

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE POSGRADO

INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE SUPLEMENTOS
PROTEICOS PARA LARVAS DE CAMARÓN MEDIANTE LA FERMENTACIÓN
MICROBIANA CON *Bacillus subtilis*.

Autor:

JOSUÉ ORLANDO YAGUAL TOMALÁ

Director:

PhD. DIEGO GEOVANNY BARZALLO GRANIZO

Milagro, 2024

Derechos de Autor

**Sr. Dr.
Fabricio Guevara Viejó**
Rector de la Universidad Estatal de MilagroPresente.

Yo, **Josué Orlando yagual Tomalá** en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de Magisteren Biotecnología, como aporte a la Línea de Investigación **Alimentación y Nutrición** de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatalde Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercialde la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Informe de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 23 de junio 2024



Josue Orlando Yagual Tomalá
0925459729

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Yo, **Diego Geovanny Barzallo Granizo** en mi calidad de director del trabajo de titulación, elaborado por **Josue Orlando yagual Tomalá**, cuyo tema es **Análisis bibliométrico sobre la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón mediante la fermentación microbiana con *Bacillus subtilis***, que aporta a la Línea de Investigación **Alimentación y Nutrición**, previo a la obtención del Grado Magister en biotecnología, Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 23 de junio 2024



DIEGO GEOVANNY
BARZALLO GRANIZO

Diego Geovanny Barzallo Granizo

0603923095

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE POSGRADO

CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BIOL. YAGUAL TOMALA JOSUÉ ORLANDO**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE SUPLEMENTOS PROTEICOS PARA LARVAS DE CAMARÓN MEDIANTE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA CON BACILLUS SUBTILIS.", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	57.67
SUSTENTACIÓN	36.67
PROMEDIO	94.33
EQUIVALENTE Muy Bueno	



JOSE FRANCISCO
FALCONI NOVILLO

Mgtr. FALCONI NOVILLO JOSE FRANCISCO

PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



YESSENIA BEATRIZ
SARANGO ORTEGA

Msc SARANGO ORTEGA YESSENIA BEATRIZ

VOCAL



GUSTAVO ELIAS
MARTINEZ VALENZUELA

MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS

SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi familia, cuyo amor incondicional y apoyo constante han sido mi principal fuente de motivación. A mi padre, por su sacrificio y enseñanzas, y por haberme inculcado la importancia de la educación y la perseverancia. A mis hermanos, por estar siempre a mi lado y brindarme su apoyo en cada etapa de mi vida académica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo y la colaboración de muchas personas a quienes me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento.

En primer lugar, a mi familia, por su amor incondicional y apoyo constante a lo largo de mi vida académica. A mis padres, por sus sacrificios y por enseñarme el valor del esfuerzo y la dedicación. A mis hermanos, por ser mi soporte emocional y por estar siempre a mi lado.

A mi tutor, cuya guía experta y consejos invaluable han sido fundamentales para la realización de esta tesis. Gracias por su paciencia, por compartir su vasto conocimiento y por motivarme a alcanzar la excelencia.

A mis amigos, por su compañía, su apoyo y por hacer que este proceso fuera más llevadero y agradable. Gracias por los momentos de risas y por estar siempre dispuestos a escuchar.

A mis profesores y compañeros, por las experiencias compartidas y por contribuir a mi crecimiento personal y profesional.

A todas las personas que, de una manera u otra, han influido positivamente en mi vida académica y personal, les agradezco profundamente por su contribución y apoyo.

Finalmente, agradezco a Dios por darme la fuerza y la perseverancia necesarias para completar este proyecto.

RESUMEN

La producción de suplementos proteicos para larvas de camarón es un área de investigación crucial en la acuicultura, tal como lo refleja la creciente literatura sobre el tema. Este estudio se centra en el análisis bibliométrico de la fermentación de *Bacillus subtilis* como método para producir suplementos proteicos, destacando su relevancia y evolución en la literatura científica.

El objetivo principal es examinar el desarrollo y la tendencia de la investigación sobre el uso de *Bacillus subtilis* en la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón. Se utilizarán bases de datos académicas y herramientas bibliométricas para analizar las publicaciones relevantes, identificando patrones de colaboración, fuentes de financiamiento, y áreas geográficas de mayor producción científica.

Se evaluarán indicadores bibliométricos clave, como el número de publicaciones, citas recibidas, y el índice H de los autores más influyentes en este campo. Adicionalmente, se realizará un análisis de contenido de las publicaciones seleccionadas para determinar la eficacia de los suplementos proteicos fermentados con *Bacillus subtilis* en comparación con otros métodos. Se prestará especial atención a los estudios que reportan la cuantificación de proteínas totales, perfiles de aminoácidos, contenido de péptidos bioactivos y actividad enzimática.

Los resultados de este análisis bibliométrico proporcionarán una visión integral de la

viabilidad y eficacia de la fermentación de *Bacillus subtilis* para producir suplementos proteicos en acuicultura. Asimismo, se espera que este estudio identifique vacíos en la literatura y áreas emergentes de investigación, ofreciendo una base sólida para futuras investigaciones en la mejora de la alimentación y el rendimiento de las larvas de camarón.

Palabras claves: *Bacillus subtilis*, fermentación, suplemento proteico, larvas de camarón, análisis bibliométrico.

ABSTRACT

The production of protein supplements for shrimp larvae is a crucial research area in aquaculture, as reflected by the growing body of literature on the subject. This study focuses on the bibliometric analysis of *Bacillus subtilis* fermentation as a method to produce protein supplements, highlighting its relevance and evolution in the scientific literature. The main objective is to examine the development and trend of research on the use of *Bacillus subtilis* in the production of protein supplements for shrimp larvae. Academic databases and bibliometric tools will be used to analyze relevant publications, identifying collaboration patterns, sources of funding, and geographical areas with the highest scientific output. Key bibliometric indicators, such as the number of publications, citations received, and the H-index of the most influential authors in this field, will be evaluated. Additionally, a content analysis of the selected publications will be conducted to determine the efficacy of protein supplements fermented with *Bacillus subtilis* compared to other methods. Special attention will be given to studies reporting the quantification of total proteins, amino acid profiles, bioactive peptide content, and enzymatic activity. The results of this bibliometric analysis will provide a comprehensive view of the feasibility and efficacy of *Bacillus subtilis* fermentation for producing protein supplements in aquaculture. Furthermore, this study aims to identify gaps in the literature and emerging research areas, offering a solid foundation for future investigations in improving the nutrition and performance of shrimp larvae.

Keywords: *Bacillus subtilis*, fermentation, protein supplement, shrimp larvae, bibliometric analysis.

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 Clasificación de los diferentes tipos de fermentación bacteriana	20
TABLA 2 Principales Metabolitos producidos por las Bacterias Probióticas	24
TABLA 3 Resume las principales características y funciones de los antibióticos comunes y específicos producidos por <i>Bacillus subtilis</i>	27
TABLA 4 Principales tipos de fermentación, los productos generados y sus aplicaciones principales	32
TABLA 5 Técnicas clave utilizadas en procesos de fermentación	33
TABLA 6 Aspectos relevantes a considerar sobre la dosificación de Proteína en el proceso de producción de larvas de camarón	48
TABLA 7 Diferencia entre los insumos usados, el costo invertido y las concentraciones esperadas.....	49
TABLA 8 Aspectos clave relacionados con el uso de <i>Bacillus subtilis</i> en la producción de post bióticos y su impacto en el mercado y el medio ambiente	50
TABLA 9 Características de la Población de estudio.....	52
TABLA 10 Descripción de la población y revisión bibliométrica sobre el uso de <i>Bacillus subtilis</i>	53
TABLA 11 Aspectos esenciales que se deben considerar para la delimitar la población	54
TABLA 12 Criterios de inclusión y exclusión utilizados para seleccionar las publicaciones científicas en la revisión bibliométrica	55

LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO 1 Relación entre artículos científicos mediante frecuencia de palabras claves. (2016-2024).....	59
GRAFICO 2 Comparación de los diferentes sustratos usados para la fermentación de <i>Bacillus subtilis</i> en las diferentes investigaciones durante los periodos 2006 – 2014	60
GRAFICO 3 Autores y colaboraciones temporales de sus artículos durante el periodo 2021 – 2022.....	61
GRAFICO 4 Número de documentos publicados por año relacionados sobre <i>Bacillus subtilis</i> en la acuicultura (Scopus 2024)	62
GRAFICO 5 Número de documentos publicados por los autores más prolíficos en el campo de estudio sobre <i>Bacillus subtilis</i> en la acuicultura (Scopus 2024)	63
GRAFICO 6 Cantidad de documentos publicados por diferentes afiliaciones en áreas de estudio sobre <i>Bacillus subtilis</i> en la acuicultura (Scopus 2024).....	64
GRAFICO 7 Cantidad de documentos publicados por los principales países o territorios en investigaciones sobre <i>Bacillus subtilis</i> (Scopus 2024).....	65
GRAFICO 8 Convergencia porcentual de las diferentes áreas de estudio en relación a la fermentación con <i>Bacillus subtilis</i>	66
GRAFICO 9 Distribución de publicaciones sobre <i>Bacillus subtilis</i> en función de las fuentes de financiación	67
GRAFICO 10 Mapa de palabras clave sobre las interacciones entre bacterias y otros microorganismos (Vosviewer 2024).....	68

TABLA DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	ix
LISTA DE GRÁFICOS	x
TABLA DE CONTENIDO	xi
Introducción.....	1
Capítulo I: EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.2. Delimitación del problema	5
1.3. Formulación del problema.....	6
1.4. Preguntas de investigación	6
1.5. Determinación del tema	7
1.8. Hipótesis	8
1.8.1. Hipótesis Nula.....	8
1.8.2. Hipótesis Alternativa	9
1.9. Declaración de las variables (operacionalización).....	9
1.9.1. Variable Independiente	9
1.9.2. Variable Dependiente	9

1.9.3.	Variables Controladas:.....	9
1.10.	Justificación.....	10
1.11.	Alcance y limitaciones	11
CAPÍTULO II: Marco teórico referencial		12
2.1.	Antecedentes.....	12
2.2.	Contenido Teórico.....	12
2.2.1.	Historia y Evolución de la Acuicultura en Ecuador.....	12
	Décadas de 1960 y 1970: Inicios y Primeros Desarrollos.....	12
2.2.2.	Década de 1980: Expansión y Profesionalización.....	12
2.2.3.	Década de 1990: Industrialización y Desafíos Sanitarios	13
2.2.4.	Nuevo Milenio: Adaptación y Resiliencia	13
2.2.5.	Desarrollo de suplementos Nutricionales en la Acuicultura .	14
2.2.6.	Evaluación del Uso de Premezclas Vitamínicas en la Dieta de Camarones <i>Penaeus vannamei</i>	15
2.2.7.	Niveles de Proteína en dietas de Camarón	17
2.2.8.	Fermentación Microbiana en la producción de suplementos	18
2.2.9.	Fermentación en estado sólido para la generación de Metabolitos	18
2.2.10.	Producción de vitamina B.....	19
2.2.11.	Fermentaciones Bacterianas.....	20
2.2.12.	Estudios Previos del uso de Probióticos en Acuicultura ...	21
2.2.13.	<i>Bacillus subtilis</i> en Acuicultura de Camarón.....	24
2.2.14.	Biología y Características de <i>Bacillus subtilis</i>	25

2.2.15. Genética y Producción de Antibióticos	26
2.2.16. Formación de Biopelículas y Motilidad	28
2.2.17. Fermentación microbiana: procesos y técnicas	30
2.2.18. Nutrición de Larvas de Camarón	34
2.2.19. Proteínas y Aminoácidos	34
2.2.20. Requerimientos de Proteínas	34
2.2.21. Requerimientos de Aminoácidos Esenciales.....	35
2.2.22. Diferencias en Utilización de Aminoácidos	35
2.2.23. Requerimientos Cuantificados en Postlarvas y Juveniles .	35
2.2.24. Importancia de Aminoácidos Libres.....	36
2.2.25. Carbohidratos.....	36
2.2.26. Lípidos.....	37
2.2.27. Vitaminas y Minerales	39
2.2.28. Utilización del Alimento Vivo y las Dietas Artificiales en la Fase Larval.....	42
2.2.29. Impacto de los suplementos proteicos en el crecimiento y salud de las larvas de camarón	43
2.2.30. Fuentes de Suplementos Proteicos	44
Harina de Pescado	44
Soya y Productos Derivados	44
Suplementos de Algas y Microorganismos.....	45
2.2.31. Efectos de los Suplementos Proteicos	45
Mejor Crecimiento y Conversión Alimenticia	45

2.2.32. Resistencia a estrés Térmico	46
2.2.33. Evaluación Económica y Ambiental.....	48
Aspectos Económicos	48
2.2.34. Aplicaciones en la Producción de Larvas de Camarón.....	49
CAPÍTULO III: Diseño Metodológico.....	51
3.1. Tipo y Diseño de Investigación.....	51
3.1.1. Tipo de Investigación	51
3.1.2. Diseño de Investigación	51
3.2.1. Población	52
3.2.2. Delimitación de la Población.....	54
3.2.3. Tipo de Muestra.....	54
3.2.3.1. Tamaño de la Muestra	56
3.2.3.2. Criterios de Inclusión.....	56
3.2.3.3. Criterios de Exclusión.....	56
3.3. Métodos y Técnicas	57
3.4. Procesamiento Estadístico de la Información	57
4.1. Análisis de Resultados.....	59
5.1. CONCLUSIONES.....	70
5.2. RECOMENDACIONES.....	72
Bibliografía.....	75

Introducción

Actualmente, la acuicultura representa una de las principales fuentes de ingreso del país y exhibe uno de los mayores índices de crecimiento. En 2023, las exportaciones alcanzaron un total de 6,289 millones de dólares (Cámara Nacional de Acuicultura, 2024). Esto subraya la importancia de optimizar procesos en esta industria, buscando alternativas viables para reducir costos de producción y aumentar la rentabilidad. En este contexto, los procesos de fermentación utilizando bacterias y fuentes de carbono han emergido como alternativas efectivas para la producción de larvas de camarón, mejorando el crecimiento y el sistema inmune de estos organismos al proporcionar compuestos proteicos esenciales (Ramírez, 2023).

