofríos. Es la principal causa de gastroenteritis bacteriana por consumo de productos de la pesca en todo el mundo.

Es poco frecuente que se presente enfermedad grave y generalmente esta ocurre en personas con un sistema inmunitario debilitado, aunque el riesgo de esto es muy bajo. No obstante, el cambio climático está provocando un aumento de las temperaturas en los mares y océanos, desencadenando un aumento considerable en la concentración de dichas bacterias, y consecuentemente un aumento de los brotes de infecciones causadas con *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, pudiéndose alcanzar niveles de riesgo para la salud humana (ELIKA, 2023).

2.2.3 Factores Ambientales relacionados a *Vibrio spp.*

La concentración y distribución de Vibrio se ha relacionado con factores ambientales, sobre todo la temperatura del agua, la salinidad y el pH. Los parámetros ambientales óptimos podrían desempeñar un papel fundamental en la proliferación de *Vibrio spp.* y, en consecuencia, aumentar la probabilidad de brotes de vibriosis (Mohamad, et al., 2019).

La bioseguridad es una medida crucial en el control de enfermedades, pero actualmente no se está implementando adecuadamente. Esta falta de atención contribuye a frecuentes brotes de enfermedades como vibriosis , entre otras (Mohamad, et al., 2019).

2.2.4 *Artemia Franciscana*

Es un crustáceo, también conocido como camarón de salmuera, es ampliamente utilizado como alimento en la acuicultura, ya que son ricas en proteínas y ácidos grasos insaturados, los cuales son esenciales para el crecimiento y nutrición de otras especies. La *Artemia Franciscana* se alimenta filtrando el agua sin seleccionar partículas específicas y pueden vivir en agua con un alto contenido de sal (Madkour, et al., 2023).

2.2.4.1 Morfología de la *artemia franciscana*

La *artemia franciscana* carece de caparazón rígido que la proteja, como lo hacen otras especies, es de cuerpo es alargado y delgado, su longitud es variable, llegando a alcanzar 10-15 mm en etapa adulta. La misma consta de tres partes: la cabeza, el tórax y el abdomen. Además, presenta dimorfismo sexual ya que el macho posee el segundo par de antenas muy desarrollado, situado en la cabeza.

A diferencia de la hembra en donde sus antenas son mucho más pequeñas (Sánchez, 2017).

2.2.4.2 Reproducción de la *Artemia Franciscana*

Su reproducción se da de dos maneras; mediante ovoviparidad, produciendo nauplios completamente desarrollados, o a través de oviparidad, generando quistes que pueden esperar a eclosionar por largos períodos de tiempo, hasta encontrar las condiciones óptimas para poder lograr su eclosión (Moraga, et al., 2015).

2.2.4.3 Ciclo de Vida de la *Artemia Franciscana*

La *Artemia Franciscana* pasa por varias mudas antes de llegar a la etapa adulta, para llegar a esa etapa primero son quistes, los cuales tienen forma bicóncava se hidratan pasando a tener una forma esférica, permitiendo que el metabolismo del embrión se reactive, es lo que se conoce como quiste activado o quiste hidratado, de ahí empieza la primera muda tomando el nombre de nauplio, la siguiente etapa es el metanauplio, seguido de la etapa juvenil y finalmente la etapa adulta. Cuando la artemia se encuentra en la primera etapa de su desarrollo, el nauplio es pequeño, midiendo entre 400-500 micras. Tiene tres pares de antenas y un color anaranjado debido a las reservas de vitelo que utiliza como fuente de alimento, ya que aún no tiene un sistema digestivo completamente funcional. También tiene un pequeño ojo rojo en la frente, entre las primeras antenas. Después de mudar, pasa a la etapa de metanauplio, donde su sistema digestivo se desarrolla por completo, lo que cambia su dieta hacia algas microscópicas que encuentra en su entorno. Para transformarse en adulto, pasa por la etapa juvenil la cual ya es bastante parecida a la etapa adulta, una de esas características propias de los adultos son los apéndices lobulares en el torso, que luego se convierten en partes especializadas llamadas toracópodos, y ojos complejos a los lados del ojo naupliar (Sánchez, 2017).

2.2.4.4 Artemia en la acuicultura

La Artemia es mundialmente utilizada en las piscifactorías, ya que es rico en nutrientes, como aminoácidos esenciales y ácidos grasos poliinsaturados, sin embargo, apenas existen estudios acerca de los microorganismos patógenos

asociados a este crustáceo (Cano, et al., 2007). Durante su eclosión, la Artemia genera un medio rico para el crecimiento de bacterias, la misma, es fácil de mantener y reproducir en cultivo, lo que la hace de la artemia un alimento vivo ideal en la cría de especies acuáticas. Además, su resistencia a condiciones adversas y su capacidad de producir quistes, que pueden almacenarse durante largos períodos y luego eclosionar cuando se requiera, son características valiosas en la acuicultura. (Raman, 2017, como se citó en Muñoz y Gabriel, 2021). Por otra parte, actualmente la vibriosis no es fácil de erradicar debido a su resistencia a antibióticos, ya que existen informes de un aumento en la presencia de Vibrio resistente a estos como lo indica Loo et al. (2020).

2.2.5 Parámetros Fisicoquímicos

Yang y Sun (2023) indican que los parámetros fisicoquímicos son medidas o características que describen las propiedades físicas y químicas de una sustancia o sistema, como por ejemplo el pH, salinidad, temperatura, entre otros, los efectos combinados de la temperatura, la salinidad, el fotoperiodo, entre otros parámetros, se estudian experimentalmente para comprender mejor las características de un organismo.

2.2.5.1 Temperatura

La temperatura del agua influye en diversos parámetros físicos, químicos y biológicos, como la evaporación y la solubilidad de gases. Además, afecta procesos metabólicos, incluyendo la respiración y la actividad bacteriana en la descomposición de materia orgánica. (Acuicultura Hoy, 2013). Por otra parte, los animales acuáticos se ven fuertemente influenciados por la temperatura; en la acuicultura las operaciones deben de programarse para que correspondan a la temperatura adecuada del agua, por lo que los controles de temperatura son críticos para operaciones eficientes (Hanna Instruments, 2022).

2.2.5.2 pH

Se refiere a la concentración de iones Hidronio, es decir el catión que se forma en el agua en presencia de cationes de hidrógeno H+. El cual nos ayuda a indicar si es una solución acida o básica; la escala que se maneja es de 0 a 14, en

donde un pH 7 es el pH neutro. Los valores muy altos o bajos de pH, pueden suponer la muerte de los animales acuáticos (Hanna Instruments, 2022).

2.2.5.3 Salinidad

Es la concentración de todos los iones disueltos en el agua, estos provienen de minerales y cloruros principalmente. Se debe considerar la presión osmótica y la conductividad eléctrica que incrementa cuantas más sales tengamos en el agua (Hanna Instruments, 2022).

2.2.5.4 Oxígeno

Es un parámetro fundamental, sino el más importante. En el ámbito de la acuicultura, se aconseja tener oxígeno constante, ya que si hay déficit de oxígeno se ve afectado el crecimiento y la conversión alimenticia de los organismos (Hanna Instruments, 2022).

2.3 Marco Legal

Según la ley orgánica para el desarrollo de la acuicultura y pesca:

Artículo 1.- Objeto. La presente Ley tiene por objeto establecer el régimen jurídico para el desarrollo de las actividades acuícolas y pesqueras en todas sus fases de extracción, recolección, reproducción, cría, cultivo, procesamiento, almacenamiento, distribución, comercialización interna y externa, y actividades conexas como el fomento a la producción de alimentos sanos; la protección, conservación, investigación, explotación y uso de los recursos hidrobiológicos y sus ecosistemas, mediante la aplicación del enfoque ecosistémico pesquero de tal manera que se logre el desarrollo sustentable y sostenible que garantice el acceso a la alimentación, en armonía con los principios y derechos establecidos en la Constitución de la República, y respetando los conocimientos y formas de producción tradicionales y ancestrales.

Artículo 17.- Naturaleza jurídica. El Instituto Público de Investigación de Acuicultura y Pesca es una entidad de derecho público con personería jurídica, autonomía administrativa, financiera y con patrimonio propio, adscrita a la Autoridad Acuícola y Pesquera Nacional. Es la entidad encargada de planificar, promover, coordinar, ejecutar e impulsar procesos de investigación científica relacionados con las actividades acuícolas, pesqueras y conexas; y, de la generación, innovación, validación, difusión y transferencia de tecnologías.

Según el Reglamento a la ley de pesca y desarrollo pesquero:

CAPITULO I DISPOSICIONES GENERALES

Art. 68.2.- Acuacultura comercial es el cultivo de organismos acuáticos cuyo objetivo es maximizar las utilidades, practicado por productores de pequeña, mediana y gran escala que participan activamente en el mercado comprando insumos e involucrándose en la venta de su producción fuera de la granja.

Nota: Artículo agregado por artículo 7 de Decreto Ejecutivo No. 852, publicada en Registro Oficial Suplemento 694 de 19 de febrero del 2016.

Art. 68.3.- Acuacultura de investigación es el cultivo de organismos acuáticos sin orientación comercial dirigido a diversificar la producción, mejorar el uso de recursos y disminuir el riesgo de eventos exógenos, practicado en

laboratorios e instalaciones especiales destinadas a este propósito. Nota: Artículo agregado por artículo 7 de Decreto Ejecutivo No. 852, publicada en Registro Oficial Suplemento 694 de 19 de febrero del 2016.

Según la Constitución de la República del Ecuador;

Art. 13.- Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales.

Art. 298.- Se establecen preasignaciones presupuestarias destinadas a los gobiernos autónomos descentralizados, al sector salud, al sector educación, a la educación superior; y a la investigación, ciencia, tecnología e innovación en los términos previstos en la ley. Las transferencias correspondientes a preasignaciones serán predecibles y automáticas. Se prohíbe crear otras preasignaciones presupuestarias.

Art. 361.- El Estado ejercerá la rectoría del sistema a través de la autoridad sanitaria nacional, será responsable de formular la política nacional de salud, y normará, regulará y controlará todas las actividades relacionadas con la salud, así como el funcionamiento de las entidades del sector.

Según la ley orgánica de salud;

Art. 4.- La autoridad sanitaria nacional es el Ministerio de Salud Pública, entidad a la que corresponde el ejercicio de las funciones de rectoría en salud; así como la responsabilidad de la aplicación, control y vigilancia del cumplimiento de esta Ley; y, las normas que dicte para su plena vigencia serán obligatorias.

Art. 10.- Quienes forman parte del Sistema Nacional de Salud aplicarán las políticas, programas y normas de atención integral y de calidad, que incluyen acciones de promoción, prevención, recuperación, rehabilitación y cuidados paliativos de la salud individual y colectiva, con sujeción a los principios y enfoques establecidos en el artículo 1 de esta Ley.

CAPITULO II De los alimentos en la Ley Orgánica de la Salud

Art. 145.- Es responsabilidad de los productores, expendedores y demás agentes que intervienen durante el ciclo producción consumo, cumplir con las normas establecidas en esta Ley y demás disposiciones vigentes para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos para consumo humano.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Enfoque de la investigación

El enfoque de la investigación se basó en un método cuantitativo. El diseño experimental implicó la manipulación de la salinidad en varios acuarios y la medición de la concentración de Vibrio por UFC en un cultivo de *artemia franciscana*.

3.1.1 Alcance de la investigación

Este trabajo investigativo tuvo un alcance exploratorio y correlacional, en donde se recopiló información de unidades formadoras de colonias de *Vibrio spp.*

3.1.2 Diseño de investigación

El diseño de esta investigación fue de tipo experimental, ya que se centró en evaluar el impacto de diferentes niveles de salinidad, evaluando la concentración de Vibrio en los diferentes acuarios simulando las condiciones de criadero de *artemia franciscana*.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

Se tienen el conjunto de variables dependientes e independientes en las siguientes secciones a continuación:

3.2.1.1 Variables dependientes

- UFC de *Vibrio spp.*
- Supervivencia de *Artemia Franciscana*.

3.2.1.2 Variables Independientes

- Niveles de Salinidad (20, 33, 50 y 80 PPT.).
- Días de Estudio.

3.2.2 Matriz de Operacionalización de variables

Considerando que el modelo estadístico tuvo un análisis de correlaciones entre variables dependientes e independientes, se formulan las siguientes matrices de operacionalización de variables.

Tabla 1.

VARIABLES DEPENDIENTES.

Tipo de Variable	Componente	Descripción	Escala
Cuantitativo	UFC de <i>Vibrio spp.</i>	Método para estimar la magnitud de la población total bacteriana	10^3 – 10^5 UFC/m
Cuantitativa	Supervivencia de la <i>Artemia Franciscana</i>	Conteo al inicio y al final del número de Artemias.	Cantidad total de Artemias

Fuente: Vera Arauz, 2024

Tabla 2.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

Tipo de Variable	Componente	Descripción	Escala
Cuantitativa	Salinidad	Indicativo para evaluar o valorar una situación en particular.	5 PPT – 320 PPT
Cuantitativa	Días de Estudio	Periodo de estudio.	0-15 días

Fuente: Vera Arauz, 2024

3.2.3 Tratamientos

Para llevar a cabo esta investigación se establecieron cuatro tratamientos distintos, cada uno representando un nivel diferente de salinidad. Estos tratamientos consistieron en: 20 PPT, 33PPT, 50 PPT, 80 PPT. Cada tratamiento se replicó tres veces para aumentar la fiabilidad de los resultados y reducir la posibilidad de sesgo experimental.

Tabla 3.***Descripción de Tratamientos.***

Nº Tratamiento	Nivel de salinidad	Descripción	Repetición
T1	20 PPT.	Salinidad baja	3
T2	33 PPT.	Salinidad local	3
T3	50 PPT.	Salinidad alta	3
T4	80 PPT.	Salinidad muy alta	3

Fuente: Vera Arauz, 2024

3.2.4 Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos de salinidad y tres repeticiones para cada uno. Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a las unidades experimentales, los cuales fueron los acuarios; esto se realizó sin ningún tipo de bloqueo previo.

Modelo Lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} : Niveles de salinidad medidos en la i-ésima replicación del j-ésimo tratamiento.

μ : Media general de todas las observaciones.

γ_i : Efecto del i-ésimo tratamiento de las mediciones de vibrios.

ε_{ij} : Error aleatorio asociado con la k-ésima replicación del j-ésimo tratamiento de salinidad i .

3.2.5 Recolección de datos

3.2.5.1 Recursos

- Agar TCBS.
- Tubos eppendorf.
- Pipetas.

- Gramera.
- Hoja milimetrada.
- Microscopio.
- 12 acuarios.
- Oxigenadores.
- Refractómetro.
- Termómetro.
- Indicador de pH.
- Sal en grano.
- Agua de poma.
- Harina de soya.
- Microalgas para alimento.
- Hojas de seguimiento y registro.
- Esferos.
- Computador.
- Software estadístico.
- Libros, artículos y revistas científicas sobre *Artemia Franciscana*, salinidad del agua en producción, *Vibrio spp.*

3.2.5.2 Métodos y técnicas

A continuación, se detallan los procedimientos y técnicas que fueron utilizados en este experimento para la respectiva obtención de resultados y el alcance de los objetivos antes mencionados.

3.2.5.3 Metodología del muestreo

Se establecieron 12 acuarios en el laboratorio de artemia, donde se creó un ambiente con parámetros fisicoquímicos adecuados para el crecimiento óptimo de la *Artemia franciscana*, lo cual también favoreció el desarrollo de *Vibrio spp.*, esto se realizó a diferentes niveles de salinidad. El cultivo de *artemia franciscana* fue alimentado diariamente según el protocolo establecido y al final del día se recolectaron las respectivas muestras del agua de cada acuario, estas muestras fueron trasladadas al área de microbiología en donde se sembró el medio de cultivo TCBS.