La biomasa bacteriana generada puede actuar como probiótico en el estanque o en el microbioma intestinal de los organismos, desplazando patógenos como *Vibrio* sp. en condiciones de producción intensiva (Borbor, 2022). La tecnología simbiótica, regulada por bacterias beneficiosas de los géneros *Bacillus* y *Lactobacillus*, es estimulada por fuentes de carbono y desempeña un papel crucial en la transformación y asimilación de compuestos nitrogenados (Morales, 2006; Borbor, 2022).

En la industria acuícola, la melaza se utiliza comúnmente como fuente de nitrógeno y fósforo en la fermentación simbiótica, debido a su alto contenido de azúcares. Sin embargo, puede también estimular la proliferación de microalgas tóxicas y bacterias que afectan la calidad del agua. El polvillo o salvado de arroz ha surgido como una

alternativa, ofreciendo características similares y mejorando la digestibilidad para los organismos en cultivo al descomponerse en azúcares más simples durante la fermentación (Borbor, 2022).

Shouyong (2019) logró con éxito la producción de Nattokinasa, una proteína extracelular fibrinolítica, mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*, optimizando las condiciones fisicoquímicas del proceso. Este trabajo propone que la fermentación con *Bacillus subtilis* puede producir postbióticos que incrementen el porcentaje de proteína en el alimento balanceado usado en acuicultura.

A pesar de los beneficios conocidos de los probióticos, estudios recientes indican que no es necesario aplicar bacterias directamente en los cultivos para lograr efectos positivos. Los postbióticos, compuestos solubles resultantes de la actividad metabólica de probióticos, se presentan como una alternativa viable (Domínguez et al., s.f.). La información sobre el uso de estos metabolitos en acuicultura es limitada, por lo que este trabajo evaluará los usos nutracéuticos de los postbióticos para mejorar la salud y el crecimiento de larvas de camarón y otros organismos potencialmente cultivables.

Para profundizar en el estudio del uso de bacterias y postbióticos en la acuicultura, se realizó un análisis bibliométrico de la literatura científica relevante. Este análisis se centró en la identificación de tendencias de investigación, principales autores y países contribuyentes, y las áreas temáticas emergentes en la aplicación de fermentación simbiótica y postbióticos en acuicultura. Se utilizaron bases de datos como Web of

Science y Scopus para recopilar publicaciones científicas sobre el tema. Se emplearon términos de búsqueda específicos como "fermentación simbiótica en acuicultura", "*Bacillus subtilis* en acuicultura", "postbióticos en acuicultura", y "producción de larvas de camarón". La información recopilada se analizó utilizando herramientas bibliométricas, como VOSviewer y Bibliometrix, para visualizar redes de coautoría, cocitación y palabras clave.

El análisis bibliométrico reveló un aumento significativo en la cantidad de publicaciones sobre fermentación simbiótica y el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura en la última década. Los países con mayor número de contribuciones fueron China, Estados Unidos y Brasil, reflejando su liderazgo en investigación acuícola. Los principales autores en este campo incluyen a investigadores como Zhang, Wang y Li, quienes han realizado estudios extensivos sobre la optimización de procesos de fermentación y la aplicación de postbióticos. Las áreas temáticas emergentes identificadas incluyen la mejora del crecimiento y la salud de los organismos acuáticos mediante el uso de bacterias benéficas y la producción de compuestos bioactivos. Además, se observó un interés creciente en la sustitución de fuentes tradicionales de carbono, como la melaza, por alternativas más sostenibles y eficientes, como el salvado de arroz. El enfoque bibliométrico proporciona una visión comprensiva del estado actual y las tendencias futuras en la investigación sobre fermentación simbiótica y postbióticos en acuicultura. Estos hallazgos respaldan la relevancia del presente estudio, destacando la necesidad de continuar explorando alternativas viables para mejorar la rentabilidad y sostenibilidad de la acuicultura mediante el uso de bacterias benéficas y postbióticos.

Capítulo I: EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

La acuicultura desempeña un papel fundamental en la seguridad alimentaria y el desarrollo económico de Ecuador. Sin embargo, persisten desafíos significativos en la implementación de prácticas sostenibles y eficientes en la producción acuícola. Existe una carencia de información y conciencia entre los actores de la industria acuícola sobre la necesidad de adoptar Buenas Prácticas de Acuicultura (BAP) para asegurar la viabilidad a largo plazo del sector.

Uno de los principales obstáculos radica en la alimentación de las larvas de camarón, donde se requiere una dieta específica rica en proteínas para un desarrollo óptimo. Sin embargo, la disponibilidad y el costo de los alimentos balanceados representan desafíos significativos para los productores. Esto plantea la necesidad urgente de explorar alternativas innovadoras y rentables para mejorar la calidad de la alimentación de las larvas de camarón y promover un crecimiento saludable durante esta etapa crítica de su ciclo de vida. La introducción de probióticos y postbióticos en la alimentación de los camarones emerge como una posible solución. Estos compuestos, aunque no son antibióticos, pueden desempeñar una función antagónica frente a bacterias patógenas, promoviendo un ambiente intestinal saludable y mejorando la eficiencia en la utilización de nutrientes por parte de los organismos acuícolas. Estudios previos han demostrado resultados prometedores en términos de crecimiento, conversión alimenticia y respuesta

inmune de los camarones alimentados con postbióticos (De la Cuadra D., 2022).

Sin embargo, a pesar de los avances en la investigación sobre el uso de postbióticos en la acuicultura, existe una falta de análisis exhaustivos y sistematizados sobre el tema en el contexto ecuatoriano. Se carece de una evaluación bibliométrica que identifique y analice la literatura científica existente, sus tendencias, áreas de investigación clave y posibles lagunas de conocimiento. Esta brecha de información dificulta la formulación de políticas y estrategias efectivas para la implementación de prácticas sostenibles en la acuicultura ecuatoriana.

Por lo tanto, el presente estudio se propone realizar un análisis bibliométrico exhaustivo del uso de postbióticos en la alimentación de camarones, con un enfoque específico en el contexto ecuatoriano. El objetivo es identificar y evaluar la cantidad, calidad y tendencias de la investigación existente, así como identificar posibles áreas de investigación futura. Este análisis proporcionará información valiosa para los tomadores de decisiones, investigadores y actores de la industria acuícola en Ecuador, facilitando la adopción de prácticas más sostenibles y eficientes en la producción acuícola.

1.2. Delimitación del problema

La investigación en el ámbito de la cría de larvas de camarón en la acuicultura se enfrenta a un desafío central: garantizar una alimentación adecuada que promueva un desarrollo óptimo de las larvas. Este aspecto es fundamental, dado que una dieta específica, rica en proteínas, es esencial para su crecimiento saludable. Sin embargo, la disponibilidad y el coste de los alimentos balanceados son aspectos que plantean

dificultades significativas para los productores de camarón. En este sentido, resulta imperativo explorar nuevas alternativas que, además de ser innovadoras, sean económicamente viables. El objetivo es mejorar la calidad de la alimentación de las larvas de camarón, fomentando así un crecimiento saludable en esta etapa crítica de su ciclo de vida. Este análisis bibliométrico abordará las investigaciones y avances previos en este campo, proporcionando una visión integral de las estrategias y enfoques utilizados para abordar este importante problema en la acuicultura.

1.3. Formulación del problema

La cría de larvas de camarón en la acuicultura plantea desafíos importantes, especialmente en lo que respecta a su alimentación. Las larvas requieren una dieta específica rica en proteínas para un desarrollo adecuado, lo que puede resultar costoso y difícil de obtener de manera sostenible. Esta problemática ha impulsado la investigación hacia alternativas innovadoras y rentables para mejorar la calidad de la alimentación de las larvas de camarón. El análisis bibliométrico de este campo revela un creciente interés en la búsqueda de soluciones que aborden tanto la eficiencia económica como la sostenibilidad ambiental en la producción de alimentos para larvas de camarón en la acuicultura.

1.4. Preguntas de investigación

Con el objetivo de llevar a cabo una revisión bibliométrica exhaustiva sobre la producción de proteínas para larvas de camarón mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*, se formulan las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Cuál es el alcance y la frecuencia de los estudios que abordan el impacto de la fermentación de *Bacillus subtilis* en la producción de proteínas para larvas de camarón?
2. ¿Cuáles son las tendencias y patrones identificados en la literatura respecto a la variación en la producción de proteínas cuando se utilizan diferentes sustratos en la fermentación con *Bacillus subtilis*?
3. ¿Qué evidencia bibliográfica existe acerca de la eficacia del suplemento proteico obtenido mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* en la promoción del crecimiento y desarrollo de las larvas de camarón?

Las interrogantes guiarán la búsqueda sistemática de información en bases de datos especializadas, permitiendo identificar y analizar la producción académica relacionada con este tema específico. El análisis bibliométrico resultante proporcionará una visión detallada de la evolución, los enfoques y las áreas de interés predominantes en la investigación sobre la fermentación de *Bacillus subtilis* para la producción de proteínas destinadas a larvas de camarón.

1.5. Determinación del tema

El enfoque de esta revisión bibliométrica se dirige hacia la exploración de la producción de un suplemento proteico innovador destinado a larvas de camarón, obtenido a través del proceso de fermentación con *Bacillus subtilis*. Este tema se posiciona en el contexto de la acuicultura, buscando identificar su potencial aplicación como una alternativa sostenible y económicamente viable para mejorar la alimentación de las larvas de camarón.

1.6. Objetivo general:

Realizar una revisión bibliométrica exhaustiva sobre el uso de *Bacillus subtilis* en la fermentación para la producción de suplementos proteicos destinados a mejorar la alimentación de larvas de camarón en la acuicultura.

1.7. Objetivos específicos:

1. Identificar y analizar la frecuencia y la distribución temporal de publicaciones científicas relacionadas con la producción de suplementos proteicos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*.

2. Evaluar la diversidad de sustratos utilizados en la fermentación de *Bacillus subtilis* para la producción de suplementos proteicos, analizando su impacto en la cantidad y calidad de las proteínas producidas.

3. Investigar la evidencia disponible sobre la eficacia del uso de suplementos proteicos producidos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* en el crecimiento y desarrollo de larvas de camarón en entornos acuícolas, destacando los principales hallazgos y tendencias en la literatura científica.

1.8. Hipótesis

1.8.1. Hipótesis Nula

No existe una tendencia creciente en la producción bibliográfica que destaca la eficacia del suplemento proteico obtenido mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* en la promoción del crecimiento y desarrollo de las larvas de camarón, independientemente del tipo de sustrato utilizado en el proceso de fermentación.

1.8.2. Hipótesis Alternativa

Existe una tendencia creciente en la producción bibliográfica que destaca la eficacia del suplemento proteico obtenido mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* en la promoción del crecimiento y desarrollo de las larvas de camarón, independientemente del tipo de sustrato utilizado en el proceso de fermentación.

1.9. Declaración de las variables (operacionalización)

En el contexto de este estudio bibliométrico, se define las variables de la siguiente manera:

1.9.1. Variable Independiente:

Tipología de sustrato empleado en la fermentación con *Bacillus subtilis*.

1.9.2. Variable Dependiente:

Cantidad de producción de proteínas.

1.9.3. Variables Controladas:

Temperatura de fermentación.

pH del medio de cultivo.

Tiempo de fermentación.

Concentración inicial de microorganismos.

Otros factores relevantes identificados en la literatura científica.

Se establece las categorías y parámetros que se analizarán en la búsqueda y revisión

de la literatura científica pertinente, permitiendo así una evaluación sistemática y comparativa de los estudios incluidos en el análisis bibliométrico.

1.10. Justificación

El análisis bibliométrico sobre la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* se presenta como una investigación crucial en el contexto de la acuicultura. La relevancia de este estudio radica en su contribución al avance de alternativas sostenibles y rentables para la alimentación de larvas de camarón, con implicaciones significativas en la seguridad alimentaria, la conservación de recursos naturales y el desarrollo económico de comunidades costeras.

La creciente importancia económica y ambiental de la acuicultura resalta la necesidad de explorar innovaciones en la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón. La búsqueda de métodos eficientes y respetuosos con el medio ambiente para satisfacer las demandas nutricionales de estas especies en etapas tempranas de desarrollo se ha convertido en un objetivo prioritario para la comunidad científica y la industria acuícola.