3.2.6 Técnicas

a) Acuarios para el experimento

Para realizar este cultivo se necesitaron 12 acuarios, en este caso se utilizó 1 acuario de tamaño grande dividido en varias secciones. Para esta investigación de tipo experimental el acuario contó con un tamaño de 56 cm de alto, 150 cm de largo y 58.5 cm de ancho, lo cual está dividido en secciones. El acuario se procedió a limpiar con agua clorinada para quitar cualquier bacteria que estuviera presente antes del experimento, y una vez limpio se usó vitamina c para eliminar cualquier rastro de cloro que pudiera afectar al cultivo.

Cada sección contó con 10 litros, los cuales formaron 12 acuarios de 10 litros cada uno del cual se hizo uso del 60% del volumen total del acuario, es decir que se usó 6 litros por sección durante la investigación. Esto debido a que lo normal es usar el 60 o 70% en volumen de agua para evitar futuras grietas que puedan presentar un riesgo al experimento.

b) Ambientación Óptima de los Acuarios

Para la oxigenación de los acuarios en este caso se usaron oxigenadores de doble división, en total se usaron 6 oxigenadores que dieron oxígeno a los 12 acuarios con sus respectivas mangueras, y 12 piedras difusoras.

Además, se necesitó de mucha iluminación, en este caso se usan 4 tiras-led, los cuales se colocaron 2 de cada lado de las secciones del acuario, la iluminación fue de manera constante, y para el control preciso de la temperatura del agua, se usaron calentadores para acuarios de 75w.

c) Manejo de la Salinidad en los acuarios

Dado que el experimento comprende 4 tratamientos diferentes (20PPT, 33PPT, 50PPT y 80PPT), se empleó un sistema de ecuaciones, las cuales fueron desarrolladas en un script de Python para facilitar el cálculo de la salinidad.

Las fórmulas que se programaron fueron:

C1. Calculo para aumentar salinidad en el acuario:

$$G_{\text{Sal-Envase}} = \frac{10}{8.75} * [(L_i + L_n) * (S_f - S_i) + L_n * (S_i - S_n)] + 1$$

L_i: Litros que tiene actualmente en el acuario.

L_n: Litros del envase que agregará al acuario.

S_i: Salinidad que tiene actualmente en el acuario.

S_n: Salinidad que tiene el agua del envase a agregar.

S_f: Salinidad que desea tener en el acuario.

G_{Sal-Envase}: Gramos de sal que debe agregar a los litros del envase.

C2. Calculo para elaborar un acuario con salinidad inferior a la salinidad local:

$$V_{\text{Salinidad } S_1} = V_t / (2 - S_2/S_1)$$

$$V_{\text{Agua dulce}} = (1 - S_2/S_1) * V_{\text{Salinidad } S_1}$$

S₁: Salinidad que tiene actualmente el agua local.

S₂: Salinidad objetivo que se requiere en el acuario.

V_t: Litros de agua que tendrá en el acuario.

V_{Salinidad S₁}: Litros de agua con la salinidad local que se deben agregar.

V_{Agua dulce}: Litros de agua dulce que se deben agregar.

C3. Calculo para disminuir salinidad de un acuario:

$$V_{\text{Agua dulce}} = (1 - S_2/S_1) * V_{\text{Salinidad } S_1}$$

S₁: Salinidad que tiene actualmente el acuario.

S₂: Salinidad objetivo que se requiere en el acuario.

V_{Salinidad S₁}: Litros del acuario con la salinidad S₁.

V_{Agua dulce}: Litros de agua del acuario que deben ser reemplazados por agua dulce.

Una vez que se obtuvo el cálculo preciso de las correspondientes salinidades, se procedió meticulosamente al ajuste de la salinidad utilizando sal en grano, la cual fue medida cuidadosamente en una gramera. Dependiendo de la cantidad de gramos de sal requeridos para alcanzar el nivel de salinidad deseado, se procedió a mezclar y disolver con agua de la punta del mar, que generalmente tiene una salinidad entre 30 y 33 partes por mil (PPT). Este procedimiento implicó calcular y ajustar la salinidad inicialmente medida con un refractómetro para asegurar condiciones óptimas en el medio acuático.

Para una mejor comprensión, es necesario alcanzar un volumen total de 6 litros de agua, y para ello se inició añadiendo 3 litros de agua de la punta del mar, que tiene una salinidad de 30-33 PPT. En los 3 litros restantes, se disolvió la cantidad medida de sal en grano. Fue crucial realizar una mezcla completa y homogénea para garantizar la uniformidad en la distribución de la sal. Posteriormente, se combinaron los 3 primeros litros con los otros 3 litros que contienen la sal marina disuelta. Después de ello se volvió a medir la salinidad con el refractómetro para verificar que se llegó al nivel deseado, asegurando así condiciones óptimas para la artemia en el acuario.

Una vez alcanzados los resultados deseados, se procedió a etiquetar la salinidad en cada acuario en PPT. y a marcar el nivel del agua, asegurando un registro preciso de hasta dónde alcanzó el nivel del agua en los acuarios de 6 litros, esto con el fin de facilitar al momento de hacer recambios de agua.

d) Obtención y Preparación de Artemia

Para la obtención de artemia, se utilizó una lata de 454 gramos de la marca MACKAY MARINE VERDE. En este caso se empleó la mitad de su contenido, es decir, 227 gramos. Dado que el tiempo requerido naturalmente para la desencapsulación de los quistes de artemia es de 48 a 36 horas, se procedió a acelerar este proceso.

Para ello se inició con el proceso de hidratar los quistes de *artemia franciscana* en agua dulce a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente, se drenó el agua a través de una bolsa de recolección de 100 µm.

Luego los quistes hidratados se transfirieron a un tanque de encapsulación donde se añadió la mitad de una solución decapsuladora (375 ml NaClO + 25 ml NaOH). Este proceso duró entre uno y dos minutos con agitación constante para evitar una afectación adversa en la tasa de eclosión. Se supervisó el cambio de color de anaranjado a café claro con el fin de evitar que los quistes pierdan su capacidad de desencapsulación o se quemen en el proceso.

Después se procedió a enjuagar, para este paso se vertió el contenido del tanque de desencapsulación en la bolsa de recolección de 100 µm, se drenó de inmediato y se enjuagó nuevamente con abundante agua hasta que esta salga limpia y sin olor a cloro.

Una vez enjuagado correctamente se procedió a dejar las artemias en el artemiero durante 24 horas para su eclosión. Posteriormente, al transcurrir de 20 a 24 horas se pudo observar el nauplio de artemia.

Y de esta manera se obtuvo el cultivo de artemia con los menores errores experimentales, para que todos empiecen en iguales condiciones, es decir que todos los acuarios tuvieron la misma desinfección, mismos parámetros, cantidad de artemia, etc. No obstante, es importante que al introducir la artemia en los acuarios tenga su aclimatamiento respectivo durante unos 10 minutos aproximadamente.

e) Homogeneización y Distribución en Acuarios:

Para asegurar una distribución uniforme en todos los acuarios, la cosecha de artemia se colocó en un tanque de 15 L de agua y se homogeneizó. Se tomaron 10 ml de esta solución con una pipeta para colocar en un segundo tanque de 15 L de agua. De este segundo tanque se extrajeron tres submuestras de 1 ml cada una, se procedió a contar el número de nauplios presentes y se calculó el promedio. Finalmente, este resultado se multiplicó por 15,000 (ml en el segundo tanque) para obtener el número total de nauplios en 10 ml, asegurando así una distribución precisa y equivalente en todos los acuarios del estudio.

f) Alimentación de la artemia

Para preparar el alimento necesario para los acuarios, se comenzó colocando agua de botellón en un recipiente de 100 ml. Esta agua se calentó en el microondas durante 30 segundos. Posteriormente, se añadió 1 gramo de levadura

y 0.05 gramos de azúcar al recipiente caliente. Se mezcló cuidadosamente estos ingredientes hasta lograr una solución homogénea, asegurándose de que la levadura y el azúcar se disolviera completamente en el agua. Esto se realizó para poder activar la levadura. Una vez preparada la mezcla, se administra 6 ml de esta solución a cada acuario de manera diaria.

g) Remplazo parcial de agua

Después de alimentar el cultivo de *Artemia franciscana*, se esperó un período mínimo de 4 horas antes de realizar un recambio de agua. Este proceso implica reemplazar entre el 30% y el 50% del volumen total de agua del acuario. En el marco de este estudio, se establece un recambio del 30% diariamente. Para llevar a cabo esta operación, se utilizó una manguera fina de acuario para transferir ese porcentaje de agua a un recipiente externo. Una vez completado el retiro del agua, el acuario se llenó hasta el nivel previamente marcado con agua de la misma salinidad del tratamiento al que se le realizó el recambio parcial. Este procedimiento es fundamental para renovar el ambiente del acuario y asegurar condiciones óptimas para el cultivo de *Artemia franciscana*. Además, facilita la recolección de muestras de agua destinadas a análisis en el laboratorio, garantizando la precisión y fiabilidad de los datos obtenidos.

h) Preparación del Agar TCBS

Para preparar el medio de cultivo TCBS para *Vibrio spp.*, se inició pesando 88 gramos de Agar TCBS, y 20 gramos de cloruro de sodio (NaCl) para una solución de 1000 ml. En un beaker de 1000 ml se añadió solución salina estéril y se incorporaron los ingredientes pesados. Se procedió a mezclar utilizando una estufa con agitador magnético hasta que el agar estuviera completamente disuelto, asegurándose de evitar que se adhiera a las paredes del beaker, finalmente la mezcla se calienta hasta que comience a hervir.

Para evitar que el agar TCBS hierva y se derrame, se retiró del fuego inmediatamente y se dejó enfriar a temperatura ambiente utilizando toallas estériles como precaución. Una vez enfriado y listo, se procedió a vertirlo en placas de Petri.

Finalmente, las placas de agar se almacenaron en refrigeración en posición de placa invertida para su posterior uso, asegurando así un ambiente propicio para el crecimiento y estudio de microorganismos.

i) Análisis de la carga de *Vibrio* en el cultivo de *Artemia Franciscana*

Se tomó una muestra de cada acuario de diferentes niveles de salinidad para llevarla al laboratorio de bacteriología, luego se realizó la técnica de barrido en superficie con un asa de vidrio hasta que la placa haya secado totalmente; luego de ello se llevó a incubación en posición invertida por un lapso de 24 horas a 32° C

Esta incubación permitió el desarrollo y crecimiento de las colonias de Vibrios presentes en las muestras. Al finalizar el período de incubación, se realizó el análisis de las placas para identificar y contar las unidades formadoras de colonias de Vibrios en las muestras analizadas.

Tabla 4.

Tipos de Vibrios spp. comunes en producción acuícola.

Cepas	Resultados de crecimiento	Límites referenciales
<i>V. cholerae</i>	Zonas amarillas alrededor de las colonias	≥ 10E+03 (elevado)
<i>V. alginolyticus</i>	Colonias pequeñas color Amarillo	≥ 10E+03 (elevado)
<i>V. parahaemolyticus</i>	Colonias de color verde a verde azulado.	≥10E+02 (alto-elevado)
<i>V. luminiscente</i>	Colonias luminiscentes	Elevado-grave

Fuente: (Becton Dickinson Franse SA., 2003)

Finalmente, se realizó el conteo total de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que crecieron en cada placa. Para el cálculo de las UFC/ml se empleó la fórmula correspondiente. Los datos se ingresaron en una hoja de cálculo para mantener un registro histórico que facilita el cumplimiento del primer objetivo de analizar la carga de *Vibrio spp.* presente en el cultivo de *Artemia franciscana*.

$$\frac{UFC}{ml} \text{ o } UFC/g = \frac{\text{Nº de colonias por placa x Factor de dilución}}{\text{Volumen del inóculo}}$$

j) Medición de los parámetros fisicoquímicos

La medición precisa de los parámetros del agua es fundamental para este estudio. Por ello se empleó diferentes instrumentos según el parámetro a medir: salinidad con un refractómetro, pH con un medidor de pH, oxígeno disuelto con un oxímetro y temperatura con termómetros individuales para cada acuario, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas.

Los datos recolectados de cada parámetro fueron registrados y posteriormente ingresados en una hoja de cálculo.

k) Supervivencia de la *Artemia Franciscana*

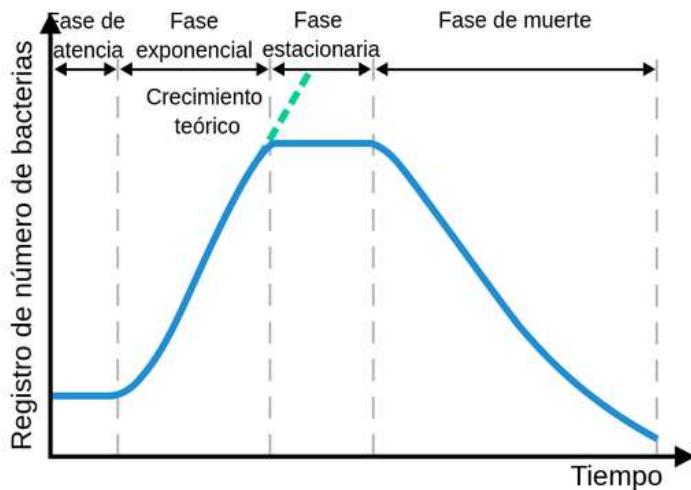
En cuanto a la supervivencia, se consideró la cantidad inicial de artemias, y al finalizar el experimento se contó el número de artemias que sobrevivieron. Para calcular el porcentaje de supervivencia, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{(\text{Población final})}{\text{Población inicial}} \times 100$$

3.2.7 Población y muestra

3.2.7.1 Población

La población de datos estadísticos se definió en grupos, donde la *Artemia Franciscana* de la marca MACKAY MARINE VERDE, proporcionó el ambiente adecuado para la población de datos de colonia de vibrios a estudiar. La *Artemia Franciscana*, definida como la portadora de la población de datos de estudio, contiene 244950 huevos/gramo y cuenta con una taza de eclosión del 87.58%. Se agregó en cada acuario 1 nauplio por cada ml, garantizando así un control meticuloso del proceso y obtención confiable de los datos. Teniendo en cuenta que son 4 tratamientos, es decir, 4 diferentes niveles de salinidad como variable dependiente. Se considerará un modelo de crecimiento bacteriano población de tipo Exponencial como modelo de referencia para el ciclo de vida bacteriano del *Vibrio spp*. El modelo matemático para el ciclo del *Vibrio spp*. se muestra en la Figura 1 mostrada a continuación.

Figura 1.**Modelo estándar de desarrollo de una población bacteriana.****Fuente: (Labster, 2024)**

El modelo estándar del desarrollo de una población bacteriana consta de 4 fases:

1. Fase de Latencia
2. Fase de crecimiento exponencial de la población bacteriana
3. Fase estacionaria de la población bacteriana (Se detiene el crecimiento)
4. Fase de muerte poblacional de la bacteria (La población bacteriana disminuye hasta llegar a un mínimo o hasta cero, dependiendo de la bacteria y su entorno).

3.2.7.2 Muestra

Los datos obtenidos en una muestra, en este caso una muestra física de agua en ml abarcó las medidas de cada variable que se tiene en la población de datos. Se procedió a recolectar y enviar las muestras de agua de los diferentes niveles de salinidad al laboratorio de bacteriología.

3.2.8 Análisis estadístico

Para evaluar la influencia de la salinidad en la concentración de *Vibrio spp.* en los acuarios de la *Artemia franciscana*, los datos obtenidos fueron organizados y registrados en una hoja de cálculo utilizando Microsoft Excel. Posteriormente, se empleó el software de análisis estadístico libre JASP para realizar el análisis de los datos. Inicialmente, se propuso realizar un ANOVA para comparar las medias de los cuatro tratamientos; para determinar si los datos cumplían con los supuestos

estadísticos necesarios, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad, la prueba de Mann-Whitney para comprobar la independencia y la prueba de Levene para analizar la homogeneidad de varianzas, sin embargo, al verificar los supuestos estadísticos, se encontró que dos de los tres supuestos no se cumplían. Por lo tanto, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Tras los análisis, la prueba de comparaciones post-hoc de Dunn permitió identificar diferencias específicas entre los grupos tratados. Estos análisis de varianza fueron adecuados para este diseño experimental, ya que facilitaron la evaluación de diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

4. RESULTADOS

4.1 Determinación de la carga de *Vibrios spp.* presente en el agua de cultivo de la *Artemia Franciscana*.

Tabla 5.