Por tanto, el análisis bibliométrico propuesto permitirá identificar y evaluar el panorama actual de la investigación en este campo, analizando tendencias, áreas de enfoque y la evolución temporal de la producción científica relacionada. Esto no solo proporcionará una visión integral de los avances y desafíos en la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón, sino que también orientará futuras investigaciones y acciones dirigidas hacia el desarrollo sostenible de la acuicultura.

1.11. Alcance y limitaciones

El alcance de este análisis bibliométrico se centra en la investigación relacionada con la producción de suplementos proteicos utilizando la fermentación de *Bacillus subtilis* en el contexto de la acuicultura de camarón. Se incluyen estudios que aborden aspectos como la optimización de procesos de fermentación, la composición proteica de los suplementos obtenidos, su impacto en el crecimiento y desarrollo de las larvas de camarón, así como las metodologías de evaluación utilizadas. Sin embargo, es importante tener en cuenta algunas limitaciones. Este estudio se basa en la recopilación y análisis de la literatura científica disponible, lo que puede conllevar limitaciones inherentes a la calidad y disponibilidad de los datos. Además, la generalización de los hallazgos podría estar condicionada por la variabilidad en los métodos y enfoques utilizados en los diferentes estudios incluidos en el análisis bibliométrico.

CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

2.1. Antecedentes

2.2. Contenido Teórico

2.2.1. Historia y Evolución de la Acuicultura en Ecuador

Décadas de 1960 y 1970: Inicios y Primeros Desarrollos

En los años 60 y 70, la acuicultura en Ecuador comenzó con investigaciones y experimentos en el cultivo de camarón. Figuras clave como el Dr. Cornelius Mock, Dr. S.W. Ling y Dr. Takuji Fujimura lograron avances significativos en la tecnología de criadero, promoviendo la reproducción de camarones en cautiverio. Estos logros inspiraron a países como Hawái, Malasia y Florida, y no pasaron desapercibidos en Ecuador, que empezaba a cambiar su matriz productiva de capturas silvestres a cultivos. En los 70, Ecuador exportaba 20 millones de libras de camarón al año, mayormente capturados en el océano. Las granjas camaroneras, aunque pocas, contribuían con 1,300 a 2,700 toneladas métricas anuales, ubicadas principalmente en Guayas y El Oro. Las prácticas de cultivo eran básicas, utilizando embalses de agua que aprovechaban las mareas altas para introducir semillas de camarón (Cagua, M. 2021).

2.2.2. Década de 1980: Expansión y Profesionalización

Los años 80 marcaron una expansión notable de la industria camaronera, impulsada por inversiones extranjeras y la introducción de tecnologías avanzadas. Instituciones locales como ESPOL y la Universidad de Guayaquil comenzaron a formar profesionales en

acuicultura, lo que mejoró significativamente la capacidad tecnológica del sector. El gobierno apoyó el crecimiento de la industria al permitir el uso de salares intermareales para la creación de granjas camaroneras. Esta década también vio el desarrollo de suplementos nutricionales y prácticas mejoradas de cultivo, desde métodos extensivos hasta semiintensivos. Sin embargo, el manejo de enfermedades no era avanzado, y aunque algunos virus fueron identificados, su impacto económico era limitado (Cagua, M. 2021).

2.2.3. Década de 1990: Industrialización y Desafíos Sanitarios

En los 90, la industria camaronera experimentó una expansión considerable, con un aumento en la producción y las exportaciones. La creación de CENAIM en 1990 fue un hito, proporcionando investigación y desarrollo cruciales. Sin embargo, la industria enfrentó brotes de enfermedades como el Síndrome de Taura (TS) y el Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), que causaron pérdidas significativas. Las estrategias para mitigar estas enfermedades incluyeron la mejora de bioseguridad y la implementación de programas de mejoramiento genético. A pesar de los desafíos, la demanda de camarón ecuatoriano aumentó, especialmente durante las crisis sanitarias en Asia (Cagua, M. 2021).

2.2.4. Nuevo Milenio: Adaptación y Resiliencia

El nuevo milenio trajo nuevos retos, con la confirmación del WSSV y cambios económicos importantes. A pesar de esto, la industria camaronera mostró resiliencia, implementando medidas de bioseguridad y avanzando en la domesticación y mejora

genética del camarón. La investigación continua, liderada por CENAIM, permitió mejorar la salud y la resistencia de los camarones. El uso de estimulantes inmunológicos y probióticos reemplazó gradualmente los antibióticos, y la gestión mejorada de estanques contribuyó a la recuperación de la producción. Sin embargo, la industria sigue enfrentando fluctuaciones de precios y la necesidad de una planificación más proactiva para asegurar su sostenibilidad a largo plazo (Cagua, M. 2021).

2.2.5. Desarrollo de suplementos Nutricionales en la Acuicultura

La proteína es un nutriente esencial para el crecimiento de los camarones, aunque es uno de los componentes más costosos en los alimentos balanceados (Quichimbo Quezada, J. D. 2022). Aunque los camarones pueden utilizar la proteína como fuente de energía, esto no es eficiente económicamente ni adecuado ambientalmente. Por ello, el contenido de proteína en el alimento debe ser mínimo para evitar su uso como energía, reducir la cantidad de nitrógeno liberada al agua en forma de amonio, y disminuir el costo del alimento (Quichimbo Quezada, J. D. 2022). El fósforo en los camarones está principalmente asociado al calcio en el exoesqueleto y es un componente de fosfolípidos y compuestos de alto contenido energético, como el ATP y ácidos nucleicos. Aunque los camarones pueden asimilar minerales del agua, las concentraciones de fósforo son generalmente bajas, por lo que es un componente clave de los alimentos (Velasco, M. et al., 2024).

La acuicultura inicialmente se consideró una actividad no contaminante, pero con su expansión, surgió preocupación sobre su impacto ambiental y la sustentabilidad a largo plazo, especialmente en relación con las descargas de efluentes. Las agencias

gubernamentales han establecido regulaciones sobre la calidad del agua y las limitaciones de descarga. El nitrógeno y el fósforo en los efluentes de acuicultura son importantes agentes contaminantes, siendo el nitrógeno un nutriente limitante en los ecosistemas marinos. Dado que los alimentos son la principal fuente de estos elementos en los efluentes, es necesario investigar para optimizar los niveles de proteína y fósforo en la dieta para mejorar la supervivencia y crecimiento de los camarones y minimizar la descarga de estos contaminantes (Velasco, M. et al., 2024).

En un estudio realizado por Velasco, M, et al., 2024 se analizó cómo diferentes niveles de proteína y fósforo en la dieta de camarones afectan la calidad del agua. Se encontró que altos niveles de proteína pueden aumentar la acumulación de nitrógeno disuelto, mientras que altos niveles de fósforo pueden aumentar la acumulación de fósforo reactivo en el agua. Sin embargo, se observó que niveles moderados de ambos nutrientes en la dieta (18% de proteína y 0.4% de fósforo) permitieron un buen crecimiento y supervivencia de los camarones con mínimos efectos negativos en la calidad del agua.

2.2.6. Evaluación del Uso de Premezclas Vitamínicas en la Dieta de Camarones

Penaeus vannamei

Las vitaminas son esenciales para el mantenimiento, crecimiento y reproducción de los animales, aunque se sabe poco sobre sus requerimientos específicos en camarones en comparación con otras especies acuícolas como salmones y truchas. Se han identificado quince vitaminas esenciales para los camarones, incluyendo cuatro liposolubles (A, D, E y K) y once hidrosolubles (como tiamina, riboflavina, niacina y ácido

ascórbico). La vitamina K en particular es considerada cuestionable en *Penaeus vannamei*. Cada vitamina cumple funciones biológicas específicas, siendo algunas antioxidantes o involucradas en el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos. La vitamina C es especialmente importante ya que los camarones no pueden sintetizarla y es crucial para el crecimiento y la integridad de los tejidos conectivos (Arango, G. 2024).

Diversos estudios han evaluado los requerimientos vitamínicos de los camarones, incluyendo investigaciones sobre las vitaminas A, D, E, K y varias hidrosolubles bajo condiciones de laboratorio. En Ecuador, la compañía Roche Ecuador S.A., subsidiaria de Hoffmann La-Roche, ha iniciado proyectos de investigación desde 1993 para estudiar la importancia de las premezclas vitamínicas en la nutrición de los camarones bajo condiciones extensivas y semintensivas (Arango, G. 2024).

En estudios realizados por Arango, G, 2024 se identificaron varios factores que afectan el aprovechamiento de compuestos nutricionales, como la presencia de enfermedades (especialmente el síndrome de Taura), la diferente profundidad de las piscinas, las fluctuaciones en la relación entre la biomasa del camarón y la biomasa de la producción primaria, y la calidad del alimento, especialmente la harina de pescado. Las pruebas biológicas realizadas mostraron que la mayoría de las harinas de pescado del mercado tenían una clasificación baja (entre 2 y 3) según la Fundación Chile. La calidad de la harina de pescado es crucial para la supervivencia de los camarones, especialmente en los estados juveniles. En el segundo estudio los resultados mostraron una gran disminución en la variabilidad de los coeficientes de variación en parámetros como peso final, crecimiento semanal, conversión alimenticia, supervivencia y producción total por

hectárea. Concluyeron que una adecuada premezcla vitamínica es esencial para mantener un crecimiento continuo, obtener un mayor peso de cosecha, mejorar la conversión alimenticia, aumentar el rendimiento por hectárea y reducir la variabilidad entre las piscinas, logrando así una producción más homogénea.

2.2.7. Niveles de Proteína en dietas de Camarón

La proteína es el nutriente más utilizado por los organismos acuáticos para el crecimiento y como fuente de energía, y es el componente más costoso del alimento comercial, por lo que se debe optimizar su inclusión. (Quichimbo Quezada, J. D. 2022). En el caso de los camarones peneidos, se han reportado diversos niveles óptimos de proteína, calidad proteica de las fuentes, niveles de energía, tasas de alimentación y condiciones ambientales. Sin embargo, estos datos provienen de ensayos en laboratorio con condiciones controladas y sin alimento natural (Tacon, 1995). Los alimentos comerciales para sistemas de cultivo semi-intensivos suelen formularse como dietas completas, sin considerar el alimento natural disponible en los estanques (Alvarez, J. S. 2019).

El estudio de Galindo et al. (1992) investigó el efecto de diferentes niveles de lípidos (0-15%) en el crecimiento de camarones juveniles, utilizando dietas isocalóricas e isoproteicas. Encontraron que niveles de lípidos de 6% o más resultaron en mejores tallas, sugiriendo que el crecimiento mejora con el aumento de energía de lípidos y la reducción de carbohidratos, siempre que se mantenga un equilibrio adecuado de nutrientes energéticos (Alvarez, J. S. 2019).

El trabajo realizado por Alvarez, J. S. 2019, utilizó niveles de energía de 4010-4120

kcal/kg y lípidos de 5.2-6.4%, observando que una dieta con 28% de proteínas (y relaciones energéticas similares a las del estudio de Galindo) promovió un buen crecimiento del camarón *Penaeus schmitti* en estanques de tierra. Análisis adicionales indican que niveles de proteína de 28% o más mejoran el crecimiento, siendo 28% el nivel óptimo desde una perspectiva económica para la fase de engorde.

Se sugieren que cuando los camarones consumen alimento natural, se puede usar un alimento artificial de menor calidad. Actualmente, se fabrican dietas con 35-30% de proteína al inicio del engorde y 30-25% al final. Se recomienda evaluar si es conveniente mantener un nivel proteico constante del 28% durante todo el engorde o variarlo, considerando que el costo de las dietas debe justificarse por el valor comercial del camarón (Alvarez, J. S. 2019).

2.2.8. Fermentación Microbiana en la producción de suplementos

2.2.9. Fermentación en estado sólido para la generación de Metabolitos

Se caracteriza por su proceso de fermentación sobre un sustrato sólido con un porcentaje bajo de humedad (>12%). Los requerimientos energéticos para la producción son muy bajos, siendo usada a gran escala en industrias de alimentos, alimentos para animales, para la producción de enzimas, combustible, colorantes, etc. La variedad de sustratos de residuos agrícolas empleados en este proceso pueden ser paja de trigo, tusa de maíz, y cascarilla de arroz. A diferencia de la fermentación en medios líquidos la viscosidad que se produce durante el proceso de producción de metabolitos puede ser un gran obstáculo por la complejidad de la transferencia del oxígeno, siendo la fermentación en medios sólido una buena alternativa ya que permite una buena

trasferencia de oxígeno durante el proceso. Para la fermentación en estado sólido se emplean fermentadores pequeños y como hay ausencia de agua durante proceso, la separación del fermento se hace con menor esfuerzo (downstream). Un aspecto importante a considerar es que las cepas recogidas en estado silvestre sean de bacterias u hongos que serán usadas en la fermentación en estado sólido tienen un mejor comportamiento durante proceso de fermentación en comparación con microorganismo genéticamente modificados, reduciendo costos de energía y demás procesos vitales para la producción de metabolitos de interés (Robinson, Singh, & Nigam, 2002).