Estadísticos descriptivos de las Cargas de Vibrios spp. Amarillo y Verde para las 3 repeticiones y 4 tratamientos.

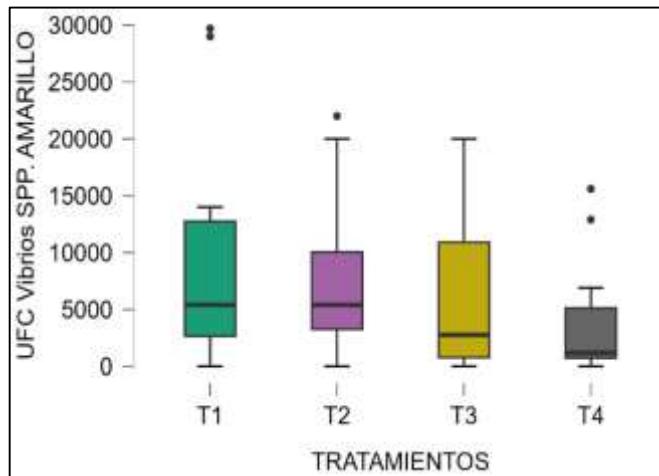
CORRIDA/ REPETICIÓN	TIPO DE VIBRIO <i>spp.</i>	TRATAMIENTO	Mediana	Media	Desviación Estándar	Coeficiente variaciόn	Varianza	Mínimo	Máximo
REPETICIÓN I	AMARILLO	T1	5400	9316	9369.285	100.6%	$8.778 \times 10^{+7}$	0	29700
	AMARILLO	T2	5400	7661.333	6599.911	86.1%	$4.356 \times 10^{+7}$	0	22000
	AMARILLO	T3	2760	5823.333	6430.233	110.4%	$4.135 \times 10^{+7}$	0	20000
	AMARILLO	T4	1200	3723.333	4801.496	129.0%	$2.305 \times 10^{+7}$	0	15600
	VERDE	T1	800	3635.333	4319.624	118.8%	$1.866 \times 10^{+7}$	0	10000
	VERDE	T2	2600	6676	8803.96	131.9%	$7.751 \times 10^{+7}$	0	25800
	VERDE	T3	580	2348.667	3158.729	134.5%	$9.978 \times 10^{+6}$	0	11000
	VERDE	T4	100	1898	3064.213	161.4%	$9.389 \times 10^{+6}$	0	8600
REPETICIÓN II	AMARILLO	T1	6000	9156.667	8936.539	97.6%	$7.986 \times 10^{+7}$	0	29400
	AMARILLO	T2	6000	8106.667	7425.291	91.6%	$5.513 \times 10^{+7}$	0	25000
	AMARILLO	T3	1760	5798	6291.582	108.5%	$3.958 \times 10^{+7}$	0	17400
	AMARILLO	T4	1190	3699.333	5141.911	139.0%	$2.644 \times 10^{+7}$	0	16000
	VERDE	T1	1000	3339.333	4028.269	120.6%	$1.623 \times 10^{+7}$	0	9800
	VERDE	T2	2700	6474.667	8480.938	131.0%	$7.193 \times 10^{+7}$	0	26200
	VERDE	T3	420	2320.667	3178.338	137.0%	$1.010 \times 10^{+7}$	0	10300
	VERDE	T4	190	1868	2942.652	157.5%	$8.659 \times 10^{+6}$	0	8600
REPETICIÓN III	AMARILLO	T1	5600	9416.667	9309.295	98.9%	$8.666 \times 10^{+7}$	0	29000
	AMARILLO	T2	5200	8133.333	6968.466	85.7%	$4.856 \times 10^{+7}$	0	23000
	AMARILLO	T3	1690	6612.667	7420.847	112.2%	$5.507 \times 10^{+7}$	0	22000
	AMARILLO	T4	1320	4092.667	5705.629	139.4%	$3.255 \times 10^{+7}$	0	19000
	VERDE	T1	1200	3486	4063.049	116.6%	$1.651 \times 10^{+7}$	0	9800
	VERDE	T2	2200	6334.667	8926.901	140.9%	$7.969 \times 10^{+7}$	0	26000
	VERDE	T3	580	2383.333	3275.822	137.4%	$1.073 \times 10^{+7}$	0	10900
	VERDE	T4	300	1976	3191.318	161.5%	$1.018 \times 10^{+7}$	0	9300

Fuente: Vera Arauz, 2024

La Tabla 5 presenta los resultados de cuatro tratamientos por repetición, destacando las medias, medianas, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación. En el tratamiento T1 (salinidad 20 PPT, repetición 1), se registraron valores máximos y promedios de 297,000 y 9,369.285 UFC/ml para *Vibrio spp. Amarillo*, evidenciando una disminución en la concentración a medida que aumenta la salinidad en los tratamientos. En contraste, para *Vibrio spp. Verde*, los picos máximos y promedios fueron de 6,676,000 y 25,800 UFC/ml en el tratamiento T2 (33 PPT), mientras que en el tratamiento T1 (20 PPT) se observaron valores promedio y máximo de 3,635.333 y 10,000 UFC/ml, respectivamente. La salinidad más alta (80 PPT) mostró la menor concentración de *Vibrio spp. Verde* con promedios y máximos de 1,898.000 y 8,600 UFC/ml. Aunque el tratamiento a 33 PPT presentó la mayor carga de *Vibrio spp. Verde* con máximos de 25,800, 26,200 y 26,000 en cada repetición, la tendencia general indica que la salinidad más baja (20 PPT) también contribuye a reducir la carga de *Vibrio spp. Verde*. Además, los elevados coeficientes de variación en todos los tratamientos sugieren una considerable heterogeneidad en las muestras de carga bacteriana.

Figura 2.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 1er repetición - *Vibrio spp. Amarillo*.



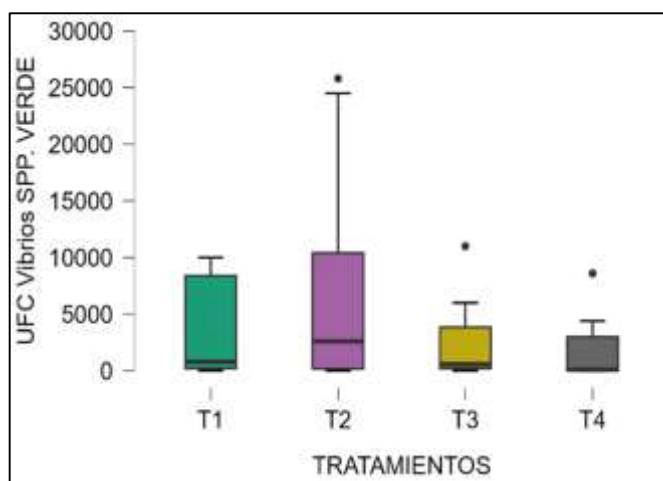
Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 2, se aprecian valores atípicos en cada tratamiento los cuales puede ser indicativo de eventos inusuales, y estos se presentan en los aumentos pronunciados en la carga bacteriana como un crecimiento exponencial altamente pronunciado en cada tratamiento con valores pico de 29700, 22000 y 15600,

respectivamente en orden de cada tratamiento (T1, T2 y T4), donde el tratamiento T3 (50 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos. También se indica que la mediana se encuentra desplazada notablemente hacia el extremo inferior, esto sugiere una heterogeneidad en los datos y una posible desviación con la normalidad.

Figura 3.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 1er repetición - *Vibrio spp.* Verde.

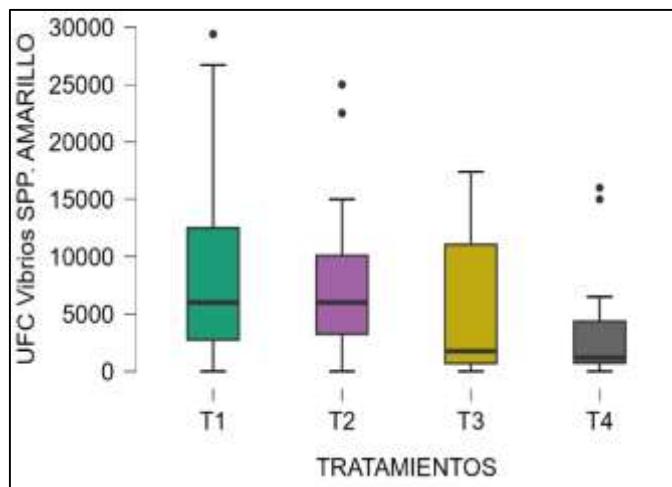


Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 3 se observa que la mediana está significativamente desplazada hacia un extremo, esto indica una asimetría en la distribución de datos. Por ende, podemos estimar que los datos no siguen una distribución normal, esto puede ser producto del comportamiento NO lineal del ciclo de vida bacteriano, teniendo varios crecimientos exponenciales, periodos estacionarios y declives en sus fases de muerte poblacional como se indica en la sección 3.2.7.1. Los valores atípicos de 25800, 11000 y 8600, respectivamente en orden de cada tratamiento (T2, T3 y T4), donde el tratamiento T1 (20 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos; estos son correspondientes a los picos alcanzados en el crecimiento bacteriano, los cuales se presentan lo suficientemente desviados del resto de datos, produciendo asimetrías.

Figura 4.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 2da repetición - *Vibrio spp. Amarillo*.

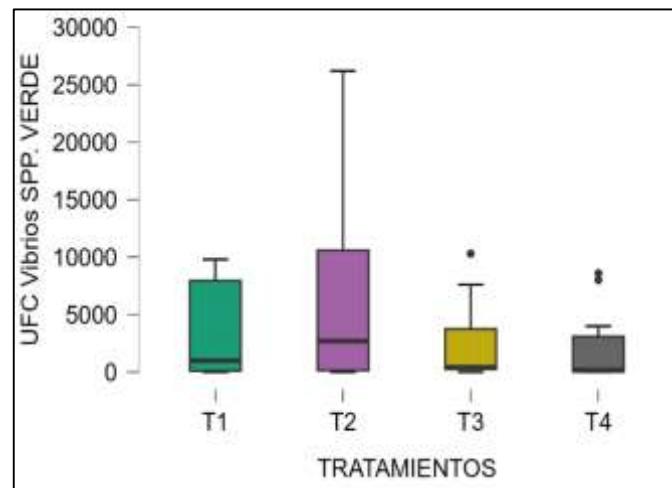


Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 4 se observan las medianas con desplazamientos significativos hacia el extremo inferior en los tratamientos 3 y 4 (50 y 80 PPT), indicando una asimetría en la distribución de datos. Los valores atípicos de 29400, 25000 y 17400, respectivamente en orden de cada tratamiento (T1, T2 y T4), estos son correspondientes a los picos alcanzados en el crecimiento bacteriano, donde el tratamiento T3 (50 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos.

Figura 5.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 2da repetición - *Vibrio spp. Verde*.

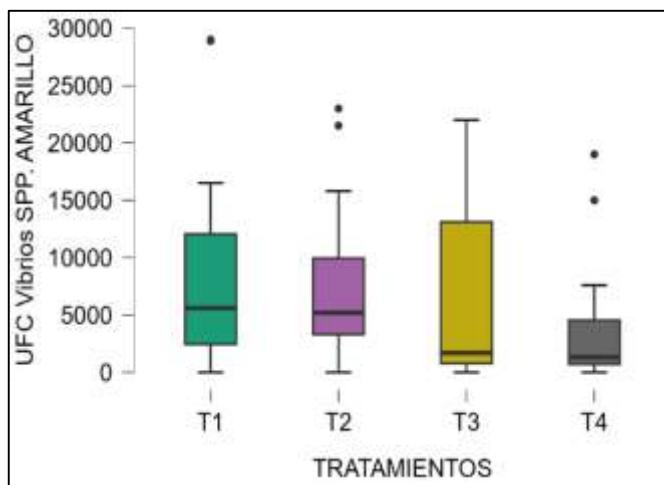


Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 5 se observan las medianas con desplazamientos significativos hacia el extremo inferior en todos los tratamientos, indicando una asimetría en la distribución de datos. Los valores atípicos de 10300 y 8600, respectivamente en orden de cada tratamiento (T3 y T4), donde el tratamiento T1 (20 PPT) y T2 (33 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos; estos son correspondientes a los picos alcanzados en el crecimiento bacteriano altamente pronunciado, estos se presentan lo suficientemente desviados del resto de datos.

Figura 6.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 3ra repetición - *Vibrio spp. Amarillo*.

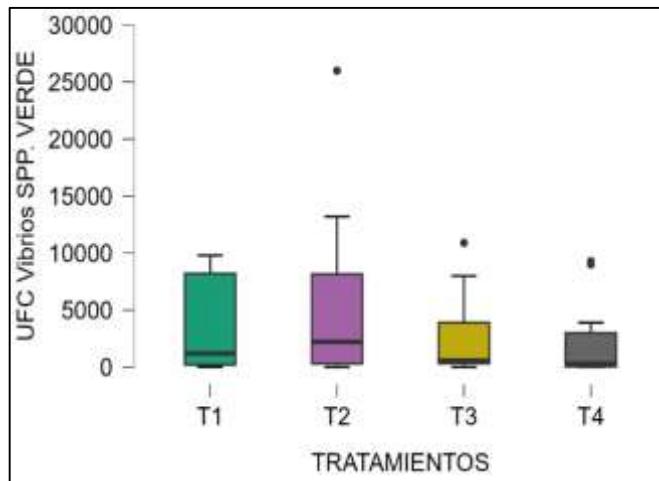


Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 6 se observan las medianas con desplazamientos significativos hacia el extremo inferior en los tratamientos 1, 3 y 4 (20, 50 y 80 PPT), indicando una asimetría en la distribución de datos. Los valores atípicos de 29000, 23000 y 1900, respectivamente en orden de cada tratamiento (T1, T2 y T4), estos son correspondientes a los picos alcanzados en el crecimiento bacteriano, donde el tratamiento T3 (50 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos.

Figura 7.

Gráfico de caja para los 4 tratamientos de la 3ra repetición - *Vibrio spp. Verde*.



Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 7 se observan las medianas con desplazamientos significativos hacia el extremo inferior en todos los tratamientos, indicando una asimetría en la distribución de datos. Los valores atípicos de 26000, 10900 y 9300, respectivamente en orden de cada tratamiento (T2, T3 y T4), estos son correspondientes a los picos alcanzados en el crecimiento bacteriano, donde el tratamiento T1 (20 PPT) no se presentó con un crecimiento tan pronunciado, por ende, carece de valores atípicos.

4.2 Relación del comportamiento diario de la carga de *Vibrio spp.* durante el periodo de estudio.

Tabla 6.

*Primera repetición para establecer la relación del comportamiento diario de la carga de *Vibrio spp.* con las diferentes salinidades durante el periodo de estudio.*

Nº DIAS	TRATAMIENTO 1		TRATAMIENTO 2		TRATAMIENTO 3		TRATAMIENTO 4	
	20 PPT. AMARILLO	20 PPT. VERDE	33 PPT. AMARILLO	33 PPT. VERDE	50 PPT. AMARILLO	50 PPT. VERDE	80 PPT. AMARILLO	80 PPT. VERDE
DIA 1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.00E+01	0.00E+00	2.00E+01
DIA 2	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00
DIA 3	1.42E+03	2.30E+02	2.58E+03	5.90E+02	2.76E+03	2.20E+02	3.84E+03	2.20E+02
DIA 4	1.02E+03	3.00E+02	3.24E+03	1.50E+02	1.69E+03	5.80E+02	1.50E+03	1.00E+02
DIA 5	4.90E+03	4.30E+03	8.00E+03	6.00E+03	2.00E+04	3.30E+03	1.56E+04	8.60E+03
DIA 6	9.80E+03	9.90E+03	9.90E+03	8.80E+03	1.00E+04	5.00E+03	1.29E+04	8.60E+03
DIA 7	1.40E+04	9.90E+03	5.40E+03	2.45E+04	7.00E+03	3.00E+03	6.90E+03	3.00E+03
DIA 8	1.40E+04	7.90E+03	5.00E+03	2.58E+04	1.18E+04	6.00E+03	6.40E+03	3.00E+03
DIA 9	2.97E+04	1.00E+04	2.00E+04	1.42E+04	1.20E+04	4.40E+03	1.20E+03	4.40E+03
DIA 10	2.90E+04	8.90E+03	2.20E+04	1.20E+04	1.52E+04	1.10E+04	8.30E+02	3.70E+02
DIA 11	1.15E+04	1.50E+03	1.45E+04	4.60E+03	1.10E+03	5.60E+02	6.30E+02	1.00E+02
DIA 12	1.02E+04	8.00E+02	1.02E+04	2.60E+03	6.50E+02	2.70E+02	4.70E+02	2.00E+01
DIA 13	3.50E+03	5.00E+02	5.80E+03	6.00E+02	9.00E+02	2.00E+02	7.10E+02	4.00E+01
DIA 14	5.40E+03	1.00E+02	3.40E+03	1.00E+02	5.00E+02	6.00E+02	8.00E+02	0.00E+00
DIA 15	2.00E+03	2.00E+02	1.60E+03	2.00E+02	4.50E+02	9.00E+01	7.70E+02	0.00E+00

Fuente: Vera Arauz, 2024.

Como se muestra en la Tabla 6, los *Vibrios spp.* presentes en el agua de un cultivo de *artemia franciscana*, los cuales están delimitados en UFC de *Vibrio spp.* amarillo y verde, se puede observar que inicia un crecimiento mínimo, donde las salinidades más bajas, 20 y 33 PPT tienden a un valor de cero en concentración UFC de *Vibrio spp.*, mientras que, en los tratamientos de las salinidades más altas, 50 y 80 PPT, correspondientes a los *Vibrio spp.* Verdes, estos tienden a iniciar un valor mayor a cero en sus concentraciones. Por otro lado, en las salinidades bajas de 20 y 33 PPT, en el día 15 presentan un valor de concentración aproximadamente de 10 a 100 veces mayor que en los tratamientos con salinidades de 50 y 80 PPT.

Tabla 7.

Segunda repetición para establecer la relación del comportamiento diario de la carga de *Vibrio spp.* con las diferentes salinidades durante el periodo de estudio.

Nº DIAS	TRATAMIENTO 1		TRATAMIENTO 2		TRATAMIENTO 3		TRATAMIENTO 4	
	20 PPT. AMARILLO	20 PPT. VERDE	33 PPT. AMARILLO	33 PPT. VERDE	50 PPT. AMARILLO	50 PPT VERDE	80 PPT. AMARILLO	80 PPT. VERDE
DIA 1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.00E+01	0.00E+00	2.00E+01
DIA 2	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00
DIA 3	1.25E+03	1.10E+02	3.20E+03	3.40E+02	1.40E+03	3.80E+02	2.10E+03	4.20E+02
DIA 4	1.20E+03	1.80E+02	2.50E+03	1.80E+02	1.76E+03	4.40E+02	1.82E+03	1.90E+02
DIA 5	4.80E+03	3.80E+03	7.90E+03	6.20E+03	1.74E+04	2.30E+03	1.50E+04	8.00E+03
DIA 6	9.70E+03	8.70E+03	9.70E+03	9.00E+03	1.02E+04	4.90E+03	1.60E+04	8.60E+03
DIA 7	1.30E+04	9.80E+03	6.00E+03	2.20E+04	9.90E+03	3.50E+03	6.50E+03	3.10E+03
DIA 8	1.39E+04	8.90E+03	4.00E+03	2.62E+04	1.20E+04	7.60E+03	5.40E+03	3.10E+03
DIA 9	2.67E+04	7.90E+03	2.50E+04	1.30E+04	1.19E+04	4.00E+03	1.19E+03	4.00E+03
DIA 10	2.94E+04	8.00E+03	2.25E+04	1.22E+04	1.58E+04	1.03E+04	8.00E+02	4.00E+02
DIA 11	1.20E+04	1.20E+03	1.50E+04	4.50E+03	1.02E+03	4.20E+02	6.40E+02	1.20E+02
DIA 12	1.04E+04	1.00E+03	1.05E+04	2.70E+03	7.00E+02	2.00E+02	4.80E+02	2.00E+01
DIA 13	3.50E+03	4.00E+02	6.00E+03	6.00E+02	7.00E+02	3.00E+02	7.90E+02	5.00E+01
DIA 14	6.00E+03	0.00E+00	3.80E+03	1.00E+02	4.00E+02	4.00E+02	7.00E+02	0.00E+00
DIA 15	2.20E+03	1.00E+02	2.20E+03	1.00E+02	4.90E+02	6.00E+01	7.70E+02	0.00E+00

Fuente: Vera Arauz, 2024.

Como se muestra en la Tabla 7, los *Vibrios spp.* Amarillos y Verdes visualizados en el Agar TCBS, muestran también, en el día 1 un crecimiento mínimo, donde las salinidades más bajas, 20 y 33 PPT, tienden a un valor de cero en concentración UFC de *Vibrio spp.*, mientras que, los *Vibrio spp.* Verdes en salinidades de 50 y 80 PPT tienden a iniciar un valor mayor a cero en sus concentraciones. Por otro lado, en las salinidades bajas de 20 y 33 PPT, en el día 15 presentan un valor de concentración aproximadamente de 10 a 100 veces mayor que en los tratamientos con salinidades de 50 y 80 PPT.

Tabla 8.

Tercera repetición para establecer la relación del comportamiento diario de la carga de Vibrio spp. con las diferentes salinidades durante el periodo de estudio.

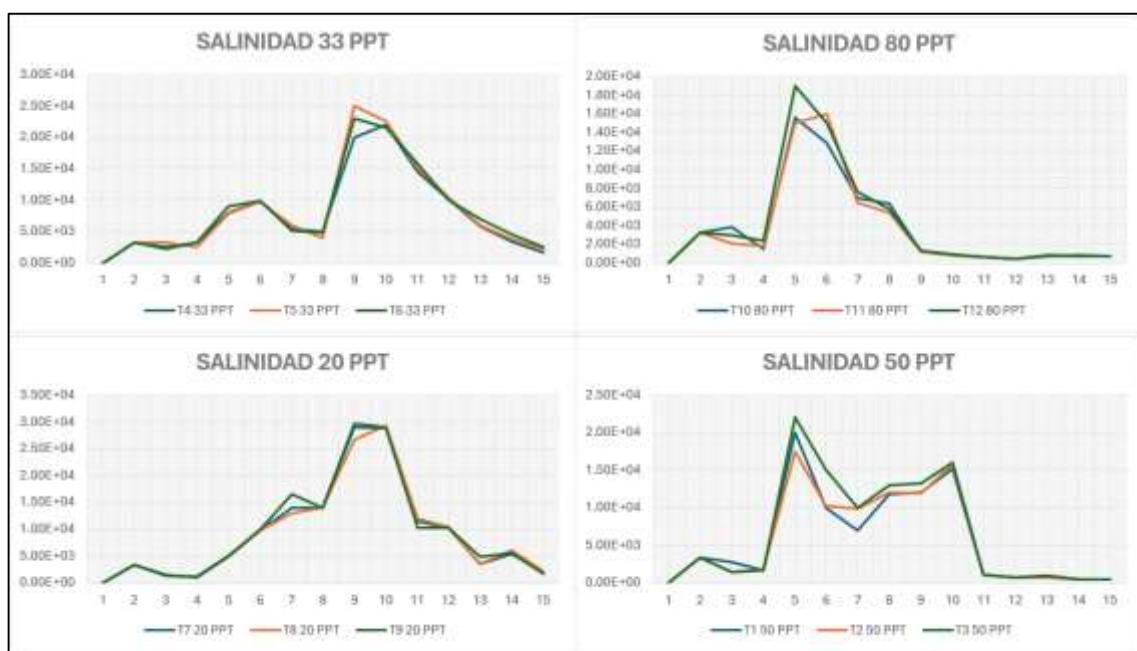
Nº DIAS	TRATAMIENTO 1		TRATAMIENTO 2		TRATAMIENTO 3		TRATAMIENTO 4	
	20 PPT.	VERDE	33 PPT.	33 PPT.	50 PPT.	50 PPT	80 PPT.	80 PPT.
DIA 1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.00E+01	0.00E+00	2.00E+01
DIA 2	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00	3.30E+03	0.00E+00
DIA 3	1.26E+03	4.90E+02	2.20E+03	6.40E+02	1.42E+03	4.50E+02	2.92E+03	4.20E+02
DIA 4	1.09E+03	2.00E+02	3.30E+03	3.80E+02	1.69E+03	5.80E+02	2.34E+03	3.00E+02
DIA 5	5.00E+03	4.00E+03	9.00E+03	5.80E+03	2.20E+04	2.20E+03	1.90E+04	9.30E+03
DIA 6	9.90E+03	8.50E+03	9.90E+03	5.00E+03	1.50E+04	4.00E+03	1.50E+04	9.00E+03
DIA 7	1.65E+04	9.00E+03	5.20E+03	2.60E+04	1.00E+04	3.90E+03	7.60E+03	3.00E+03
DIA 8	1.39E+04	9.00E+03	4.80E+03	2.60E+04	1.30E+04	8.00E+03	5.80E+03	3.00E+03
DIA 9	2.90E+04	9.80E+03	2.30E+04	1.32E+04	1.32E+04	3.90E+03	1.32E+03	3.90E+03
DIA 10	2.89E+04	7.90E+03	2.15E+04	1.05E+04	1.60E+04	1.09E+04	9.30E+02	3.00E+02
DIA 11	1.02E+04	1.70E+03	1.58E+04	4.00E+03	1.09E+03	5.00E+02	6.00E+02	3.00E+02
DIA 12	1.02E+04	1.20E+03	1.00E+04	2.20E+03	6.70E+02	2.30E+02	4.00E+02	5.00E+01
DIA 13	4.80E+03	2.00E+02	7.00E+03	1.00E+03	9.00E+02	4.00E+02	7.80E+02	5.00E+01
DIA 14	5.60E+03	1.00E+02	4.50E+03	1.00E+02	5.00E+02	6.00E+02	7.00E+02	0.00E+00
DIA 15	1.60E+03	2.00E+02	2.50E+03	2.00E+02	4.20E+02	8.00E+01	7.00E+02	0.00E+00

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 8, los *Vibrios spp.* Amarillos y Verdes visualizados en el Agar TCBS presentan en el día 1 un crecimiento en las salinidades de 20 y 33 PPT con un valor de cero en concentración UFC de *Vibrio spp.* y los *Vibrio spp.* Verdes en salinidades de 50 y 80 PPT tienden a iniciar un valor mayor a cero en sus concentraciones. Por otro lado, en las salinidades bajas de 20 y 33 PPT, en el día 15 presentan un valor de concentración aproximadamente de 10 a 100 veces mayor que en los tratamientos con salinidades de 50 y 80 PPT.

Figura 8.

Ciclos de Vida del *Vibrio spp.* Amarillo en los 4 tratamientos por las 3 repeticiones con respecto a los Días de Estudio.

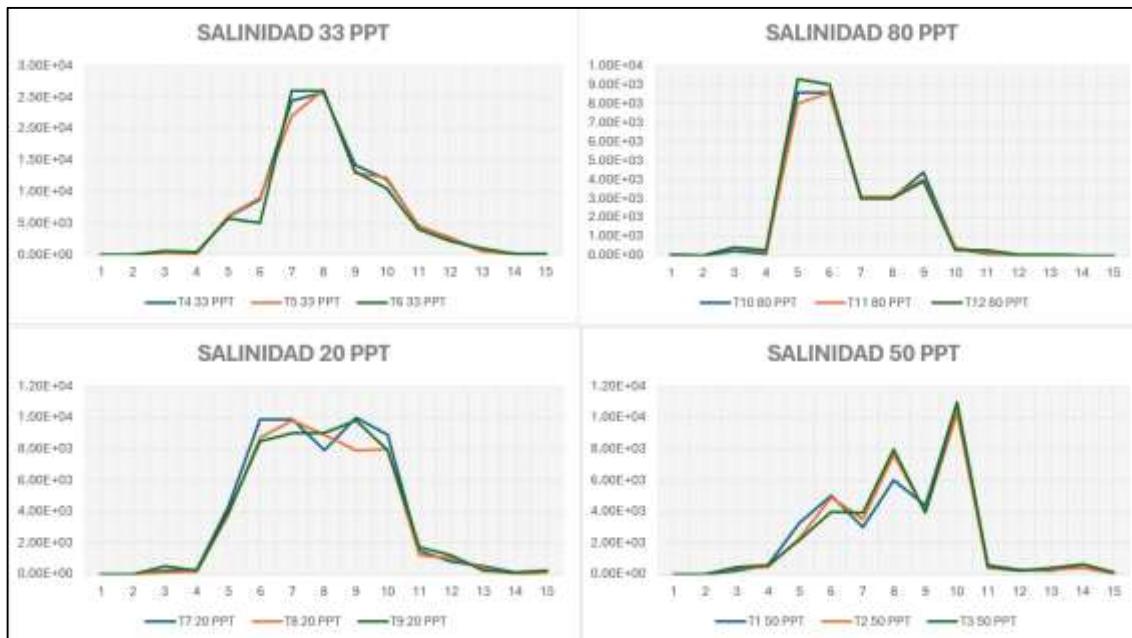


Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 8 se observa los cuatro tratamientos realizados, donde se detalla que, en los niveles de salinidad bajo de 20 y 33 PPT, el crecimiento fue más lento durante los primeros 5 días, mientras que, a niveles de salinidad 50 y 80 PPT, niveles mucho mayores que la salinidad local (Salinidad 28 – 33 PPT), se muestra un crecimiento superior en los primeros 5 días, llegando a su registro histórico máximo en el día 5. Las salinidades 20 y 33 PPT llegan a su carga de Vibrio máxima en el día 9, teniendo una diferencia de 4 días con las salinidades 50 y 80 PPT.

Figura 9.

Ciclos de Vida del Vibrio spp. Verde en los 4 tratamientos por las 3 repeticiones con respecto a los Días de Estudio.



Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 9 se muestran los ciclos de vida de los *Vibrios spp.* Verdes y sus cuatro tratamientos. Se observa en los primeros días el crecimiento elevado hasta llegar a un máximo, aproximándose a un crecimiento exponencial. En todos los niveles se pueden apreciar crecimiento elevados, con la única excepción del nivel de salinidad 50 PPT con un crecimiento lento hasta llegar a su valor máximo.

Tabla 9.

Evaluación del Contraste de Kruskal-Wallis para cada grupo de tratamientos por cada repetición.

REPETICION / TIPO VIBRIO	H	gl	Valor p	Hipótesis
1 / AMARILLO	6.092	3	0.107	SE ACEPTE H_0
1 / VERDE	4.506	3	0.212	SE ACEPTE H_0
2 / AMARILLO	7.018	3	0.071	SE ACEPTE H_0
2 / VERDE	3.008	3	0.390	SE ACEPTE H_0
3 / AMARILLO	6.136	3	0.105	SE ACEPTE H_0
3 / VERDE	3.407	3	0.333	SE ACEPTE H_0

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 9 se realiza la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis en lugar de realizar la prueba de ANOVA, debido a que los 3 supuestos para pruebas

paramétricas sobre los tratamientos evaluados no se cumplen conjuntamente, lo cual se puede verificar en la sección de APÉNDICES. Como resultado el contraste de Kruskal-Wallis muestra valores “p” mayores a 0.05 por cada grupo de tratamientos, lo que indican que no hay diferencias significativas entre los distintos grupos en cuanto a la carga de UFC de *Vibrio spp.* Amarillo y Verde por cada repetición. Por ende, no existe evidencia estadística suficiente para rechazar la Hipótesis Nula.