2.2.10. Producción de vitamina B

En el trabajo realizado por Bertholet & Mercatante, 2019 se analizó la viabilidad de producir vitamina B a partir de fermentación bacteriana considerando las múltiples aplicaciones y usos que tiene el proceso en las diferentes industrias como farmacéutica (suplementos vitamínicos y dietéticos), alimenticia humana (comidas para recién nacidos, alimentos para atletas, productos dietéticos, bebidas energéticas, productos lácteos, jugos multivitamínicos, golosinas y cereales), y alimenticio animal (balanceados, que representan 2/3 del consumo mundial). Además de los beneficios medicinales de la producción de vitamina B en la salud de la población. La bacteria seleccionada para el proceso experimental fue *Propionibacterium freudenreichii spp.*, utilizando jarabe de glucosa y licor de macerado de maíz (CSL) como sustratos principales. El proceso de purificación incluyó centrifugación, molienda, adsorción-desorción, cristalización y filtración.

2.2.11. Fermentaciones Bacterianas

En el documento “Las fermentación como estrategia para la mejora de las propiedades funcionales de residuos y subproductos de origen vegetal” elaborado por Belda Palazon C. (2022).; se abordan varios tipos de fermentaciones bacterianas entre las más importantes, cada una con características y productos finales específicos como se muestra en la Tabla 1.

TABLA 1 Clasificación de los diferentes tipos de fermentación bacteriana, destacando los productos finales, las bacterias comunes que realizan cada tipo de fermentación y una breve descripción del proceso involucrado (Belda Palazon C. 2022).

Tipo de Fermentación	Producto(s) Final(es)	Bacterias Comunes	Descripción del Proceso
Fermentación homoláctica	Ácido láctico	Lactobacillus, Streptococcus	Conversión de glucosa en ácido láctico a través de la vía glicolítica de Embden-Meyerhof.
Fermentación alcohólica	Etanol, CO ₂	Saccharomyces, Zymomonas	Conversión de glucosa en etanol y dióxido de carbono; importante en la industria alimentaria y de bebidas.
Fermentación butanodiol	Butanodiol	Enterobacter, Klebsiella	Conversión de glucosa en butanodiol, un compuesto con aplicaciones industriales.
Fermentación butírica	Ácido butírico	Clostridium	Conversión de carbohidratos en ácido butírico, con aplicaciones en la industria alimentaria.

Fermentación heteroláctica	Ácido láctico, etanol, ácido acético, entre otros	Leuconostoc, Lactobacillus	Producción de una mezcla de productos finales, incluyendo ácido láctico, etanol, y ácido acético. Proceso más diverso.
-----------------------------------	---	----------------------------	--

En el estudio también se detallan dos tipos de *Bacillus* empleados para distintos procesos de fermentación, obteniendo diferentes subproductos según el sustrato en el que se desarrollen.

1. *Bacillus polymyxa*: Esta especie de *Bacillus* produce exclusivamente la forma D (levógira) de 2,3-butanodiol por fermentación.

2. *Bacillus subtilis*: Esta especie de *Bacillus* produce una mezcla de la forma D y la forma meso de 2,3-butanodiol por fermentación.

En este trabajo también se menciona que muchos de estos microorganismos pueden utilizar pentosas, lo que amplía las posibilidades de fermentación a sustratos como hidrolizados de madera y aguas sulfitadas de desecho de fábricas de papel. Esto resalta la importancia de la capacidad de adaptación de las especies de *Bacillus* en la producción de 2,3-butanodiol a partir de una variedad de sustratos disponibles en diferentes industrias (Belda Palazon C., 2022).

2.2.12. Estudios Previos del uso de Probióticos en Acuicultura

La acuicultura enfrenta problemas como las enfermedades infecto-contagiosas, que pueden afectar la rentabilidad. El uso de antibióticos ha sido la solución rápida, pero presenta limitaciones debido a problemas de toxicidad, resistencia antibiótica, residuos

y efectos medioambientales negativos, así como riesgos para la salud pública. La clave para minimizar el impacto de estas enfermedades incluye diagnósticos rápidos y precisos, medidas preventivas y estudios epidemiológicos detallados. (Pérez, M. et al., 2020). Actualmente, se investiga en métodos profilácticos alternativos y respetuosos con el medio ambiente, como el uso de probióticos. Los probióticos, en particular, muestran beneficios significativos en la protección contra infecciones, y mejoran el crecimiento, supervivencia y bienestar de los animales, posicionándose como una alternativa viable al uso de antibióticos (Pedraza et al., 2020).

El término "probiótico" proviene de los vocablos griegos "pro" y "bios", que significan "para la vida", y fue introducido en 1965 por Lilly y Stillwell. Inicialmente, los probióticos se definieron como factores de origen microbiológico que estimulaban el crecimiento de otros organismos, en contraste con los antibióticos. Parker, más adelante, ajustó esta definición para referirse a "organismos o sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal". Fuller, en 1989, propuso que los probióticos beneficiaban al huésped al mejorar su balance intestinal. Los probióticos se describen como células microbianas que, al ser ingeridas, sobreviven en el tracto gastrointestinal y mejoran la salud del huésped. En acuicultura, Moriarty sugirió que la definición de probióticos debería incluir bacterias vivas que se añaden a los tanques o estanques de peces (Collazo, M. D. L. A. P., et al. 2024).

Verschuere ofreció una definición más amplia, describiendo los probióticos como "suplementos microbianos vivos que benefician al hospedador modificando la flora asociada y la del ambiente". Reid añadió que estos beneficios se logran cuando los probióticos se administran en cantidades adecuadas. Salminen, por su parte, señaló que

los probióticos pueden formar parte de un microbiota gastrointestinal saludable y que su adición puede restaurar una microbiota perturbada. Las definiciones de probióticos han sido más aplicadas a humanos y mamíferos, debido a la mayoría de los estudios realizados en estos. Sin embargo, en la acuicultura, la microbiota de los animales acuáticos es influenciada por el medio ambiente, la dieta y la edad, lo que requiere consideraciones especiales para su aplicación en este contexto (Collazo, M. D. L. A. P., et al. 2024).

La incorporación de probióticos se presenta como una estrategia eficaz para reducir o eliminar la presencia de microorganismos patógenos, así como una alternativa viable a los agentes quimioterapéuticos en la prevención de enfermedades infecciosas. Además de sus propiedades antimicrobianas, los probióticos ofrecen beneficios nutricionales significativos, aportando enzimas, vitaminas y micronutrientes esenciales, lo que contribuye a reducir la mortalidad y a mantener la salud de los organismos (Pérez, M. et al., 2020).

Los mecanismos de acción que fundamentan la selección de probióticos incluyen:

- Producción de compuestos inhibitorios.
- Competencia por compuestos químicos o fuentes de energía.
- Competencia por sitios de adhesión.
- Estimulación de la respuesta inmune.
- Mejora de la calidad del agua.
- Contribución enzimática a la digestión.
- Provisión de macro y micronutrientes.

En acuicultura, los probióticos comúnmente utilizados abarcan una amplia gama de

organismos, incluyendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, bacteriófagos, levaduras y algas unicelulares. Estos probióticos han sido probados tanto en dietas artificiales como en alimento vivo (artemia y rotíferos) y en el agua (Pérez, M. et al., 2020).

2.2.13. *Bacillus subtilis* en Acuicultura de Camarón

El género *Bacillus* se ha destacado como un microorganismo con un notable potencial antimicrobiano, gracias a la variedad de metabolitos que genera, entre los cuales se incluyen glucopéptidos, lipopéptidos, péptidos cíclicos, policétidos, enzimas líticas, péptidos no ribosomales y bacteriocinas, como se muestra en la tabla 2 (Pedraza et al., 2020; Pérez, M. et al., 2020).

TABLA 2 Principales Metabolitos producidos por las Bacterias Probióticas. Adaptado de "Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión," por M. D. L. Pérez-Chabela, Y. Álvarez-Cisneros, J. Soriano-Santos, y M. A. Pérez-Hernández, 2020, *Hidrobiológica*

Metabolitos	Microorganismo	Referencia
Bacteriocinas	Lactobacillus sp.	Zhang et al., 2013, Gomez-Sala et al., 2015; Lobos et al., 2017; Lyapparaj et al., 2013.
	Streptococcus sp.	
	Enterococcus sp.	
Terpenoides. Alcaloides policétidos Antibióticos	y Pseudomonas alteromonas	Offret et al., 2016
	Streptomyces	Aponte-Ubillus et al., 2015; Evangelista-Martínez et al., 2017

En la acuicultura, particularmente en la cría de camarones como *Litopenaeus vannamei* y *Penaeus monodon*, se emplean *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* como

probióticos. Se demostró que *Bacillus sp.* JL47, que produce el biopolímero poli-beta-hidroxibutirato (PBH), puede activar genes relacionados con el sistema inmunológico (proPO y TGase) en camarones tigre en su etapa post-larval al ser infectados con *Vibrio campbellii*. Otros estudios han utilizado combinaciones de cepas de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* obtenidas de moluscos bivalvos, administrándolas a camarones juveniles (*Litopenaeus vannamei*) como probióticos inmunoestimulantes en concentraciones de 1×10^6 a 6×10^6 UFC/g de alimento (Pérez, M. et al., 2020).

Ambos estudios revelaron que con mayores concentraciones de probióticos, se lograban mejores tasas de crecimiento y una mayor activación de genes del sistema inmunológico (proPO y LvToll) evaluaron los efectos de una mezcla de probióticos comerciales (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) en larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en concentraciones de 1×10^4 a 1×10^8 UFC/g de alimento. Los resultados mostraron mejoras en el crecimiento, la composición química (proteína e inmunoglobulinas) y los parámetros inmunológicos, siendo más efectivos en las concentraciones más altas de probióticos (Pérez, M. et al., 2020).

2.2.14. Biología y Características de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis, una rizobacteria Gram positiva con forma de bastón, es conocida por su habilidad para formar endosporas. Ha sido ampliamente estudiada en investigaciones genéticas y bioquímicas durante muchas décadas y se considera un modelo ejemplar entre las bacterias formadoras de esporas (Pedraza et al., 2020).

2.2.15. Genética y Producción de Antibióticos

Diversidad Genética: Diferentes cepas de *Bacillus subtilis* encontradas en la naturaleza poseen conjuntos únicos de genes que les permiten producir antibióticos. Estos genes ocupan en conjunto alrededor de 350 kilobases (kb) del genoma de la bacteria (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Producción de Antibióticos: Aunque ninguna cepa posee todos los genes necesarios, en promedio, alrededor del 4-5% del genoma de *B. subtilis* está dedicado a la producción de antibióticos. Esta bacteria tiene la capacidad de producir más de dos docenas de antibióticos con una amplia variedad de estructuras químicas, demostrando su capacidad para sobrevivir en entornos competitivos. La biosíntesis de antibióticos es un proceso regulado y compartido con otros mecanismos de supervivencia (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Estructura y Tipos de Antibióticos: Los antibióticos peptídicos son los más comunes, caracterizados por sus estructuras rígidas, hidrofóbicas y/o cíclicas. Incluyen componentes inusuales como D-aminoácidos, lo que los hace resistentes a la hidrólisis por peptidasas y proteasas. Los residuos de cisteína a menudo se oxidan a disulfuros o se modifican para formar enlaces tioéter (C-S) Tabla 3 (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

TABLA 3 Principales características y funciones de los antibióticos comunes y específicos producidos por *Bacillus subtilis*.

Categoría	Antibiótico	Descripción	Función
Antibióticos Comunes	Subtilosina	Bacteriocina producida por <i>Bacillus subtilis</i> .	Inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas al permeabilizar la membrana celular.
	Surfactina	Lipopeptido cíclico, potente biosurfactante.	Reduce la tensión superficial del agua, facilita la formación de biopelículas, tiene propiedades antifúngicas y antivirales, y es crucial para la motilidad en enjambre.
	Bacilisina	Dipeptido antibiótico.	Inhibe la síntesis de la pared celular en bacterias Gram positivas, causando lisis y muerte celular.
Antibióticos Específicos de Cepa	Subtilina	Lantibiótico con lantionina y otros aminoácidos no comunes.	Inserta en la membrana celular bacteriana formando poros, lo que provoca la pérdida de iones y la muerte celular.
	Ericina	Lantibiótico específico de ciertas cepas de <i>B. subtilis</i> .	Actúa sobre las membranas bacterianas, alterando su permeabilidad y causando la muerte celular.
	Mersacidina	Lantibiótico producido por algunas cepas de <i>B. subtilis</i> .	Inhibe la biosíntesis de la pared celular bacteriana al interferir con la transglicosilación, eficaz contra bacterias Gram positivas, incluyendo patógenos resistentes.

Especificidad: La capacidad de producir diferentes antibióticos puede variar significativamente entre cepas, con algunos antibióticos específicos para cepas particulares como la micosubtilina y la fengicina (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Detección de quórum

Los antibióticos producidos por *B. subtilis*, como subtilina y ericina, funcionan como feromonas en la detección de quórum. La producción de antibióticos y la esporulación están frecuentemente relacionadas, y algunos antibióticos están regulados por factores compartidos con la esporulación. La regulación directa del clúster *skf* por *Spo0A* distingue a *Skf* de otros antibióticos de *B. subtilis* (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Transferencia Genética

Bacillus subtilis posee una notable capacidad para incorporar genes de fagos, impulsando su variabilidad genética y su potencial de adaptación. Esta singular habilidad le permite adquirir genes que codifican la producción de antibióticos y determinantes de resistencia, los cuales pueden ser intercambiados entre cepas diferentes. Como resultado, esta bacteria presenta una asombrosa diversidad de antibióticos que produce, lo que le confiere una ventaja significativa en la lucha por la supervivencia en entornos cambiantes. (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Ejemplos de Transferencia Genética

- El grupo de genes para la sublancina en el profago SPb.
- Genes para la biosíntesis de subtilina y ericina en cepas como ATCC 6633 y A1/3.