Para analizar si existe algún tratamiento con diferencias significativas que no se refleja en el contraste de Kruskal-Wallis, se realiza un análisis de Comparación Post-hoc de Dunn como prueba No paramétrica para comparar todas las combinaciones posibles de tratamientos, verificando si existen diferencias significativas con respecto a su población de origen.

Tabla 10.

Evaluación del Comparaciones Post-hoc de Dunn para cada par combinado de tratamientos – Repetición 1.

REPETICION / TIPO VIBRIO	TRATAMIENTO	Z	p
1 / AMARILLO	T1-T2	0.099	0.921
	T1-T3	1.292	0.197
	T1-T4	2.102	0.036*
	T2-T3	1.192	0.233
	T2-T4	2.003	0.045*
1 / VERDE	T3-T4	0.81	0.418
	T1-T2	-0.45	0.653
	T1-T3	0.429	0.668
	T1-T4	1.571	0.116
	T2-T3	0.879	0.379
	T2-T4	2.021	0.043*
	T3-T4	1.141	0.254

Fuente: Vera Arauz, 2024.

La Tabla 10 muestra que los tratamientos T1-T4 (*Vibrio spp.* Amarillo) y T2-T4 (*Vibrios spp.* Amarillo y Verde) presentan diferencias significativas con respecto a su población de origen dado que la prueba tiene valores “p” resultantes menores a la significancia de 0.05, demostrando que la carga de UFC de *Vibrio spp.* Amarillo

y Verde presentan diferencias significativas entre los tratamientos de baja salinidad (20 PPT y 33 PPT) con respecto al tratamiento de mayor salinidad T4: 80 PPT.

Tabla 11.

Evaluación del Comparaciones Post-hoc de Dunn para cada par combinado de tratamientos – Repetición 2.

REPETICION / TIPO VIBRIO	TRATAMIENTO	Z	p
2 / AMARILLO	T1-T2	0.073	0.942
	T1-T3	1.433	0.152
	T1-T4	2.217	0.027*
	T2-T3	1.360	0.174
	T2-T4	2.144	0.032*
	T3-T4	0.784	0.433
2 / VERDE	T1-T2	-0.738	0.460
	T1-T3	0.063	0.950
	T1-T4	0.990	0.322
	T2-T3	0.801	0.423
	T2-T4	1.728	0.084
	T3-T4	0.927	0.354

Fuente: Vera Arauz, 2024.

La Tabla 11 indica que los pares de tratamientos T1-T4 y T2-T4 en *Vibrios spp.* Amarillo presentan diferencias significativas con respecto a su población de origen, pero en los *Vibrios spp.* Verde la prueba no tuvo evidencia estadística suficiente para rechazar la hipótesis Nula, por ende, sus muestras no presentan diferencias significativas. Los *Vibrios spp.* Verde evidentemente muestran un comportamiento diferente a los *Vibrios spp.* Amarillo en los diferentes tratamientos y repeticiones.

Tabla 12.

Evaluación del Comparaciones Post-hoc de Dunn para cada par combinado de tratamientos – Repetición 3.

REPETICION / TIPO VIBRIO	TRATAMIENTO	Z	p
3 / AMARILLO	T1-T2	0.084	0.933
	T1-T3	1.255	0.209
	T1-T4	2.113	0.035*
	T2-T3	1.171	0.241
	T2-T4	2.029	0.042*
	T3-T4	0.858	0.391
3 / VERDE	T1-T2	-0.654	0.513
	T1-T3	0.178	0.859
	T1-T4	1.168	0.243
	T2-T3	0.832	0.405
	T2-T4	1.822	0.068
	T3-T4	0.99	0.322

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 12 podemos observar que los pares de tratamientos correspondientes a T1-T4 y T2-T4 en *Vibrios spp.* Amarillo también presentan diferencias significativas con respecto a su población de origen, pero en los *Vibrios spp.* Verde no presentan diferencias significativas.

4.3 Asociar la supervivencia de la *Artemia franciscana* con la carga de *Vibrios spp.* en los diferentes niveles de salinidad.

Tabla 13.

Supervivencia final de la *Artemia Franciscana* y promedios de carga UFC de *Vibrios spp.* Amarillo y Verde para cada nivel de salinidad.

TRATAMIENTO / REPETICIÓN	Salinidad	Supervivencia de Artemia (15 DÍAS)	Promedio <i>Vibrio spp.</i> Amarillo	Promedio <i>Vibrio spp.</i> Verde
T1 / Repetición 1	20 PPT	43.33%	9316.00	3635.33
T1 / Repetición 2	20 PPT	42.50%	9156.67	3339.33
T1 / Repetición 3	20 PPT	43.33%	9416.67	3486.00
T2 / Repetición 1	33 PPT	67.50%	7661.33	6676.00
T2 / Repetición 2	33 PPT	65.00%	8106.67	6474.67
T2 / Repetición 3	33 PPT	67.50%	8133.33	6334.67
T3 / Repetición 1	50 PPT	70.00%	5823.33	2348.67
T3 / Repetición 2	50 PPT	70.00%	5798.00	2320.67
T3 / Repetición 3	50 PPT	69.17%	6612.67	2383.33
T4 / Repetición 1	80 PPT	85.00%	3723.33	1898.00
T4 / Repetición 2	80 PPT	87.50%	3699.33	1868.00
T4 / Repetición 3	80 PPT	82.50%	4092.67	1976.00

Fuente: Vera Arauz, 2024.

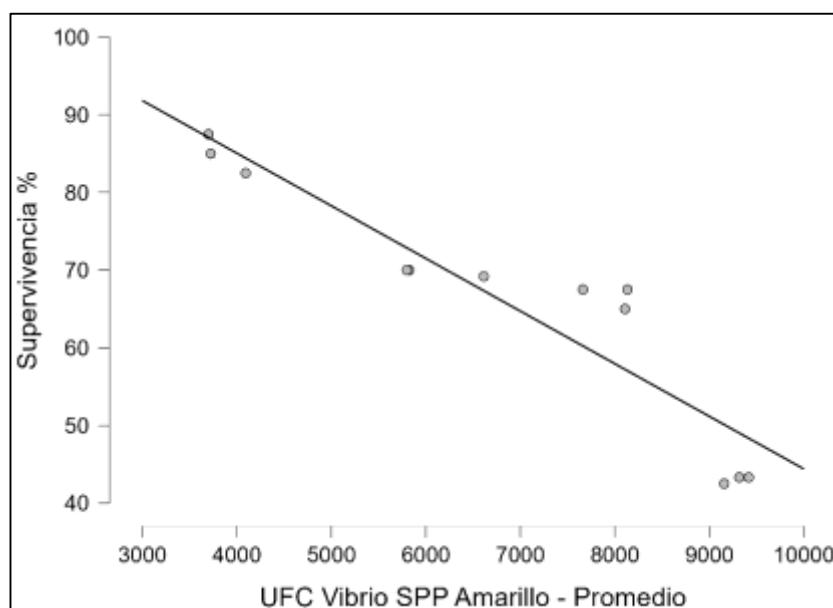
En la Tabla 13 se muestra los valores de supervivencia, los cuales son calculados en la Tabla 29 del Apéndice N°4: Supervivencia de Artemia Franciscana, donde se asocian los valores promedio de *Vibrio spp.* Amarillo y Verde con las supervivencias finales en el día 15 del estudio. Se registró que existe una mayor tasa de supervivencia en el nivel más alto de salinidad con el tratamiento de 80 PPT con valores de 85.00%, 87.50% y 82.50%, a diferencia de la menor salinidad con 20 PPT, la cual no supero el porcentaje normal con valores de 43.44%, 42.50% y 43.33%. Se aprecia que conforme aumenta la salinidad, la supervivencia mejora gradualmente, lo que implica una menor mortalidad en salinidades superiores. Con estos datos se realiza el análisis de correlación de Pearson entre ambas variables de estudio, de tal forma que se determina el coeficiente de correlación lineal con un nivel de significancia de 0.05.

Tabla 14.**Análisis de Correlación de Pearson entre Promedio de UFC de *Vibrio spp. Amarillo / Verde* y Supervivencia de *Artemia Franciscana*.**

Variable 1	Variable 2	R de Pearson	Valor p	Covarianza
UFC <i>Vibrio spp. Amarillo</i> Promedio	Supervivencia %	-0.931	< .001	-316.552
UFC <i>Vibrio spp. Verde</i> Promedio	Supervivencia %	-0.298	0.346	-87.805

Fuente: Elaborado por Aida Solange Vera Arauz, 2024.

La Tabla 14 presenta un valor p menor a 0.05 en el análisis de correlación de Pearson entre UFC de *Vibrio spp. Amarillo* promedio y la Supervivencia, lo que implica que existe una correlación lineal con un coeficiente de correlación de -0.931, el cual presenta una pendiente negativa, indicando que la supervivencia de *Artemia Franciscana* disminuye Linealmente conforme aumenta la carga promedio de *Vibrio spp. Amarillo*. Por otro lado, se puede observar que el promedio de UFC de *Vibrio spp. Verde* no presenta una correlación lineal con respecto a la supervivencia de la *Artemia Franciscana*, su valor p es superior a 0.05 y el coeficiente de correlación de Pearson es muy bajo. Estos resultados se pueden apreciar mejor mediante un gráfico de dispersión lineal.

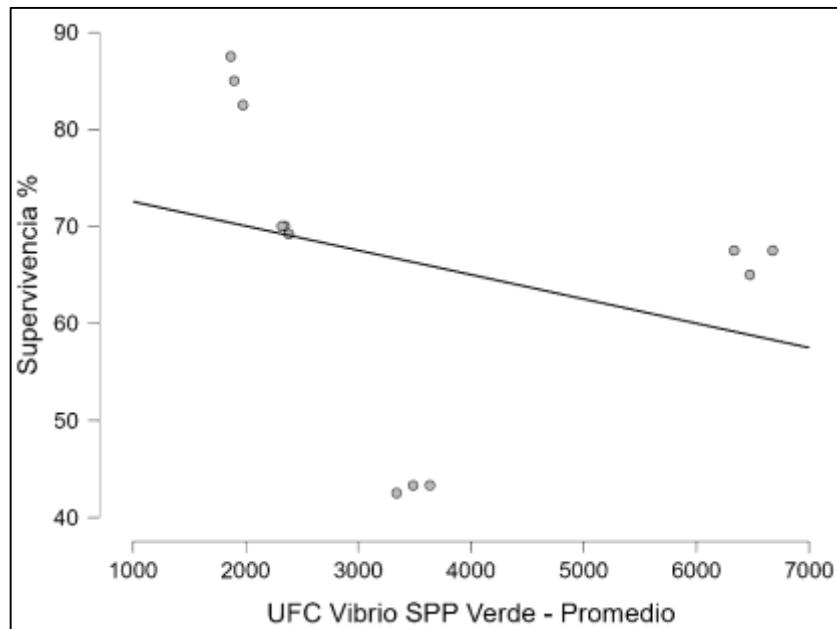
Figura 10.**Gráfico de Dispersión Lineal: % Supervivencia de *Artemia* vs UFC *Vibrio spp. Amarillo* Promedio.**

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 10 muestra una correlación lineal muy notable en la Supervivencia vs Promedio de UFC de *Vibrio spp.* Amarillo, donde se puede observar la linealidad como una recta de pendiente negativa, debido al valor negativo del coeficiente de correlación de Pearson.

Figura 11.

Gráfico de Dispersión Lineal: % Supervivencia de Artemia vs UFC *Vibrio spp.* Verde Promedio.



Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Figura 11 la correlación lineal entre Supervivencia y Promedio de UFC de *Vibrio spp.* Verde es muy baja, mostrando un alto grado de dispersión con referencia a la recta lineal con pendiente negativa.

5. DISCUSIÓN

La presente investigación se basa en la influencia de la salinidad sobre la concentración del *Vibrio spp.* (Catalogados como Amarillo y Verde) en un sistema de cultivo controlado de *Artemia franciscana*, este estudio es fundamental para entender las interacciones entre estos organismos y su entorno, así como también la influencia de los *Vibrios spp.* en la supervivencia de la población de *Artemia franciscana*. Arte Yang y Sun (2023) indican en su investigación la relevancia de comprender los factores ambientales que influyen en el crecimiento de *Vibrio spp.* como la salinidad, el pH, el oxígeno y la temperatura debido a que afectan el desarrollo de esta bacteria.

De acuerdo con la determinación bacteriana presentada en la Tabla 5, se evidencia que la concentración de *Vibrio spp.* Amarillo disminuye con el aumento de salinidad, teniendo su máximo valor en 20 PPT y su mínimo en 80 PPT. En contraste, *Vibrio spp.* Verde, específicamente *Vibrio parahaemolyticus* según el agar TCBS utilizado, alcanza su máxima concentración a 33 PPT, mientras que en salinidad de 20 PPT presenta concentraciones considerablemente menores, disminuyendo su concentración a un 38.76% con respecto a las concentraciones en 33 PPT en la repetición 1 (37.40% y 37.69% en las repeticiones 2 y 3). La concentración mínima se observa a 80 PPT. Sin embargo, Ma et al (2021) indica que el *Vibrio parahaemolyticus* tiene una influencia significativa en ambientes de salinidades de 2 PPT hasta 20 PPT, donde la salinidad afecta el crecimiento bacteriano, lo que implica que la salinidad de 20 PPT favorece el crecimiento de *Vibrio parahaemolyticus*, optimizando su desarrollo bacteriano en comparación con niveles más bajos de salinidad.

De acuerdo con los gráficos de cajas, se presenta heterogeneidad en los datos, en los cuales se observan valores atípicos, lo que evidencia un crecimiento exponencial en los primeros días del estudio, en donde los resultados confirman que la salinidad de 20 favorece significativamente el desarrollo de *Vibrio spp.* Amarillo, proporcionando un ambiente óptimo para su proliferación. Lo que coincide con la investigación de Sampaio et al. (2022) quienes demostraron que *Vibrio cholerae*, correspondiente a *Vibrio spp.* Amarillo, es más significativo en salinidades de 0 a 20 PPT, donde presenta una mayor frecuencia y desarrollo bacteriano.

También, mencionan que *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* tienen salinidades características de 5 a 30 PPT y 8 a 16 PPT, respectivamente.

El crecimiento bacteriano de *Vibrio spp.* observado en las Figura 8 y Figura 9 muestra una disminución en la población de *Vibrio spp.* Amarillo durante los días intermedios del experimento, lo que se atribuye a la presencia natural de *Vibrio spp.* Verde, lo cual no fue tratado mediante una intervención en los acuarios del experimento, dado que eso pudo afectar severamente los parámetros de control como temperatura, oxígeno, pH y salinidad; o a la población de *Artemia franciscana*, por ende, se decidió no tomar medidas. Además, las mismas figuras evidencian un patrón de crecimiento característico de las fases de desarrollo bacteriano descrito en el Modelo Matemático Estándar, según Labster (2024). Adicionalmente, la investigación realizada por Bauer et al. (2020) apoyan estos hallazgos, indicando que las salinidades más bajas favorecen el crecimiento de especies como *Vibrio parahaemolyticus*, lo cual puede incrementar el riesgo de brotes patógenos en sistemas acuícolas. A pesar de que la carga de *Vibrio spp.* Verde fue menor en 20 PPT, este tratamiento mostró un ciclo de vida más estable, con una fase estacionaria notablemente más prolongada en comparación con los otros tratamientos, lo que indica una mejor adaptación de la población bacteriana con un periodo más extenso. Estos hallazgos subrayan la complejidad de las interacciones entre las especies bacterianas y cómo las condiciones ambientales pueden modular el desarrollo bacteriano y los riesgos patogénicos asociados. Cabe recalcar que las repeticiones en cada tratamiento no presentan diferencias visuales notables en sus gráficos de crecimiento bacteriano.