2.2.16. Formación de Biopelículas y Motilidad

Bacillus subtilis puede formar biopelículas, que son estructuras altamente organizadas de células bacterianas adheridas a superficies, lo que le proporciona ventajas en términos de resistencia y supervivencia. Las surfactinas son cruciales para la formación

de biopelículas en *Bacillus subtilis* A1/3; no solo ayudan en su formación, sino que también inhiben la formación de biopelículas de otras bacterias y patógenos como *Salmonella* entérica. La producción de lipopéptidos como fengicina, iturina y bacilomicina ayuda a *B. subtilis* a eliminar competidores en su hábitat natural (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Factores Clave en Biopelículas: Producción de antibióticos en biopelículas, lo cual puede proporcionar protección adicional en su entorno. Transcripción regulada por factores como SpoOA, sigma-H y AbrB (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Motilidad de Bacillus: La motilidad en enjambre depende de la producción de surfactina, una molécula tensioactiva. Factores adicionales como swrAB, swrC (gen de resistencia a la surfactina) y efp están involucrados en la motilidad en enjambre (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Interacción con Plantas: La producción de surfactina y la formación de biopelículas están asociadas con la colonización de raíces de plantas y protección contra patógenos como *Pseudomonas syringae* (Pedraza et al., 2020).

Vías Biosintéticas: *B. subtilis* emplea dos principales vías para la producción de péptidos: 1. Síntesis no ribosómica de péptidos (NRPS): Esta vía utiliza grandes megaenzimas llamadas péptidos sintetisas no ribosómicas, que incorporan componentes no proteicos en los péptidos (Pedraza et al., 2020).

2. Síntesis ribosómica: Esta vía produce péptidos precursores lineales que luego son modificados postraduccionalmente y procesados proteolíticamente (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Comparación con otros Microorganismos: Tiene un potencial antibiótico considerable, aunque menor en comparación con Streptomycetes como *S. avermitilis*, que dedica el 6,4% de su genoma a la producción de antibióticos. Las diferencias en los espectros de antibióticos entre cepas de *B. subtilis* sugieren la adquisición reciente de loci específicos, posiblemente a través del intercambio horizontal de genes mediante fagos, plásmidos o ADN desnudo ((Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

Funciones Biológicas de los Antibióticos: La producción de antibióticos no es esencial para la supervivencia general de los géneros, lo que plantea interrogantes sobre sus otras posibles funciones. Los antibióticos pueden desempeñar roles en la señalización celular, la defensa contra competidores y la modulación del entorno microbiano (Rojas Badía, M. M., et al. 2021).

2.2.17. Fermentación microbiana: procesos y técnicas.

La fermentación bacteriana es un proceso metabólico en el cual las bacterias utilizan compuestos orgánicos como sustratos para generar energía. Durante la fermentación, los sustratos se convierten en una mezcla de productos finales, algunos más oxidados y otros más reducidos que el sustrato original. Los sustratos fermentables deben estar en un nivel intermedio de oxidación para poder ser utilizados en este proceso. Los carbohidratos son excelentes sustratos para la fermentación, aunque las bacterias

también pueden fermentar otros compuestos orgánicos como ácidos, aminoácidos, piridinas y pirimidinas (Belda Palazon C., 2022).

En la fermentación bacteriana, los requerimientos de poder reductor son poco importantes, ya que la principal contribución es la producción de ATP a través de fosforilaciones a nivel de sustrato. Durante las primeras etapas del proceso fermentativo, se produce una gran cantidad de CO₂ y H₂, lo que ayuda a mantener la anaerobiosis. Al final de la fermentación, se puede obtener acetona y butanol, lo que está asociado con un rápido aumento de la actividad acetoacetatodecarboxilasa. Para llevar a cabo la fermentación bacteriana, es importante controlar el pH del medio, generalmente alrededor de 6-6.5, y la concentración de sustratos como la hexosa entre 5-7% (p/v). Además, se pueden utilizar inóculos bacterianos concentrados y desecados como suplementos proteicos y de riboflavina en piensos (Belda Palazon C., 2022).

En cuanto a las técnicas utilizadas en la fermentación bacteriana, se requiere un medio de cultivo adecuado que contenga los sustratos necesarios para el crecimiento bacteriano, así como condiciones controladas de pH, temperatura y oxigenación (Tabla 4). Es importante mantener condiciones anaeróbicas para favorecer la fermentación. Además, se pueden utilizar técnicas de tamponado del medio con carbonato de calcio para mantener el pH óptimo para la actividad enzimática (Tabla 5) (Belda Palazon C., 2022).

TABLA 4 Principales tipos de fermentación, los productos generados y sus aplicaciones principales, además se describen en términos de sus contribuciones a la producción de alimentos, destacando la importancia de cada proceso en la industria y la biotecnología ((Belda Palazon C., 2022).

Procesos de Fermentación				
Tipo de Fermentación	Microorganismos Involucrados	Productos Principales	Aplicaciones Principales	
Fermentación láctica	Bacterias ácido lácticas y levaduras	Ácido láctico	Producción de yogur, queso, fermentación de vegetales	
Fermentación alcohólica	Levaduras	Alcohol etílico y CO ₂	Producción de cerveza, vino, biocombustibles	
Fermentación butírica	Bacterias del género Clostridium	Ácidos acético y butírico, CO ₂ , H ₂	Producción de mantequilla, fermentación de alimentos	
Fermentación propiónica	Bacterias del género Propionibacterium	Ácido propiónico, ácido acético, CO ₂	Producción de ciertos quesos, ácido propiónico	
Fermentación acetona-butanol-etanol (ABE)	Clostridium acetobutylicum	Acetona, butanol, etanol	Producción de solventes y combustibles	

TABLA 5 Técnicas clave utilizadas en procesos de fermentación para garantizar el crecimiento eficiente y la actividad metabólica de los microorganismos (Belda Palazon C., 2022).

Técnicas de Fermentación		
Técnica		Descripción
Control de condiciones de cultivo	de de	Mantener pH, temperatura, agitación y oxigenación óptimos para favorecer el crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos.
Inóculo y pre-cultivo	y pre-	Realizar un pre-cultivo para aumentar la densidad celular y la viabilidad de los microorganismos; introducir el inóculo en el medio de fermentación para iniciar el proceso.
Control de nutrientes	de	Proveer nutrientes esenciales como carbono, nitrógeno, fósforo, vitaminas y minerales; suplementar con factores de crecimiento específicos si es necesario.
Control de fermentación	de la	Monitorear parámetros como la concentración de sustrato, producción de productos finales, densidad celular y actividad enzimática para ajustar las condiciones de cultivo.
Esterilización aseptia	y	Esterilizar equipos, medios de cultivo y sustratos; mantener condiciones de asepsia durante todo el proceso para evitar la contaminación.
Escalado de fermentación	de la	Utilizar diferentes tipos de fermentadores según la escala de producción deseada y ajustar los parámetros de cultivo en consecuencia.

En la investigación de Bustamante, M. (2015), sobre alternativas seguras para el control de hongos fitopatógenos, se evaluaron los metabolitos secundarios de dos cepas de *Bacillus subtilis* contra *Fusarium spp.* Las cepas fueron cultivadas en medios líquidos y sus metabolitos fueron extraídos y evaluados con diferentes solventes y tiempos de fermentación. Los resultados mostraron que las cepas Zamorano y QST 713 fermentadas en agua destilada estéril durante 24 horas lograron los mejores resultados de inhibición del crecimiento de *Fusarium spp.*, con porcentajes de 99% y 94% respectivamente. La cepa Zamorano fermentada con ácido fórmico también mostró un 94% de inhibición. Este estudio sugiere que los metabolitos de *Bacillus subtilis* pueden

ser efectivos como agentes de biocontrol antifúngico contra *Fusarium* spp.

2.2.18. Nutrición de Larvas de Camarón

2.2.19. Proteínas y Aminoácidos

Las proteínas son nutrientes esenciales para todos los seres vivos, cruciales para el crecimiento y mantenimiento de los animales. Se han realizado numerosos estudios para determinar los requerimientos proteicos en varias especies de camarones, aunque la mayoría se han enfocado en las fases postlarvales y juveniles. Los estudios sobre los requerimientos proteicos en larvas son limitados debido a las dificultades para crear dietas adecuadas para las etapas de protozoa y mysis (Quichimbo Quezada, J. D. 2022).

2.2.20. Requerimientos de Proteínas

Teshima y Kanazawa (1984) determinaron que una dieta microparticulada con un 45-55% de proteína es óptima para el crecimiento y supervivencia de las larvas de *Penaeus japonicus*. Le Moullac et al. (1994) encontraron que las protozoas de *P. vannamei* requieren un 60% de proteína. Rodríguez et al. (1994) descubrieron que dietas con menos del 7% de proteína pueden sostener el crecimiento y supervivencia en mysis de *P. japonicus* igual que una dieta rica en zooplancton. También Besbes y Guillaume (1989) indicaron que las larvas de *P. japonicus* tienen bajos requerimientos proteicos (Espinoza Ortega, M. A. 2024).

2.2.21. Requerimientos de Aminoácidos Esenciales

Han sido demostrados en especies como *P. aztecus*, *P. monodon*, y *P. japonicus*. Teshima et al. (1986) lograron buenos resultados en la cría larval de *P. japonicus* al simular la composición de aminoácidos del cuerpo de las larvas en la dieta. Los juveniles y adultos de camarones no utilizan eficientemente los aminoácidos libres o proteínas hidrolizadas, a diferencia de las larvas que pueden utilizar aminoácidos cristalinos suplementados (Espinoza Ortega, M. A. 2024).

2.2.22. Diferencias en Utilización de Aminoácidos

Los aminoácidos cristalinos son absorbidos y catabolizados rápidamente, lo que no favorece la síntesis proteica. Métodos como la encapsulación de aminoácidos o el aumento de la frecuencia de alimentación pueden mejorar el crecimiento de los camarones (Espinoza Ortega, M. A. 2024).

2.2.23. Requerimientos Cuantificados en Postlarvas y Juveniles

Estudios recientes han cuantificado estos requerimientos utilizando microencapsulación de aminoácidos y aumento de la frecuencia de alimentación. Dietas con L-arginina, ya sea sin recubrimiento o cubierta con una membrana de nylon-proteína, han mostrado mejores tasas de crecimiento y supervivencia comparadas con dietas basadas únicamente en caseína (Espinoza Ortega, M. A. 2024).

2.2.24. Importancia de Aminoácidos Libres

Son una fuente principal de energía durante la embriogénesis de peces marinos y son necesarios cuando los animales comienzan la alimentación exógena y su sistema digestivo aún no está completamente desarrollado. Algo similar podría ocurrir en las larvas de peneidos, que en su ambiente natural consumen algas y pequeños invertebrados ricos en aminoácidos libres. Estos hallazgos subrayan la importancia de ajustar las dietas en función de la etapa de desarrollo de los camarones para optimizar su crecimiento y supervivencia (Erazo Salas, O. R. 2021).

2.2.25. Carbohidratos

Los carbohidratos son la fuente de energía más económica en la dieta y pueden reducir la necesidad de usar proteínas y lípidos para obtener energía. En *Penaeus japonicus*, un aumento en los carbohidratos dietéticos disminuye los requerimientos de proteínas en las larvas y se utilizan de manera más eficiente que los lípidos. En las protozoas de *P. vannamei*, niveles dietéticos de 20% de carbohidratos resultan en un mejor desarrollo (Erazo Salas, O. R. 2021).

Generalmente, los azúcares simples son mal utilizados por camarones juveniles y adultos. Se ha sugerido que la glucosa dietética se absorbe rápidamente del canal alimentario y se libera en la hemolinfa, lo que eleva anormalmente los niveles de glucosa en el plasma y afecta su uso como fuente de energía en *P. japonicus*. Alvarado y Robinson (1979) plantean que la presencia de glucosa puede inhibir la absorción de aminoácidos en el intestino, lo que podría explicar el bajo crecimiento observado en camarones alimentados con glucosa (Erazo Salas, O. R. 2021).

Se sabe poco sobre la utilización de carbohidratos en la fase larval de los camarones peneidos. Niall et al. (1989) indican que los carbohidratos de bajo peso molecular son adecuados para las dietas de protozoas de *P. monodon* debido a las bajas actividades de alfa-amilasa encontradas. Una mezcla de glucosa-sucrosa y alfa-almidón produce buenos resultados de crecimiento y supervivencia en larvas de *P. japonicus*. Usar una mezcla de diferentes carbohidratos en la dieta parece ser más efectivo que utilizar una sola fuente (Erazo Salas, O. R. 2021).

Aunque hay diferencias importantes en la utilización del almidón según su fuente y grado de gelatinización, el desarrollo larval de *P. vannamei* no se vio afectado por la calidad del almidón de maíz suministrado, ya sea soluble, estándar con alto contenido de amilopectina o pregelatinizado ((Erazo Salas, O. R. 2021).