Los *Vibrios spp.* Amarillos, grupo correspondiente al *Vibrio cholerae* y *Vibrio Furnissi*, presentan diferencias significativas notables en todas las repeticiones entre los tratamientos T1 – T4 y T2 – T4 (T1: 20 PPT, T2: 33 PPT y T4: 80 PPT) mediante el contraste de Post-hoc de Dunn. Los *Vibrios spp.* Verdes, grupo correspondiente al *Vibrio parahaemolyticus*, tienen diferencias significativas notables en la 1era repetición entre los tratamientos T2 – T4. Por otro lado, el grupo de tratamientos (T1, T2, T3 y T4) no presentó diferencias significativas en los *Vibrios spp.* Amarillos y Verdes con el contraste de Kruskal-Wallis, como grupo no son significativamente diferentes estadísticamente. Los tratamientos T1 y T2, ambos en comparación con el tratamiento T4, son considerablemente diferentes en

parámetros del agua, específicamente en la salinidad, esto se da entender en Ma et al (2021), confirmando que el metabolismo de sacarosa juega un papel importante en la mayoría de los *Vibrios spp.*, especialmente en los *Vibrios spp.* Amarillos. Las diferencias significativas entre el tratamiento T2 y T4 en los *Vibrios spp.* Verdes pueden explicarse por la diferencia en el metabolismo de la sacarosa, considerando que tanto los *Vibrios spp.* Verde y Amarillo conviven en el mismo ecosistema controlado, pero que el aumento de actividad del *Vibrio spp.* Amarillo producido por el aumento en el metabolismo de la sacarosa, puede afectar la actividad del *Vibrio spp.* Verde, lo cual pudo observarse en los diferentes tratamientos en los desarrollos bacterianos de ambos tipos de Vibrio en el agar TCBS.

En cuanto a supervivencia de la *artemia franciscana*, la Tabla 13 registra una mayor tasa en el nivel más alto de salinidad con el tratamiento de 80 PPT, a diferencia de la menor salinidad con 20 PPT, la cual registró la menor tasa de supervivencia en el transcurso de los 15 días del estudio, llegando hasta la edad adulta en todas las salinidades. Además, se utilizó levadura calentada en agua con azúcar, el cual se considera como alimento inerte, mientras que, el tiempo de mortalidad total aproximado no llegó a cumplirse en 15 días del experimento, dado que los porcentajes de supervivencias finales eran superiores al 40% en todos los tratamientos, donde los valores más altos se obtienen en el tratamiento T4 (80 PPT). Una investigación llevada a cabo por Fernandez y Guzmán (2017) en la que experimentaron con artemia franciscana en 60 PPT como salinidad inicial, la cual varía hasta un máximo de 67 PPT según la naturaleza del experimento, indican en cuanto a supervivencia que la población de artemia con alimento inerte presentó una mortalidad superior al 90% en el día 13. En la investigación presente, las salinidades <60 PPT no sufrieron la mortalidad 100% en 15 días de estudio, el valor más bajo de supervivencia se dio en salinidad 20 PPT con 42.50% en la repetición 2, mientras que, en salinidad 80 PPT se da la supervivencia más alta con 87.50% en la repetición 2. Por lo tanto, considerando las investigaciones de Bauer et al. (2020) y Ma et al. (2021), los *Vibrios spp.* aumentan en salinidades bajas mediante el aumento del metabolismo de sacarosa, lo que se relaciona con la supervivencia de la *artemia franciscana*, aumentando sus valores de tasa conforme aumenta la salinidad, por ende, la tasa de supervivencia también aumenta cuando disminuye

la concentración de UFC de *Vibrios spp.* Amarillo (Fermentadores de sacarosa) por causa del aumento de salinidad, lo que difiere del caso de los *Vibrios spp.* Verde (No fermentadores de sacarosa), donde no se aprecia una proporción lineal en la supervivencia de la *artemia franciscana*. Sin embargo, en la investigación de Castro et al. (2013) se observan resultados de supervivencias de *artemia franciscana* en 21 días de estudio con 5 niveles de salinidad (40, 60, 80, 100 y 120 PPT), los cuales reflejan supervivencias variadas, en 40 PPT la supervivencia fue del 0% al séptimo día, mientras que, los demás casos tienen valores de supervivencia en el día 21, con intervalos estimados: 48-51% (60 PPT), 61-62% (80 PPT), 76-78% (100 PPT) y 84-85% (120 PPT), esto implica un aumento proporcional de la supervivencia de la *artemia franciscana* conforme aumenta el nivel de salinidad. Además, se indica que la concentración de salinidad con valores <60 PPT y >120 PPT afectan la supervivencia de las poblaciones de artemia.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

La salinidad impacta significativamente en las concentraciones de UFC de *Vibrios spp.* Amarillo, de tal forma que, a medida que la salinidad aumenta, la concentración de *Vibrios spp.* Amarillo disminuye proporcionalmente. No obstante, los *Vibrios spp.* Verde no exhiben una disminución proporcional, dado que del tratamiento T1 al T4 no existe un patrón de disminución de concentraciones UFC en ninguna repetición, lo que indica un comportamiento no lineal entre la concentración de *Vibrios spp.* Verde y los niveles de salinidad.

De acuerdo con los días de estudio del crecimiento de *Vibrio spp.*, las concentraciones de *Vibrio spp.* Amarillo y Verde en diferentes salinidades se comportaron según el modelo estándar de desarrollo bacteriano. En contraste, *Vibrio spp.* Verde presentó concentraciones máximas y promedio más bajas, pero una fase estacionaria más prolongada en el tratamiento T1 (20 PPT), lo que indica una mejor adaptación a esas condiciones. Aunque no se encontraron diferencias significativas globales entre tratamientos (Kruskal-Wallis $p>0.05$), se obtuvieron diferencias significativas entre pares de tratamientos: T1-T4 y T2-T4 para *Vibrio spp.* Amarillo en las 3 repeticiones, y T2-T4 para *Vibrio spp.* Verde solo en la repetición 1 (Post-hoc de Dunn $p>0.05$). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula de la presente investigación, la cual afirma que los niveles de salinidad no influyen en la concentración de *Vibrio spp.* en cultivos controlados de *Artemia franciscana*.

De acuerdo con la supervivencia de *Artemia franciscana* con relación a la concentración de UFC de *Vibrios spp.* Amarillos, presentan una relación lineal con una correlación negativa significativa (Pearson: $R=-0.931$; $p<0.05$), es decir, que conforme aumenta la concentración de UFC de *Vibrios spp.* Amarillos, disminuye la supervivencia de la *Artemia franciscana*. En contraste, la correlación entre la supervivencia y la concentración de *Vibrio spp.* Verde es negativa, pero considerablemente baja (Pearson: $R=-0.298$; $p>0.05$), lo que indica que la influencia de este grupo bacteriano no es significativa con la supervivencia de la *Artemia franciscana*. Cabe mencionar, que el metabolismo y la fermentación de la sacarosa variable con respecto a la salinidad son relevantes para la supervivencia de la *Artemia franciscana* según el tipo de *Vibrio spp.* presente.

6.2 Recomendaciones

Se recomienda implementar estrategias de monitoreo y control de la mayor cantidad de posibles parámetros fisicoquímicos, tales como el oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH varias veces al día para disminuir los riesgos de errores experimentales en un cultivo de artemia franciscana.

Es necesario realizar más estudios experimentales sobre la concentración de *Vibrio spp.* en diferentes niveles de salinidad, considerando que se tienen comportamientos que no son lineales con respecto al nivel de salinidad, como es el caso de los Vibrios no fermentadores de sacarosa. Además, es importante considerar diferentes tipos de agares para realizar estudios sobre otros tipos de bacterias que pudieron ser contemplados en la presente investigación.

Para un estudio más profundo de una posible correlación y proporción lineal o no lineal de la concentración de *Vibrio spp.* y los niveles de salinidad, es necesario incrementar la cantidad de tratamientos, con mínimas diferencias de salinidades entre cada tratamiento, como, por ejemplo: T1 – 20 PPT, T2 – 22 PPT, ..., T30 – 78 PPT, T31 – 80 PPT, etc. Se debe considerar que la cantidad de tratamientos puede llegar a ser elevada.

Si se desea tener una mayor supervivencia de *artemia franciscana* se recomienda mantener una mayor salinidad con parámetros fisicoquímicos controlados y una temperatura estable entre 25°C y 28°C, así mismo, controlar la cantidad de alimento proporcionado para evitar una alteración en la calidad del agua. Por otro lado, se puede usar otros tipos de agares para identificar otros tipos de bacterias, que sumado a los *Vibrios spp.* presenciados en el agar TCBS, puedan afectar la supervivencia de la artemia.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuicultura Hoy, 2013. *Consideraciones-acuicolas2*. [Online]
Available at: <https://consideraciones-acuicolas2.webnode.com.co/news/parametros-fisico-quimicos/>
- Albarano, L. et al., 2022. Genotoxicity in Artemia spp.: an old model with new sensitive endpoints. *Aquatic Toxicology*, Volume 252, p. 106320.
- Annies, J. & Rosamma, P., 2020. Immunocompetence of Penaeus monodon under acute salinity stress and pathogenicity of Vibrio harveyi with respect to ambient salinity. *Fish & Shellfish Immunology*, 106(1), pp. 555-562.
- Bauer, J. et al., 2020. Impact of a reduced water salinity on the composition of Vibrio spp. in recirculating aquaculture systems for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its possible risks for shrimp health and food safety. *Journal of fish diseases*, 44(1), pp. 89-105.
- Becton Dickinson Franse SA., 2003. *Instrucciones de uso de*, s.l.: Becton Dickinson Franse SA..
- Beux, L. F. & Zaniboni Filho, E., 2018. The effect of different low salinity levels on Artemia sp. nauplii survival. *BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA*, 32(1), pp. 73-77.
- Bravo, L. y otros, 2000. Vibrio cholerae No-01 toxigénico. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 52(2).
- Brumfield, K. D. et al., 2021. Environmental parameters associated with incidence and transmission of pathogenic Vibrio spp.. *Environmental microbiology*, 23(12), pp. 7314-7340.

Cano, I. et al., 2007. *Artemia sp. como potencial vector de transmisión del virus de linfocistis (LCDV)*, s.l.: Galicia. Centro de Investigaciones Marinas.

Castañeda-Chávez, M. d. R., Lango-Reynoso, F., García-Fuentes, J. L. & Reyes-Aguilar, Á. R., 2018. Bacteria that affects coral health with an emphasis on the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea. *Latin american journal of aquatic research*, 46(5), pp. 880-889.

Castro, M. J. y otros, 2013. Sobrevivencia y características reproductivas de las poblaciones de Artemia franciscana Kellogg, 1906 provenientes de Yucatán, México, cultivadas a diferentes salinidades (40, 60, 80, 100 y 120 gL⁻¹). *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente*, 2(4), pp. 61-72.

De Souza Valente, C. & Wan, A. H., 2021. Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology*, Volumen 181, p. 107527.

Defoirdt, T. et al., 2006. Quorum sensing-disrupting brominated furanones protect the gnotobiotic brine shrimp Artemia franciscana from pathogenic Vibrio harveyi, Vibrio campbellii, and Vibrio parahaemolyticus isolates. *Applied and environmental microbiology*, 72(9), pp. 6419-6423.

ELIKA, 2023. *ELIKA - Seguridad Alimentaria*. [En línea]
Available at: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/vibrio/>

Espinel, C. F., Dominick, V. F. & Morillo, M. M., 2017. Aislamiento y caracterización del bacteriófago Va1 específico a Vibrio alginolyticus. *Scielo*, 24(1), pp. 93-100.

FAO, 2022. *El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura 2022. Hacia la Transformación Azul*, s.l.: FAO Rome, Italy.

Fernandez, A. & Guzmán, J., 2017. *Crecimiento de Artemia Franciscana, proporcionando vivo e inerte, bajo condiciones de laboratorio.*, Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Fundación io, 2023. *Fundación io*. [Online]
Available at: <https://fundacionio.com/aumento-de-infecciones-por-vibrio-vulnificus/>

Godínez, D. y otros, 2004. Crecimiento larvario de Artemia franciscana (Kellogg, 1906) alimentada con dos especies de microalgas vivas. *Zootecnia tropical*, Volumen 22, pp. 265-276.

Hanna Instruments, 2022. *Hannainst*. [Online]
Available at: <https://www.hannainst.es/blog/1720/Par%C3%A1metros-clave-a-controlar-en-Acuicultura#:~:text=Las%20especies%20de%20aguas%20c%C3%A1lidas,a%20emperaturas%20inferiores%20a%2025%C2%BAC.>

Hernández, C. y otros, 2005. Infecciones por Vibrio parahaemolyticus e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. *Revista médica de Chile*, 133(9).

Ina-Salwany, M. Y. et al., 2019. Vibriosis in Fish: A Review on Disease Development and Prevention. *Journal of Aquatic Animal Health*, 31(1), pp. 3-22.

Labster, 2024. *Labster Theory Pages*. [En línea]
Available at: <https://theory.labster.com/es/bacterial-growth-curve/>
[Último acceso: 27 Octubre 2024].

Lee, J., Cho, B. C. & Park, J. S., 2022. Transcriptomic analysis of brine shrimp *Artemia franciscana* across a wide range of salinities. *Marine Genomics*, Volume 61, p. 100919.

Leyton, Y. & Riquelme, C., 2008. Vibrios en los sistemas marinos costeros. *Revista de biología marina y oceanografía*, 43(3), pp. 441-456.

Loo, K.-Y. et al., 2020. Incidence of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), pp. 2590-2608.

López-Hernández, K. M., Pardío-Sedas, V. T. & Williams, J. d. J., 2014. Evaluación del riesgo microbiológico a *Vibrio* spp. en alimentos de origen marino en México. *Salud pública de México*, 56(3), pp. 295-301.

Madkour, K., Dawood, M. A., Sorgeloos, P. & Sewilam, H., 2023. Effects of desalination brine on the fecundity of brine shrimp *Artemia franciscana* fed on rice bran. *Annals of Animal Science*, 23(3), pp. 869-875.

Mali, V., Sharma, B., Sharma, S. & Upadhyay, B., 2023. Analytical study of effect of salinity on growth and survival od artemia nauplii in inland saline water of Didwana lake Rajasthan. *The pharma innovation journal*, 13(3), pp. 410-416.

Martins, S. B., Silva, U. d. A. T. d. & Masunari, S., 2020. Larval export strategy as an indication of ontogenetic migrations towards open sea of the fiddler crab *Leptuca leptodactyla* (Rathbun, in Rankin, 1898)(Crustacea, Ocypodidae) from Guaratuba Bay, southern Brazil. *Nauplius*, Volume 28, p. e2020028.

Ma, R. y otros, 2021. Effects of different salinity on the transcriptome and antibiotic resistance of two *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from *Penaeus*

vannamei cultured in seawater and freshwater ponds. *Journal of Fish Diseases*, 44(12), pp. 2055-2066.

Millán-Almaraz, M. I., Nieves-Soto, M., López-Peraza, D. J. & Peraza-Yee, M. M., 2021. Effect of light and feed density on ingestion rate, protein and lipid content of Artemia franciscana juveniles. *Latin american journal of aquatic research*, 49(5), pp. 717-724.

Mohamad, N. et al., 2019. Vibriosis in cultured marine fishes: a review. *Aquaculture*, Volume 512, p. 734289.

Montánchez, t. & Kaberdin, V. R., 2020. Vibrio harveyi: A brief survey of general characteristics and recent epidemiological traits associated with climate change. *Marine Environmental Research*, Volume 154, p. 104850.

Moraga, P., Ávila, R. & Vilaxa, A., 2015. Salinidad y temperatura óptimas para reproducción ovípara y desarrollo de Artemia franciscana. *Idesia (Arica)*, 33(1), pp. 85-92.

Motta, J. C. y otros, 2020. Bacteriemia por Vibrio cholerae (no-O1/no O139): reporte de caso. *Acta Médica Peruana*, 37(3).

Muñoz, V. & Gabriel, J., 2021. *Desinfección de Artemias salinas para el uso en larvicultura*, s.l.: Escuela Politécnica del Litoral.