2.2.26. Lípidos

Los lípidos son cruciales en la nutrición de los camarones, proporcionando energía y ácidos grasos esenciales, esteroides y fosfolípidos. Teshima y Kanazawa (1984) estudiaron los requerimientos de lípidos en larvas de *Penaeus japonicus*, encontrando que niveles de 6.5-16.5% no afectan significativamente el crecimiento ni la supervivencia. Sin embargo, niveles excesivos de lípidos pueden ser perjudiciales para los crustáceos (Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

Los camarones peneidos no tienen un requerimiento específico de lípidos, pero necesitan ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), fosfolípidos y esteroides. Los AGPI de la serie n-3 son especialmente importantes para las larvas de *Penaeus japonicus*, superando en efectividad a los de la serie n-6 (Jones et al., 1979; Teshima et al., 1982).

Los requerimientos de ácidos grasos esenciales varían según los niveles de fosfolípidos en la dieta. (Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

Durante el desarrollo larval de *Penaeus monodon*, los niveles de los ácidos grasos 16:1 y 18:1 disminuyen, mientras que los AGPI como 20:5 n-3 y 22:6 n-3 aumentan, subrayando la importancia de los AGPI en la dieta. Artemia enriquecida con AGPI n-3 mejora la producción de larvas y postlarvas. Además, los AGPI pueden mejorar la resistencia al estrés y a enfermedades (Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

En estudios sobre los patrones de ácidos grasos en larvas y juveniles de *Penaeus spp.*, se ha observado que estos reflejan la composición del alimento. En Ecuador, las larvas silvestres de *Penaeus vannamei* no muestran fluctuaciones en sus perfiles de ácidos grasos relacionadas con el clima o la geografía, pero difieren de las de cultivo en ciertos ácidos grasos esenciales ((Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

Para investigar los requerimientos de ácidos grasos, se usan ésteres metílicos o etílicos, aunque estos no son adecuados para dietas de *Penaeus monodon* debido a su pobre valor nutricional. Los ácidos grasos libres son más efectivos en las dietas de protozoas. Los fosfolípidos son cruciales para la movilización del colesterol y triglicéridos en los camarones Fosfatidilcolina (PC) y fosfatidilinositol (PI) son los más efectivos para el desarrollo larval. La inclusión de lecitina en la dieta es vital para la supervivencia y crecimiento de las larvas de *Penaeus japonicus* (Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

El colesterol es esencial en la dieta de las larvas de *Penaeus japonicus*, con un nivel

óptimo estimado en 1%. Algunos esteroides pueden convertirse en colesterol en las larvas, apoyando el crecimiento y la supervivencia. Sin embargo, no se ha encontrado interacción significativa entre el colesterol y los fosfolípidos en el crecimiento de los camarones (Hanna Noblecilla, W. G. 2020).

2.2.27. Vitaminas y Minerales

El estudio de los requerimientos de vitaminas en los peneidos ha avanzado rápidamente en los últimos años, especialmente en juveniles de varias especies. Sin embargo, el conocimiento sobre las necesidades vitamínicas en larvas proviene principalmente de investigaciones en *Penaeus japonicus*. Se descubrió que esta especie, al ser alimentada con una dieta microparticulada, requiere vitamina E, ácido nicotínico, colina, piridoxina, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico, cianocobalamina, vitamina D, inositol, riboflavina, tiamina y beta-caroteno. La deficiencia de cualquiera de estas vitaminas resultó en la interrupción o retraso de la metamorfosis y alta mortalidad durante el desarrollo larval. También indicó que las larvas parecen necesitar mayores cantidades de algunas vitaminas, como el ácido ascórbico, posiblemente debido a pérdidas hacia el agua antes de la ingestión del alimento (Villalva Palacios, A. I. 2021).

El ácido ascórbico (AA) es esencial en la dieta de varios estadios de organismos acuáticos, con larvas de peces y camarones siendo especialmente vulnerables a su deficiencia. Debido a que el AA se oxida fácilmente, se utilizan formas más estables químicamente, como el ascorbato, para reducir la pérdida de su actividad. Usando *Artemia* enriquecida con ascorbil-palmitato, se encontró que las larvas de camarón

mostraron mayor resistencia osmótica (Quichimbo Quezada, J. D. 2022.) Estos investigadores determinaron que los requerimientos mínimos de AA para la larvicultura de *Penaeus monodon* y *P. vannamei* son 20 y 130 mg AA/kg de dieta, respectivamente. Para asegurar resistencia suficiente al estrés y enfermedades, los niveles recomendados de AA deben superar los 200 y 2000 mg AA/kg de dieta, respectivamente (Villalva Palacios, A. I. 2021).

Los camarones pueden absorber minerales del agua circundante, pero aún necesitan una fuente dietética para ciertos minerales esenciales para su crecimiento, debido a las pérdidas durante la muda. Sin embargo, el conocimiento sobre las necesidades dietéticas de minerales en el período larval es casi inexistente. Se encontró que la suplementación con hierro en dietas para larvas de *Penaeus japonicus* puede retardar el crecimiento. Además, la suplementación excesiva de ciertos minerales en la dieta puede afectar negativamente la absorción de otros minerales (Villalva Palacios, A. I. 2021).

Las diferentes especies de algas se han utilizado como alimento para las larvas debido a su alta calidad proteica y su riqueza en ácidos grasos esenciales y vitaminas. Entre las microalgas más comunes están los fitoflagelados *Isochrysis* spp. y *Tetraselmis* spp., así como las diatomeas *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* spp., y *Chaetoceros* spp. Estas algas se combinan en la dieta larval para lograr un mejor balance nutricional. Además, los nauplios de *Artemia* son frecuentemente utilizados como alimento vivo para mysis y protozoas, y otros invertebrados como rotíferos y nemátodos también se

incluyen en estas etapas (Quichimbo Quezada, J. D. 2022).

La técnica de bioencapsulación ha permitido enriquecer el alimento vivo con nutrientes esenciales, como ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y pigmentos, mejorando así la nutrición de las larvas. Investigaciones recientes han demostrado que las dietas combinadas de alimento vivo y microencapsulado pueden aumentar la actividad enzimática digestiva y mejorar el crecimiento y la supervivencia de las larvas. Se ha observado que las protozoas tienen una baja actividad enzimática cuando se alimentan solo con dietas artificiales, pero esta actividad aumenta con la adición de algas. En contraste, las mysis alimentadas con dietas microencapsuladas muestran una alta actividad de tripsina debido a la baja digestibilidad de la proteína dietética, mientras que aquellas alimentadas con nauplios de Artemia tienen una menor actividad enzimática debido a la mejor disponibilidad de nutrientes (Villalva Palacios, A. I. 2021).

Los estudios sugieren que los pobres crecimientos observados con dietas artificiales, a pesar de su alto contenido proteico, se deben a una baja asimilación de proteínas y la ausencia de otros factores esenciales (Quichimbo Quezada, J. D. 2022). La inclusión de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular en las dietas artificiales ha mostrado promover el crecimiento en larvas de camarón. Un mejor entendimiento de la fisiología digestiva de las larvas y el desarrollo de dietas artificiales más efectivas son esenciales para avanzar en la nutrición larval. Es necesario también establecer dietas de referencia y metodologías estandarizadas para comparar entre diferentes especies cultivadas (Villalva Palacios, A. I. 2021).

2.2.28. Utilización del Alimento Vivo y las Dietas Artificiales en la Fase Larval

Diversas especies de algas se emplean en la alimentación de larvas debido a su alta calidad proteica, variedad de azúcares, riqueza en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y vitaminas como el ácido ascórbico y la riboflavina. Entre las microalgas usadas comúnmente están los fitoflagelados como *Isochrysis spp.* y *Tetraselmis spp.*, así como las diatomeas *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira spp.* y *Chaetoceros spp.*, que se combinan para proporcionar un balance nutricional óptimo en la dieta de las larvas. Los nauplios de *Artemia* son el alimento vivo más utilizado para las etapas de mysis y protozoa 2 y 3, mientras que otros invertebrados como rotíferos y nemátodos también se incluyen en estas dietas. La técnica de bioencapsulación permite enriquecer el alimento vivo con nutrientes adicionales, como AGPI, vitaminas y pigmentos, mejorando así la calidad nutricional del alimento larval (Quichimbo Quezada, J. D. 2022).

Investigaciones han demostrado que las protozoas responden con una mayor actividad enzimática cuando se añaden algas a sus dietas, lo que mejora el crecimiento y la supervivencia. Esto sugiere que las algas podrían contener sustancias que activan la digestión o proporcionan proteínas fácilmente digeribles. En la fase mysis, se observa una alta actividad de tripsina cuando se utilizan dietas microencapsuladas, lo que indica una respuesta a la baja disponibilidad de proteínas debido a una pobre digestibilidad. La inclusión de nauplios de *Artemia* en la dieta reduce la actividad de tripsina, posiblemente porque estos proporcionan nutrientes más accesibles (Quichimbo Quezada, J. D. 2022).

El crecimiento limitado observado con dietas artificiales, incluso cuando son ricas en proteínas, sugiere una baja asimilación de proteínas o la falta de otros factores esenciales. Mejorar la retención de nutrientes en el agua podría aumentar la eficiencia del alimento. Además, la inclusión de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular y la betaína ha demostrado promover el crecimiento en larvas de camarón. Avances en el conocimiento de la fisiología digestiva larval y en el desarrollo de dietas artificiales que imiten los beneficios del alimento vivo son cruciales para avanzar en los estudios de requerimientos nutricionales. Asimismo, es necesario desarrollar dietas de referencia y metodologías estándar para comparar diferentes especies cultivadas (Villalva Palacios, A. I. 2021).

2.2.29. Impacto de los suplementos proteicos en el crecimiento y salud de las larvas de camarón.

Importancia de la proteína en la dieta del camarón: La proteína es el macronutriente más importante en la dieta, debido no solo a su alta demanda sino también al alto precio de las fuentes proteicas (Ibarra, E., et al. 2020).

Relación Proteína-Energía: Es crucial mantener una relación óptima entre la proteína y la energía en la dieta. Un exceso de proteína puede resultar en un desvío metabólico con fines energéticos, reduciendo el consumo de alimento y afectando negativamente el crecimiento del camarón (Ibarra, E., et al. 2020).

2.2.30. Fuentes de Suplementos Proteicos

Harina de Pescado

La harina de pescado ha sido el pilar proteico en la dieta de las larvas de camarón por su alto valor biológico y perfil aminoácido ideal. Sin embargo, su elevado costo y demanda han impulsado la búsqueda de alternativas más sostenibles (Ramirez, A. L. C., 2021).

El estudio de (Ramirez, A. L. C., 2021). detalla los componentes de la harina de pescado y su relevancia como insumo acuícola, destacando su alto valor proteico. No obstante, la acuicultura actual explora alternativas viables para suplir gradualmente este producto.

Soya y Productos Derivados

La soya es una fuente de proteína vegetal muy utilizada en la alimentación de camarones debido a su disponibilidad y contenido proteico elevado.

Se han desarrollado productos como el concentrado de proteína de soya y el aislado de proteína de soya, que tienen un contenido proteico más alto y menos factores antinutricionales, otros productos que se obtienen por el procesamiento de la soya son Sigüenza (Cordero, J. F., & Domínguez, J. M. 2021):

- Harina de soya, mediante extracción por solvente
- Harina de Soya de semillas descascaradas, obtenida mediante extracción por solvente
- Expeller de Soya.
- Expeller de Soya a partir de semillas descascaradas
- Harina de Soya con grasa

- Harina de soja con grasa obtenida mediante semillas descascaradas

Suplementos de Algas y Microorganismos

Las microalgas y ciertos microorganismos también se han estudiado como fuentes alternativas de proteína debido a su perfil nutricional y menor impacto ambiental.

2.2.31. Efectos de los Suplementos Proteicos

Mejor Crecimiento y Conversión Alimenticia

En la acuicultura, varios estudios han explorado el uso de macroalgas como ingredientes en dietas para animales, con niveles adecuados de proteína de alta calidad mejoran la tasa de crecimiento de las larvas de camarón y la eficiencia de conversión alimenticia, lo que significa que las larvas pueden convertir mejor el alimento en biomasa, reemplazando harina de pescado y/o ingredientes vegetales, o como aditivos alimentarios, tanto en forma íntegra como en extractos. Los fucoidanos son polisacáridos sulfatados que representan del 10 al 20% de la masa seca de las algas pardas y tienen múltiples actividades terapéuticas como antitumorales, antivirales y antiinflamatorias. En camarones, los fucoidanos aumentan la respuesta inmune y la resistencia a infecciones. Estudios han mostrado que camarones alimentados con dietas que incluyen algas pardas como *Undaria pinnatifida* presentan mayor actividad de la enzima fenoloxidasa y menor concentración de bacterias *Vibrio spp.* en el tracto digestivo, lo que refuerza su sistema inmunológico y su resistencia a infecciones como el virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV). Además, las algas pardas contienen ácidos grasos, vitaminas y

minerales que tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, mejorando el rendimiento zootécnico de los camarones. La inclusión de algas como Sargassum en la dieta de los camarones ha demostrado aumentar su crecimiento y actividad enzimática digestiva, así como la absorción intestinal, contribuyendo al desarrollo saludable y productivo de estos animales en acuicultura (Cordero, J. F., & Domínguez, J. M. 2021).