Paul, J. H. & Sullivan, M. B., 2005. Marine phage genomics: what have we learned?. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(3), pp. 299-307.

Pinheiro Junior, A. d. S. et al., 2023. Effect of feeding frequency and water salinization on early development of Pyrrhulina brevis, an Amazonian ornamental fish. *Acta Amazonica*, 53(2), pp. 107-113.

Raman, R. P., 2017. Applicability, feasibility and efficacy of phytotherapy in aquatic animal health management. *American Journal of Plant Sciences*, 8(02), p. 257.

Sampaio, A., Silva, V., Poeta, P. & Aonofriesei, F., 2022. Vibrio spp.: Life Strategies, Ecology, and Risks in a Changing Environment. *Diversity*, 14(2).

Sánchez, A., 2017. *Efecto de la temperatura sobre el tiempo y la eficiencia de descapsulación y eclosión en el crustáceo euritermo Artemia sp.*, s.l.: ehuBiblioteka.

Sandoval, L. & Aguilar, A., 2022. *Papel de la salinidad, temperatura y pH sobre el nivel de expresión de mRNA de las toxinas PirA y PirB en Vibrio Parahaemolyticus*, s.l.: Research Gate.

Shanshan, Z., Qian, Y. & Tom, D., 2022. Halogenated Indoles Decrease the Virulence of *Vibrio campbellii* in a Gnotobiotic Brine Shrimp Model. *Microbiology Spectrum*, 10(5), pp. e02689-22.

Sotomayor, R. U., Ortiz, J. F., Alejo, J. P. & Torres, B. R., 2024. El cultivo de camarón Penaeusspp. en México con diferentesalinidad en el agua. *REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR - UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA*, 1(2).

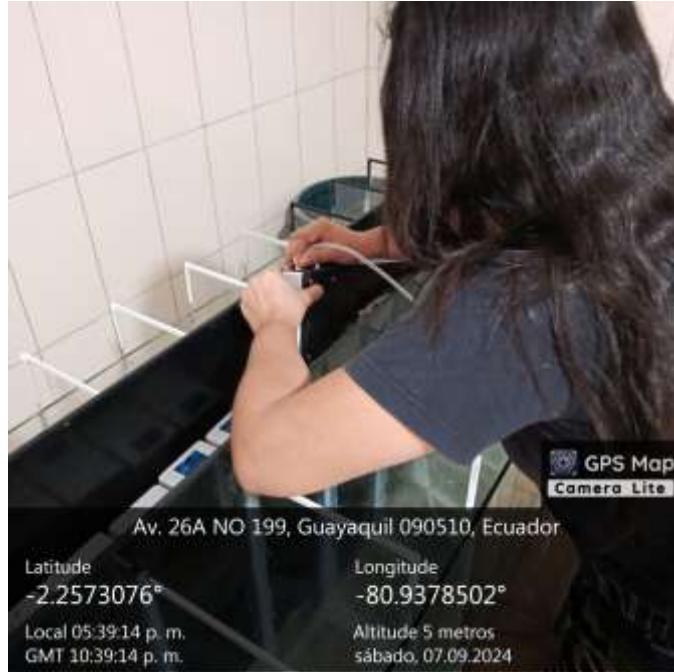
Wang, Z., Wang, H., Chen, D. & Li, Y., 2024. Genomic characterization and comparative genomic analysis of pathogenic Vibrio isolated from aquaculture-grown white-leg shrimp (*Penaeus vannamei*) in Guangdong and Jiangsu, China. *Aquaculture*, Volume 580, p. 740302.

Yang, J.-Y. & Sun, S.-C., 2023. Combined effects of temperature, photoperiod, and salinity on reproduction of the brine shrimp *Artemia sinica* (Crustacea: Anostraca). *PeerJ*, Volume 11, p. e15945.

Zavala, A., Ramírez, E. Q. & Salinas, C. V., 2005. LA VIDA OBSCURA DE VIBRIO ALGINOLYTICUS. *UNAM - Revista digital universitaria*, 6(4).

ANEXOS

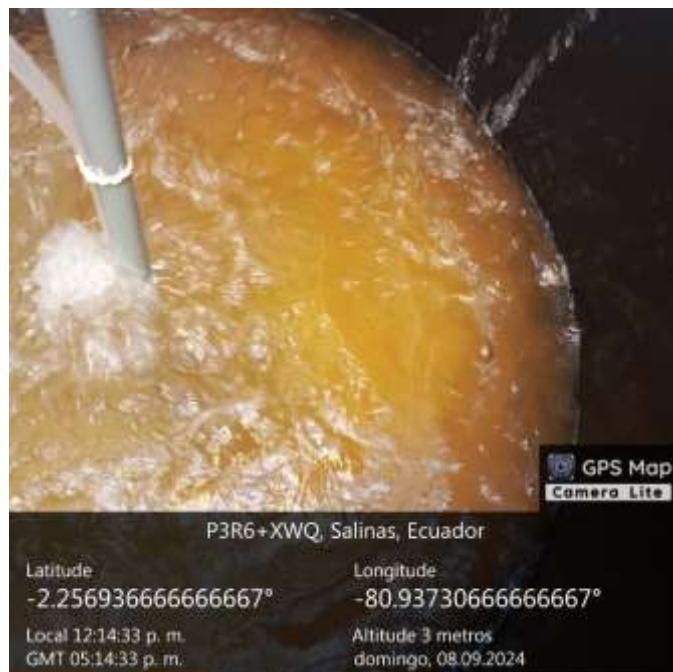
Anexo N°1: Preparación de la oxigenación en acuarios y otros parámetros fisicoquímicos necesarios para el experimento.



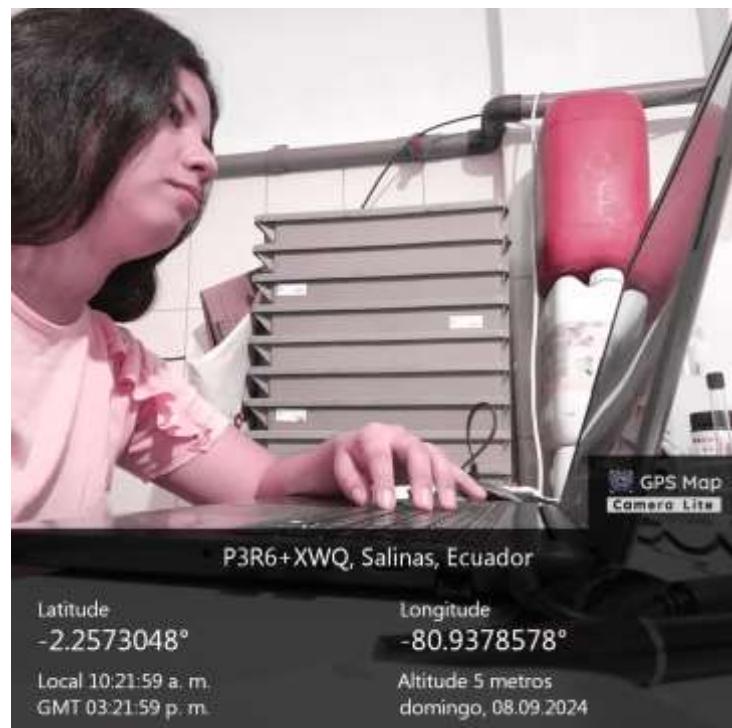
Anexo N°2: Medición Precisa de Quistes de Artemia Utilizando una Gramera.



Anexo N°3: Proceso de Eclosión de Quistes de Artemia utilizando un cono de laboratorio, el cual que facilita la eclosión en 24 Horas.



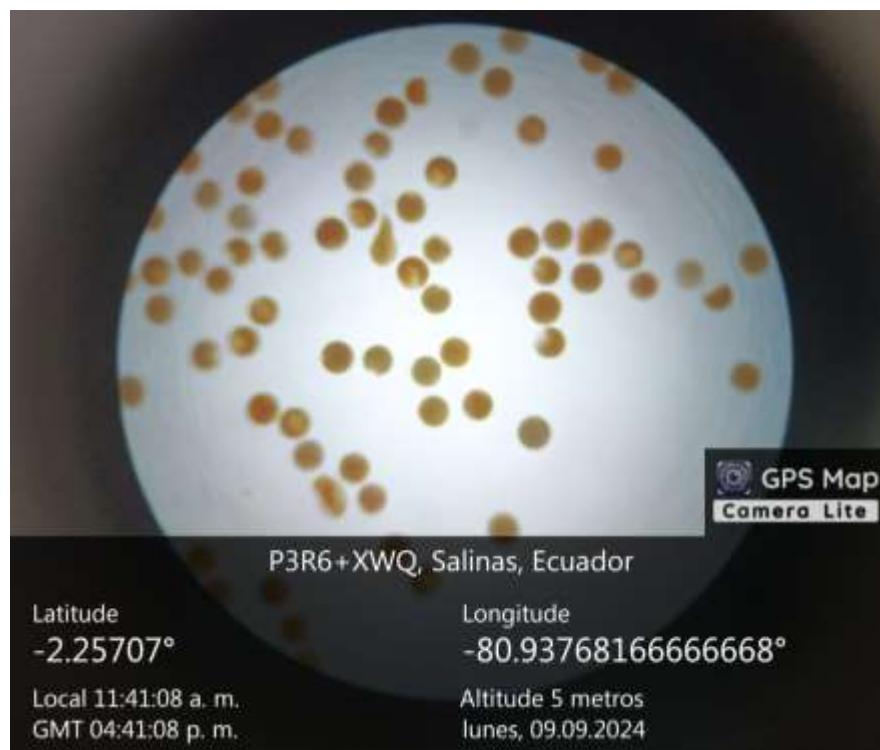
Anexo N°4: Gestión de datos en el computador de parte de la investigadora.



Anexo N°5: Prueba de TCBS en el agua utilizada para eclosión del quiste de *Artemia franciscana*.



Anexo N°6: Observación microscópica de la eclosión de quistes de *Artemia franciscana*.



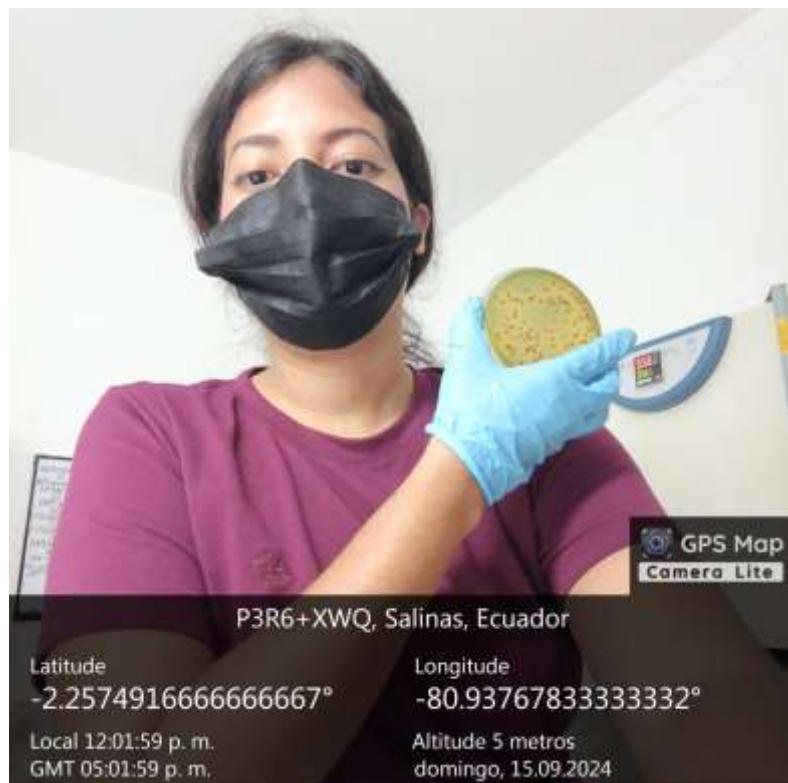
Anexo N°7: Preparación del agar TCBS.**Anexo N°8: Primeros nauplios de *Artemia Franciscana*.**

Anexo N°9: Revisión de la vitalidad de los metanauplios.**Anexo N°10: Conteo de UFC de *Vibrios spp.***

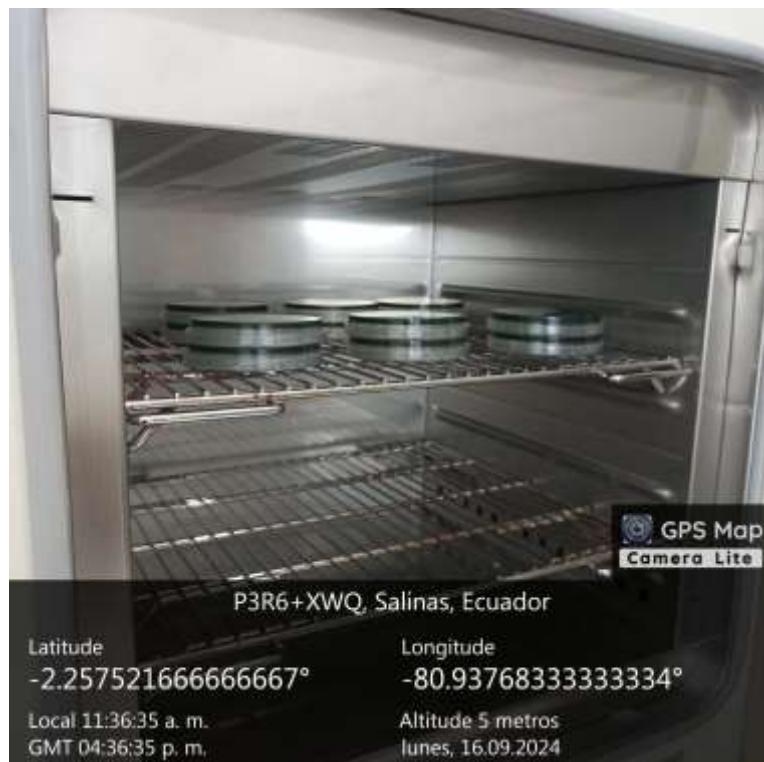
Anexo N°11: Cuantificación de las unidades formadoras de colonias por salinidad.



Anexo N°12: Investigadora revisando los resultados de los UFC de Vibrio spp.