2.2.32. Resistencia a estrés Térmico

La aparición de enfermedades en la acuicultura, similar a otros sectores de producción animal, es resultado de la interacción entre el huésped, el ambiente y los patógenos. Factores ambientales adversos, como la mala calidad del agua, el manejo excesivo, la alta densidad de animales y las variaciones extremas de temperatura, son desencadenantes clave de enfermedades. Estos factores afectan el rendimiento zootécnico y la respuesta inmunológica de los animales, aumentando su susceptibilidad a los patógenos (Martins, M. A., Poli, M. A., et. al 2020).

Las variaciones de temperatura son especialmente perjudiciales para los organismos ectotérmicos como los camarones, ya que no pueden regular su temperatura interna. La exposición al frío puede causar desórdenes neuromusculares, pérdida de fluidez en las membranas celulares y mal funcionamiento de las proteínas transmembranas, entre otros problemas. Animales de regiones templadas han desarrollado mecanismos bioquímicos y fisiológicos para superar el estrés por frío. En insectos, por ejemplo, se ha observado una mayor expresión de acuaporinas, enzimas de detoxificación y proteínas de choque térmico, que ayudan a estabilizar las membranas y proteínas, así como a prevenir daños osmóticos (Martins, M. A., Poli, M. A., et. al 2020).

Los animales que no son naturalmente tolerantes al frío pueden mejorar su resistencia mediante la suplementación alimentaria. Estudios han demostrado que la suplementación con ciertos nutrientes puede aumentar significativamente la supervivencia de los camarones después de un choque térmico. Por ejemplo, dietas con 0,5% y 2% del alga parda *S. filipendula* mejoraron la supervivencia de los camarones (*L. vannamei*) tras un choque térmico, comparado con dietas sin suplementación (Martins, M. A., Poli, M. A., et. al 2020).

Además, la combinación de diferentes especies de algas pardas en la dieta mostró efectos sinérgicos en la resistencia de los camarones al estrés térmico. Esto sugiere que la biomasa seca de algas pardas podría ser un aditivo alimentario valioso, mejorando la resistencia de los camarones al estrés térmico y fortaleciendo su sistema inmunológico. Este enfoque es prometedor debido al crecimiento de la producción mundial de macroalgas y su bajo costo de producción. Además, el uso de productos naturales en la alimentación animal es una tendencia creciente que puede sustituir el uso de antibióticos y otros fármacos, ofreciendo una solución sostenible y ambientalmente amigable (Martins, M. A., Poli, M. A., et. al 2020).

TABLA 6 Aspectos relevantes a considerar sobre la dosificación de Proteína en el proceso de producción de larvas de camarón (Martins, M. A., Poli, M. A., et. al 2020).

Otros Aspectos Claves Relacionado con la Suplementación Proteica en Larvas de Camarón	
Aspecto	Descripción
Salud y Resistencia a Enfermedades	Suplementar dietas con proteínas de alta calidad mejora la salud general de las larvas, aumentando su resistencia a enfermedades y reduciendo la mortalidad.
Desarrollo Óptimo de Órganos	La adecuada suplementación proteica asegura el correcto desarrollo de los órganos y sistemas fisiológicos de las larvas, crucial para su supervivencia y rendimiento posterior.
Proporciones Óptimas de Proteína	Los investigadores evalúan continuamente las proporciones óptimas de proteína en la dieta de las larvas de camarón para maximizar el crecimiento y la salud, considerando factores como la edad de las larvas y las condiciones de cultivo.
Uso de Alimentos Predigeridos	Los alimentos predigeridos, con proteínas parcialmente descompuestas, facilitan la asimilación y digestión de nutrientes, promoviendo un crecimiento más rápido y eficiente.
Evaluación de Alternativas Sostenibles	Se exploran y evalúan fuentes de proteína más sostenibles y económicas para reemplazar parcialmente la harina de pescado sin comprometer la calidad nutricional.

2.2.33. Evaluación Económica y Ambiental

Aspectos Económicos

Costo de Producción: El uso de *Bacillus subtilis* en la fermentación puede ser más económico en comparación con otros métodos de producción de post bióticos debido a su capacidad de crecimiento rápido y bajo costo de los sustratos necesarios para la fermentación. Según un estudio, la producción de post bióticos utilizando *Bacillus subtilis* puede reducir los costos de alimentación en la acuicultura usando harina de soja o melaza para la producción del fermento y evaluar que sustrato es más viable para alcanzar las concentraciones óptimas en las condiciones que se está produciendo

(temperatura, pH, salinidad etc) Tabla 7, 8 (Mendoza Cedeño, J. C., & Párraga Sabando, J. O. 2021).

TABLA 7 Diferencia entre los insumos usados, el costo invertido y las concentraciones esperadas.

Tabla de Costos de Producción		
Medio	Costo dólares L-1	Concentración ml-1
Harina de soja comercial tostada (40g⁻¹); melaza (2g⁻¹) y minerales	1.5	1.78x10 ³
Harina de soja comercial tostada (40g⁻¹); melaza (4g⁻¹) y minerales	1.5	1.81x10 ³
Harina de soja comercial tostada (40g⁻¹); melaza (6g⁻¹) y minerales	1.5	1.64x10 ³
MOLP; peptona 30g⁻¹ Sacarosa (20g⁻¹), extracto de levadura (7g⁻¹) y minerales	40	2.38x10 ³
TSBTriptona (17.0g⁻¹) Fitona (peptona de soja) (3.0g⁻¹) Cloruro de sodio 5.0 g⁻¹ D(+) glucosa(2.5g⁻¹) Fosfato dipotásico (2.5g⁻¹)	57	1.44x10 ³

2.2.34. Aplicaciones en la Producción de Larvas de Camarón

Mejora de la Salud y el Crecimiento: Los post bióticos producidos por *Bacillus subtilis* pueden mejorar la salud intestinal y el sistema inmunológico de las larvas de camarón, lo que resulta en una mejor tasa de crecimiento y supervivencia (Mendoza Cedeño, J. C., & Párraga Sabando, J. O. 2021).

Sostenibilidad: El uso de post bióticos proteicos como suplemento alimenticio puede hacer la producción de camarones más sostenible al reducir la dependencia de harinas de pescado y otros ingredientes tradicionales que pueden tener un alto impacto ambiental (Mendoza Cedeño, J. C., & Párraga Sabando, J. O. 2021).

TABLA 8 Aspectos clave relacionados con el uso de *Bacillus subtilis* en la producción de post bióticos y su impacto en el mercado y el medio ambiente.

Aspectos que se Deben Considerar para Realizar un Proceso de Fermentación	
Aspecto	Descripción
Eficiencia en la Producción	<i>Bacillus subtilis</i> es conocido por su alta eficiencia en la conversión de sustratos en productos fermentativos. Esta eficiencia puede traducirse en una mayor producción de post bióticos por unidad de sustrato, lo que a su vez puede mejorar la rentabilidad económica del proceso.
Impacto en el Mercado	La demanda de productos sostenibles y de bajo impacto ambiental está en aumento. Los post bióticos producidos por <i>Bacillus subtilis</i> pueden posicionarse bien en el mercado debido a su perfil ecológico favorable y su potencial para mejorar la salud y el crecimiento de las larvas de camarón.
Reducción de Residuos	La fermentación con <i>Bacillus subtilis</i> puede llevarse a cabo utilizando residuos agrícolas y otros subproductos industriales como sustratos, lo que ayuda a reducir la cantidad de residuos sólidos y promueve la economía circular.
Emisiones de Gases de Efecto Invernadero	Comparado con otros procesos industriales, la fermentación biotecnológica con <i>Bacillus subtilis</i> puede generar menos emisiones de gases de efecto invernadero debido a su naturaleza menos intensiva en energía.
Impacto en el Ecosistema Acuático	El uso de post bióticos en la alimentación de larvas de camarón puede mejorar la salud general y la resistencia a enfermedades de los camarones, reduciendo la necesidad de antibióticos y otros tratamientos químicos que pueden tener efectos negativos en el ecosistema acuático.

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1. Tipo y Diseño de Investigación

3.1.1. Tipo de Investigación

Este estudio se enmarca dentro de la investigación descriptiva y cuantitativa, con un enfoque en la revisión bibliométrica. Se centra en la recopilación, análisis y presentación de datos sobre la literatura existente en el campo de la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*.

3.1.2. Diseño de Investigación

El diseño de la investigación es no experimental, transversal y descriptivo:

- 1. No Experimental:** No se manipulan variables independientes ni se realiza intervención alguna en el entorno de los sujetos de estudio. En lugar de ello, se analiza información secundaria disponible en publicaciones científicas.
- 2. Transversal:** La recolección de datos se realiza en un momento específico del tiempo, recopilando información de diversas fuentes contemporáneamente.
- 3. Descriptivo:** El objetivo es describir y analizar patrones, tendencias y relaciones en la literatura científica sin buscar establecer relaciones causales directas. La investigación se centra en la caracterización de la producción científica y el análisis de datos bibliométricos como la frecuencia de publicaciones, distribución temporal, diversidad de sustratos y la eficacia de los suplementos proteicos.

Identificación de la Población y la Muestra

3.2.1. Población

La población para este estudio bibliométrico está constituida por todas las publicaciones científicas disponibles en bases de datos académicas que abordan el uso de *Bacillus subtilis* en la fermentación para la producción de suplementos proteicos destinados a larvas de camarón. Esto incluye artículos de revistas, conferencias, tesis y otros documentos científicos relevantes publicados desde el año 2000 hasta la fecha actual.

Muestra: La muestra se seleccionará mediante un proceso sistemático de búsqueda y filtrado en bases de datos científicas como PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar, entre otras. Se emplearán criterios de inclusión y exclusión específicos para garantizar la relevancia y calidad de los estudios considerados:

TABLA 9 Características de la Población de estudio.

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
- Estudios sobre fermentación de <i>Bacillus subtilis</i> para producción de suplementos proteicos	- Publicaciones no relacionadas con producción de suplementos proteicos con <i>Bacillus subtilis</i>
- Investigaciones sobre aplicación de suplementos en larvas de camarón	- Estudios no vinculados con acuicultura o larvas de camarón

- Artículos en revistas revisadas por pares	- Artículos de baja calidad o sin revisión por pares
- Documentos en inglés y español	- Duplicados o estudios irrelevantes después de revisión de títulos y resúmenes

TABLA 10 Descripción de la población y la implementación del estudio para una revisión bibliométrica sobre el uso de *Bacillus subtilis* en la fermentación para la producción de suplementos proteicos destinados a larvas de camarón.

Aspecto	Descripción
Tipo de Documentos	Artículos científicos, revisiones e informes de conferencias relacionados con la fermentación de <i>Bacillus subtilis</i> para la producción de suplementos proteicos destinados a larvas de camarón.
Ámbito Temporal	Preferiblemente de al menos 20 años para identificar tendencias y evolución en la investigación.
Bases de Datos	Scopus, Web of Science, PubMed y Google Scholar.
Idioma	Inglés y español.
Enfoque	Diferentes sustratos utilizados en la fermentación y métodos de análisis del impacto en la producción de proteínas y el desarrollo de larvas de camarón.
Etapa	Descripción
Proceso de Búsqueda y Recolección de Datos	Utilización de palabras clave y combinaciones como " <i>Bacillus subtilis</i> ", "fermentación", "suplementos proteicos", "larvas de camarón" y "acuicultura" en las bases de datos seleccionadas.
Filtrado y Selección de Estudios	Aplicación de criterios de inclusión y exclusión basados en los objetivos específicos y las características de la población definidas.

Análisis Bibliométrico	Empleo de herramientas y software de análisis bibliométrico (como VOSviewer) para mapear y visualizar las relaciones entre estudios, autores, instituciones y palabras clave.
Interpretación de Resultados	Análisis de los datos recopilados para identificar tendencias, brechas en la investigación y áreas emergentes, proporcionando una visión comprensiva del estado actual del conocimiento en este campo.

3.2.2. Delimitación de la Población

TABLA 11 Aspectos esenciales que se deben considerar para la delimitar la población.

Aspecto	Descripción
Ámbito Temporal	Publicaciones desde el año 2000 hasta la fecha actual.
Tipos de Publicaciones	Artículos científicos, revisiones, tesis y actas de conferencias. Excluye editoriales, cartas al editor y resúmenes de congresos sin texto completo disponible.
Fuentes de Datos	Bases de datos: Scopus, Web of Science, PubMed, Google Scholar, SciELO.
Ámbito Geográfico	Estudios de todas las regiones geográficas.
Idioma	Publicaciones en inglés y español.

3.2.3. Tipo de Muestra

Se utilizará una muestra compuesta por publicaciones científicas obtenidas de bases de datos académicas reconocidas. Los criterios de inclusión y exclusión para seleccionar la muestra serán los siguientes:

Fuentes de Datos

- Web of Science
- Scopus
- PubMed
- Google Scholar
- SciELO

TABLA 12 Criterios de inclusión y exclusión utilizados para seleccionar las publicaciones científicas en la revisión bibliométrica.