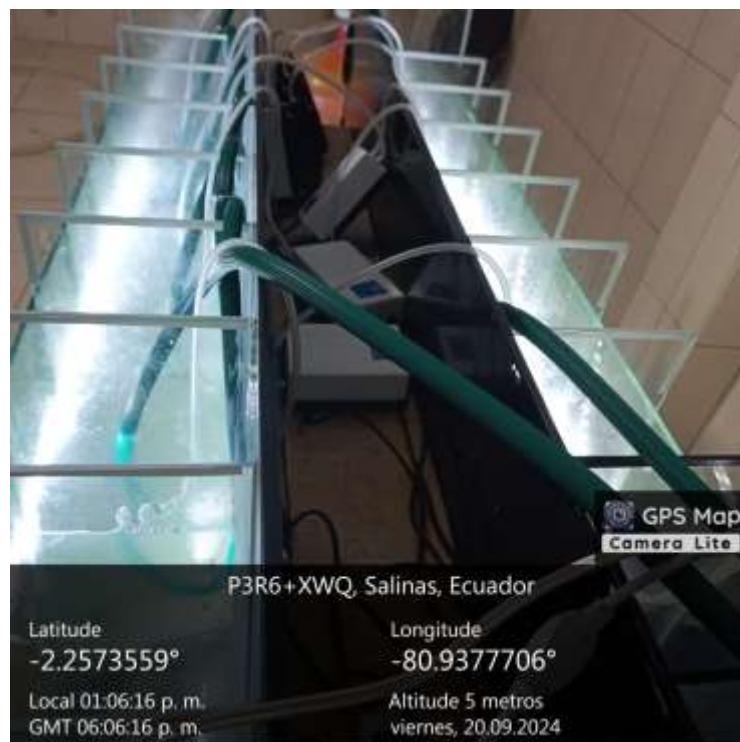
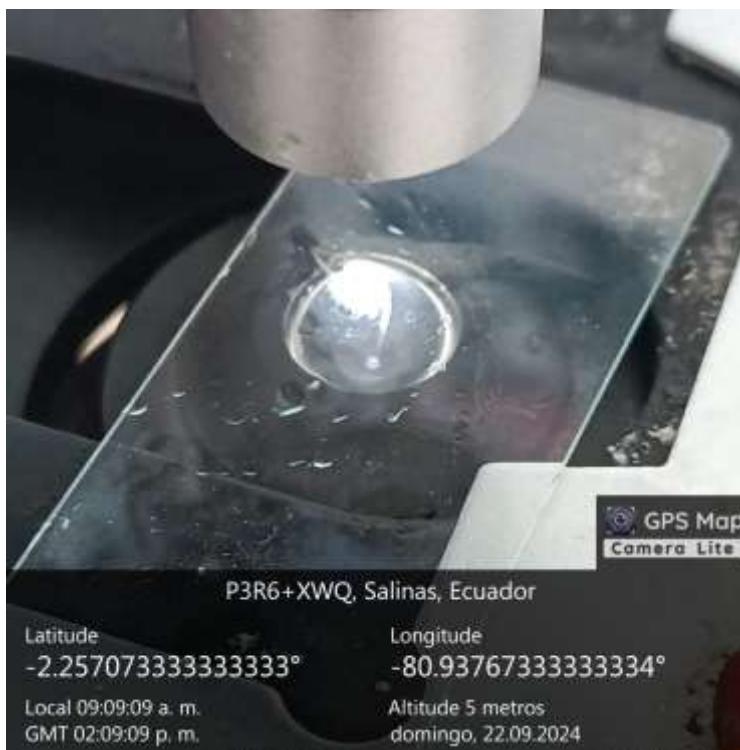


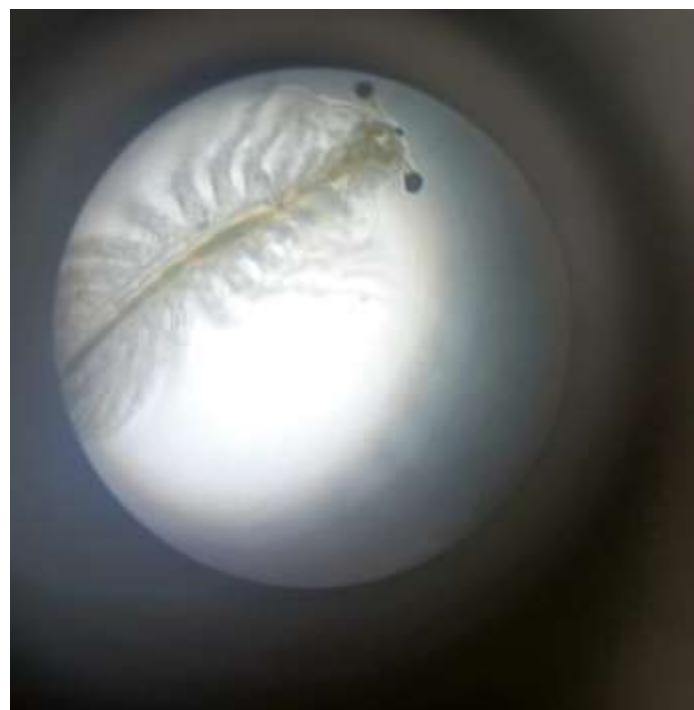
Anexo N°13: Ingreso de placas sembradas a la incubadora a 32 grados centígrados.



Anexo N°14: Ingreso de datos del conteo diario de UFC de *Vibrios spp* en Agar TCBS.



Anexo N°15: Acuarios usados para el experimento.**Anexo N°16: Revisión de la artemia en el microscopio.**

Anexo N°17: Revisión de la artemia en estado adulto.**Anexo N°18: Finalización del conteo de UFC de *Vibrio spp.***

APÉNDICES

En esta sección adjunto las tablas y gráficas resultantes complementarias a los estudios estadísticos realizados en el capítulo de RESULTADOS.

Apéndice N°1: Supuestos de Normalidad

Mediante el Contraste de Normalidad de Shapiro-Wilk, se verificó mediante la prueba si los 4 tratamientos se desvían con respecto a la distribución normal, tanto para *Vibrio spp.* Amarillo y Verde en cada repetición. La hipótesis nula indica que los datos provienen de una distribución Normal, mientras que la hipótesis alternativa implica que los datos se desvían de una distribución Normal cuando el valor “p” es menor a la significancia (0.05).

Tabla 15.

Evaluación del Contraste de Normalidad (Shapiro-Wilk) para todas las Repeticiones / Tipo de Vibrio spp. / Tratamientos.

REPETICION / TIPO VIBRIO	TRATAMIENTO	Test Shapiro-Wilk: Valor p	Supuesto Normalidad: Shapiro-Wilk
1 / AMARILLO	T1	0.008	SE RECHAZA H_0
	T2	0.033	SE RECHAZA H_0
	T3	0.01	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0
1 / VERDE	T1	< .001	SE RECHAZA H_0
	T2	0.002	SE RECHAZA H_0
	T3	0.001	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0
2 / AMARILLO	T1	0.015	SE RECHAZA H_0
	T2	0.011	SE RECHAZA H_0
	T3	0.005	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0
2 / VERDE	T1	< .001	SE RECHAZA H_0
	T2	0.002	SE RECHAZA H_0
	T3	0.001	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0
3 / AMARILLO	T1	0.011	SE RECHAZA H_0
	T2	0.025	SE RECHAZA H_0
	T3	0.005	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0
3 / VERDE	T1	0.001	SE RECHAZA H_0
	T2	< .001	SE RECHAZA H_0
	T3	< .001	SE RECHAZA H_0
	T4	< .001	SE RECHAZA H_0

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 15 se presenta todos contrastes de normalidad de cada tratamiento por cada repetición mediante la prueba de Shapiro-Wilk, donde ningún tratamiento tuvo valores “p” mayores a la significancia, por lo tanto, en todos los casos se rechaza la hipótesis nula, lo que implica que todos los tratamientos se desvían de la distribución Normal, incumpliendo con el supuesto de normalidad.

Apéndice N°2: Supuesto de Homocedasticidad

Mediante el Contraste de Igualdad de Varianzas de Levene, se verificó mediante la prueba si existían diferencias significativas entre las varianzas de los 4 tratamientos, y diferencias entre cada combinación par de tratamientos (6 pares combinados en total), tanto para *Vibrio spp.* Amarillo y Verde en cada repetición. En las siguientes tablas se evalúan las pruebas de Levene para indicar el cumplimiento del supuesto de Homocedasticidad. Se utiliza la hipótesis Nula de la prueba de Levene, la cual indica que NO existen diferencias significativas entre las varianzas del grupo o par de tratamientos, mientras que, la hipótesis alternativa implica que existen diferencias significativas entre las varianzas de los grupos y pares combinados de los 4 tratamientos cuando el valor “p” es menor al valor de significancia de 0.05.

Tabla 16.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en *Vibrio spp.* Amarillo / Repetición 1.

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	1.112	1	28	0.301
UFC Vibrios 13	0.871	1	28	0.359
UFC Vibrios 14	4.138	1	28	0.052
UFC Vibrios 23	0.065	1	28	0.801
UFC Vibrios 24	1.48	1	28	0.234
UFC Vibrios 34	2.859	1	28	0.102

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 16 se muestran los resultados de la prueba de Levene para igualdades de varianzas, donde ningún caso presenta un valor p menor a la significancia.

Tabla 17.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en Vibrio spp. Verde / Repetición 1.

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	4.843	1	28	0.036
UFC Vibrios 13	4.943	1	28	0.034
UFC Vibrios 14	5.653	1	28	0.024
UFC Vibrios 23	10.016	1	28	0.004
UFC Vibrios 24	10.402	1	28	0.003
UFC Vibrios 34	0.01	1	28	0.921

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 17 se muestran los resultados de la prueba de Levene para igualdades de varianzas, donde solamente el de contraste entre el tratamiento 3 y 4 presenta un valor p mayor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” menores a la significancia.

Tabla 18.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en Vibrio spp. Amarillo / Repetición 2.

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	0.404	1	28	0.53
UFC Vibrios 13	0.552	1	28	0.464
UFC Vibrios 14	3.353	1	28	0.078
UFC Vibrios 23	6.036x10-4	1	28	0.981
UFC Vibrios 24	1.615	1	28	0.214
UFC Vibrios 34	3.266	1	28	0.081

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 18 se puede observar que ningún caso presenta un valor p menor a la significancia.

Tabla 19.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en Vibrio spp. Verde / Repetición 2.

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	5.3	1	28	0.029
UFC Vibrios 13	3.265	1	28	0.082
UFC Vibrios 14	4.797	1	28	0.037
UFC Vibrios 23	9.45	1	28	0.005
UFC Vibrios 24	10.433	1	28	0.003
UFC Vibrios 34	0.065	1	28	0.801

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 19 se muestran los resultados de la prueba de Levene para igualdades de varianzas, donde solamente los contrastes entre el tratamiento 1-3 y 3-4 presentan un valor p mayor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” menores a la significancia.

Tabla 20.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en Vibrio spp. Amarillo / Repetición 3.

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	0.785	1	28	0.383
UFC Vibrios 13	0.063	1	28	0.803
UFC Vibrios 14	2.604	1	28	0.118
UFC Vibrios 23	0.86	1	28	0.362
UFC Vibrios 24	0.739	1	28	0.397
UFC Vibrios 34	4.042	1	28	0.054

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 20 se puede observar que ningún caso presenta un valor p menor a la significancia.

Tabla 21.

Contraste de Igualdad de Varianzas (de Levene) para cada par de tratamientos en *Vibrio spp. Verde / Repetición 3.*

	F	df ₁	df ₂	p
UFC Vibrios 12	4.213	1	28	0.05
UFC Vibrios 13	3.04	1	28	0.092
UFC Vibrios 14	3.501	1	28	0.072
UFC Vibrios 23	7.514	1	28	0.011
UFC Vibrios 24	7.784	1	28	0.009
UFC Vibrios 34	0.007	1	28	0.932

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 21 se muestran los resultados de la prueba de Levene para igualdades de varianzas, donde solamente los contrastes entre el tratamiento 1-3 y 3-4 presentan un valor p mayor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” menores a la significancia.

Tabla 22.

Contrastes de Igualdad de Varianzas (de Levene) para el conjunto de todos los tratamientos en cada repetición.

REPETICIÓN	VIBRIO spp.	F	gl1	gl2	p
1	Amarillo	1.783	3	56	0.161
1	Verde	7.581	3	56	< .001
2	Amarillo	1.404	3	56	0.251
2	Verde	7.401	3	56	< .001
3	Amarillo	1.376	3	56	0.260
3	Verde	5.801	3	56	0.002

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 22 se muestran los resultados de la prueba de Levene para igualdades de varianzas por cada repetición y grupo de tratamientos, donde los contrastes de las repeticiones 1, 2 y 3 para los *Vibrios spp. Verdes*, presentan un valor p menor a la significancia, el resto de repeticiones presentan valores “p” mayores a la significancia, aceptando la hipótesis nula.

Apéndice N°3: Supuesto de Independencia de muestras

Mediante el Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS (No se distribuyen Normalmente), como no se pueden asumir los supuestos necesarios para utilizar la prueba de la t de Student. Se verificó mediante la prueba para determinar si existe una diferencia en la variable dependiente entre dos grupos o pares combinados, y si es probable que las dos muestras NO provengan de la misma población cuando el valor “p” es menor a la significancia (0.05), tanto para *Vibrio spp.* Amarillo y Verde en cada repetición. Para la hipótesis nula de la prueba U de Mann-Whitney, se asume que las medianas de los 2 grupos o tratamientos NO tienen diferencias significativas.

Tabla 23.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – *Vibrio spp.* Amarillo / Repetición 1.

	U	p
UFC Vibrios 12	116	0.901
UFC Vibrios 13	142	0.229
UFC Vibrios 14	163	0.038
UFC Vibrios 23	139.5	0.272
UFC Vibrios 24	163	0.038
UFC Vibrios 34	129	0.507

Fuente: Elaborado mediante JASP.

En la Tabla 23 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde solamente los contrastes entre el tratamiento 1-4 y 2-4 presentan un valor p menor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Tabla 24.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – Vibrio spp. Verde / Repetición 1.

	U	p
UFC Vibrios 12	100	0.618
UFC Vibrios 13	123.5	0.663
UFC Vibrios 14	151	0.114
UFC Vibrios 23	135.5	0.350
UFC Vibrios 24	157	0.067
UFC Vibrios 34	142.5	0.220

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 24 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde todos los casos de pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Tabla 25.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – Vibrio spp. Amarillo / Repetición 2.

	U	p
UFC Vibrios 12	116	0.901
UFC Vibrios 13	144.5	0.191
UFC Vibrios 14	166	0.028
UFC Vibrios 23	141	0.245
UFC Vibrios 24	169.5	0.019
UFC Vibrios 34	125	0.618

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 25 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde solamente los contrastes entre el tratamiento 1-4 y 2-4 presentan un valor p menor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Tabla 26.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – *Vibrio spp. Verde / Repetición 2.*

	U	p
UFC Vibrios 12	93.5	0.442
UFC Vibrios 13	116	0.901
UFC Vibrios 14	135.5	0.349
UFC Vibrios 23	133	0.407
UFC Vibrios 24	151	0.114
UFC Vibrios 34	138	0.299

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 26 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde todos los casos de pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Tabla 27.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – *Vibrio spp. Amarillo / Repetición 3*

	U	p
UFC Vibrios 12	118.5	0.819
UFC Vibrios 13	139.5	0.271
UFC Vibrios 14	162	0.042
UFC Vibrios 23	139	0.281
UFC Vibrios 24	166.5	0.026
UFC Vibrios 34	128.5	0.520

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 27 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde solamente los contrastes entre el tratamiento 1-4 y 2-4 presentan un valor p menor a la significancia, el resto de los pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Tabla 28.

Contraste U de Mann-Whitney para Muestras Independientes NO PARAMÉTRICAS – *Vibrio spp. Verde / Repetición 3*

	U	p
UFC Vibrios 12	97.5	0.546
UFC Vibrios 13	118.5	0.819
UFC Vibrios 14	138	0.298
UFC Vibrios 23	136	0.340
UFC Vibrios 24	153	0.096
UFC Vibrios 34	141.5	0.236

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 28 se muestran los resultados de la prueba U de Mann-Whitney para muestras Independientes, donde todos los casos de pares combinados de tratamientos presentan valores “p” mayores a la significancia.

Apéndice N°4: Supervivencia de Artemia Franciscana

A continuación, se presenta el cálculo del % de supervivencia de la población de *Artemia franciscana* en los 4 tratamientos en cada repetición.

Tabla 29.

Supervivencia de la Artemia Franciscana por tratamiento y Repetición.

REPETICIÓN / TRATAMIENTO	INICIO	COSECHADO	PORCENTAJE
1 / T1 - 20 PPT	6000	2600	43.33
2 / T1 - 20 PPT	6000	2550	42.50
3 / T1 - 20 PPT	6000	2600	43.33
1 / T2 - 33 PPT	6000	4050	67.50
2 / T2 - 33 PPT	6000	3900	65.00
3 / T2 - 33 PPT	6000	4050	67.50
1 / T3 - 50 PPT	6000	4200	70.00
2 / T3 - 50 PPT	6000	4200	70.00
3 / T3 - 50 PPT	6000	4150	69.17
1 / T4 - 80 PPT	6000	5100	85.00
2 / T4 - 80 PPT	6000	5250	87.50
3 / T4 - 80 PPT	6000	4950	82.50

Fuente: Vera Arauz, 2024.

En la Tabla 29 se muestra la supervivencia final del periodo de estudio realizado en 15 días con una población inicial de 6000 *Artemias Franciscanas* y terminando con una población final cosechada dependiente del tratamiento y la concentración de UFC de *Vibrio spp. Amarillo y Verde* conjuntamente.