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
Tipo de documento: Artículos de revistas, revisiones, capítulos de libros y actas de conferencias.	Tipo de documento: Editoriales, cartas al editor, resúmenes de congresos sin texto completo disponible.
Idioma: Publicaciones en inglés y español.	Relevancia temática: Estudios que no aborden directamente el uso de <i>Bacillus subtilis</i> o que se enfoquen en otras aplicaciones distintas a la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón.
Relevancia temática: Estudios que aborden específicamente la fermentación de <i>Bacillus subtilis</i> para la producción de suplementos proteicos destinados a larvas de camarón.	Período de publicación: Publicaciones anteriores al año 2004.
Período de publicación: Publicaciones comprendidas entre los últimos 20 años (2004-2024) para asegurar la actualidad y relevancia de la información.	

3.2.3.1. Tamaño de la Muestra

Para llevar a cabo la revisión bibliométrica, se establecerá una muestra compuesta por artículos científicos, tesis, conferencias y otros documentos académicos relevantes que aborden el tema de la producción de suplementos proteicos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* para larvas de camarón. Se espera que el tamaño de la muestra sea de al menos 100 publicaciones, obtenidas de bases de datos científicas como Scopus, Web of Science, PubMed y Google Scholar.

Proceso de Selección de la Muestra

Búsqueda de Literatura: Realizar búsquedas sistemáticas en bases de datos científicas utilizando palabras clave como "*Bacillus subtilis*", "fermentación", "suplementos proteicos", "larvas de camarón" y "acuicultura".

3.2.3.2. Criterios de Inclusión

- Publicaciones en inglés y español.
- Estudios publicados en los últimos 20 años.
- Artículos revisados por pares, tesis y presentaciones en conferencias.
- Estudios que aborden directamente la fermentación con *Bacillus subtilis* para la producción de proteínas.

3.2.3.3. Criterios de Exclusión

- Publicaciones duplicadas.
- Artículos que no proporcionen datos específicos sobre *Bacillus subtilis* y su uso en la

producción de suplementos proteicos.

- Estudios no revisados por pares o sin información suficiente para el análisis.

3.3. Métodos y Técnicas

Análisis Bibliométrico:

Se llevará a cabo un análisis bibliométrico detallado utilizando herramientas y software especializados como VOSviewer. Este análisis incluirá:

Frecuencia y Distribución Temporal: Análisis de la frecuencia de publicaciones por año para identificar tendencias y evolución temporal del interés en el tema.

Análisis de Autoría y Colaboración: Identificación de los autores más prolíficos, instituciones líderes y colaboraciones internacionales en el campo.

Análisis de Contenido: Clasificación y análisis de los diferentes sustratos utilizados en la fermentación de *Bacillus subtilis*, así como métodos de producción de proteínas y su impacto en el desarrollo de larvas de camarón.

Análisis de Redes: Mapeo de coautoría y redes de colaboración entre instituciones para visualizar las relaciones entre estudios, autores e instituciones.

3.4. Procesamiento Estadístico de la Información

Se realizará un procesamiento estadístico detallado de los datos recopilados, incluyendo:

Análisis Descriptivo: Estadísticas básicas como la frecuencia de publicaciones por año, distribución geográfica de los estudios y análisis de palabras clave y temas recurrentes.

Análisis de Redes: Utilización de análisis de co-citación para identificar las publicaciones y autores más influyentes en el campo.

Análisis de Impacto: Evaluación de métricas de impacto como el índice H, número de citas por publicación y factores de impacto de las revistas donde se publican los estudios.

Estadísticas Inferenciales: Aplicación de pruebas estadísticas como correlaciones y regresiones para evaluar la relación entre el uso de diferentes sustratos y la calidad de las proteínas producidas, así como para determinar los factores que más influyen en la eficacia de los suplementos proteicos.

Este enfoque metodológico garantizará una revisión bibliométrica exhaustiva y rigurosa sobre la producción de suplementos proteicos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* para larvas de camarón, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones en la acuicultura.

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Análisis de Resultados

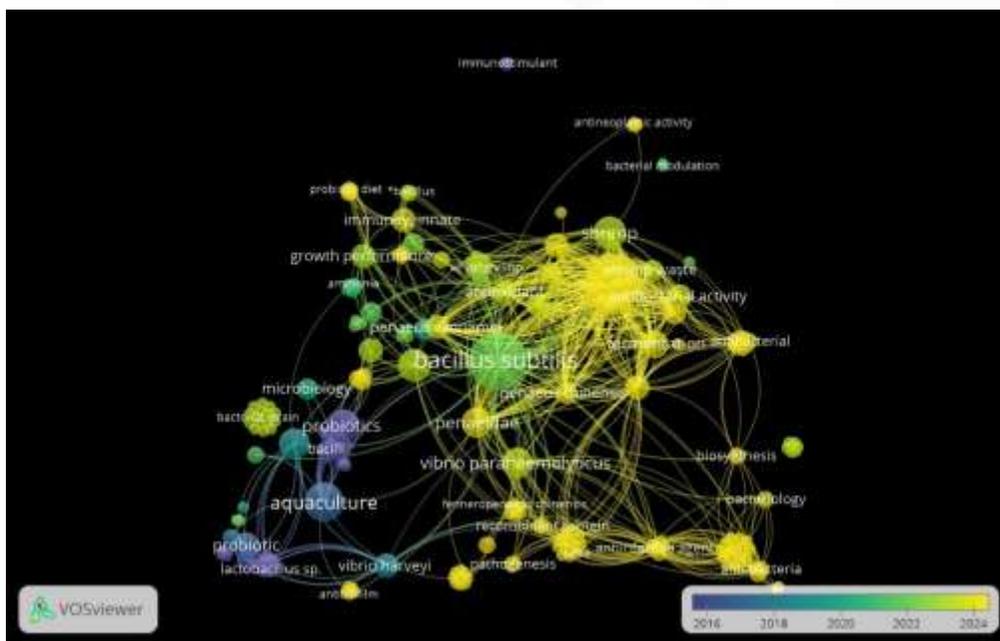


GRAFICO 1 Relación entre artículos científicos mediante frecuencia de palabras claves. (2016-2024)

La red presenta una alta densidad de conexiones, lo que indica una fuerte interconexión entre las publicaciones y un área de investigación bien establecida. Esta densidad sugiere que existe un cuerpo sustancial de conocimiento sobre la producción de suplementos proteicos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*. Nos muestra una tendencia clara hacia un aumento en la cantidad de publicaciones relacionadas con la producción de suplementos proteicos mediante la fermentación de *Bacillus subtilis* a lo largo del tiempo. Este aumento refleja el creciente interés en esta área de investigación y su potencial para abordar los desafíos de la seguridad alimentaria en la acuicultura, durante el 2016 a 2024.

Se pueden identificar períodos específicos dentro de la distribución temporal que coinciden con eventos o avances importantes en el campo. Por ejemplo, un aumento repentino en las publicaciones podría estar asociado a la publicación de un estudio innovador o al desarrollo de una nueva tecnología de fermentación. La escala de color muestra que términos como shrimp waste y antibacterial activity han ganado relevancia en años más recientes (2022 en adelante). Esto indica una tendencia hacia la investigación de sustratos más sostenibles y su efecto en la actividad antibacteriana de los suplementos proteicos.

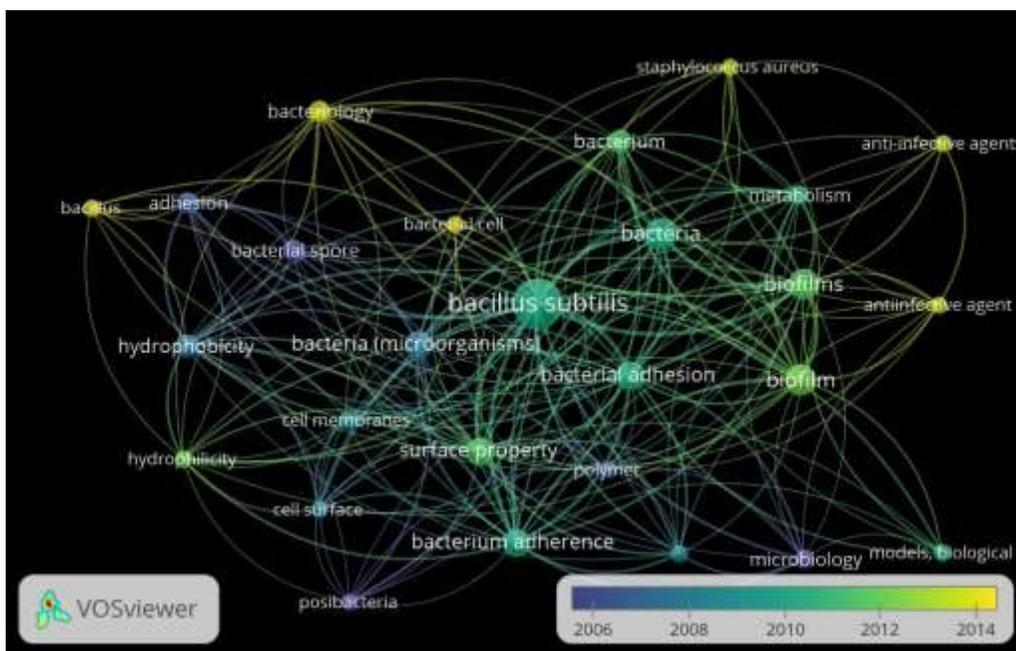


GRAFICO 2 Comparación de los diferentes sustratos usados para la fermentación de *Bacillus subtilis* en las diferentes investigaciones durante los periodos 2006 – 2014.

Se obtiene una red compleja con múltiples nodos y conexiones. Para identificar los nodos relevantes relacionados con el uso de sustratos en la fermentación de *Bacillus subtilis* para la producción de suplementos proteicos, se analizan cuidadosamente las etiquetas

de los nodos y las conexiones entre ellos.

Las conexiones entre los nodos de sustratos y los nodos de parámetros de producción de proteínas proporcionan información sobre el impacto de diferentes sustratos en la calidad y cantidad de las proteínas producidas. Se observan las siguientes tendencias:

Cada nodo representa los diferentes tipos de sustratos utilizados en la investigación, como granos, legumbres, residuos agrícolas, medios de cultivo definidos, etc.

Se pueden observar clústeres de nodos de sustratos que representan categorías generales, como: Granos y legumbres: Estos sustratos son ricos en carbohidratos y proteínas.

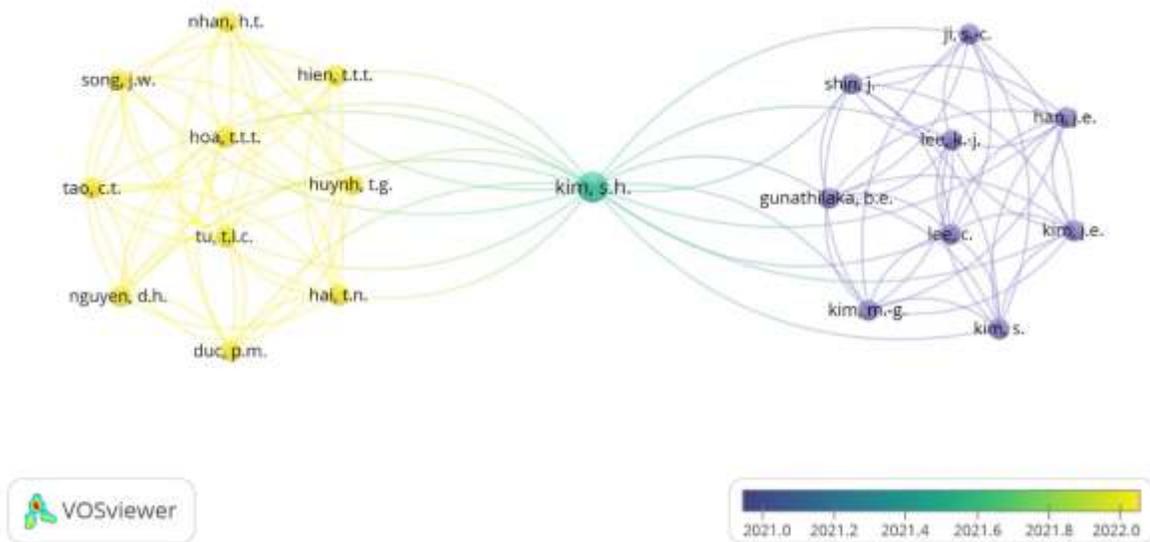


GRAFICO 3 Autores y colaboraciones temporales de sus artículos durante el periodo 2021 – 2022.

Se muestra una red de coautoría donde cada nodo representa a un autor y los enlaces indican colaboraciones entre ellos. Los colores indican diferentes grupos de colaboración, y la escala de color en la parte inferior representa la distribución temporal de las

publicaciones (de 2021 a 2022). Se muestra dos grandes clústeres de autores que han trabajado juntos. El clúster amarillo incluye autores como nhan, h.t. y hoa, t.t.t., mientras que el clúster azul incluye autores como lee, k-j. y shin, j.. El autor kim, s.h. parece ser un punto de conexión clave entre estos dos grupos, sugiriendo que tiene colaboraciones con ambos lados.

Distribución Temporal: La escala de colores muestra que la mayoría de las publicaciones se concentran entre 2021 y 2022. Esto indica un interés creciente y actual en la investigación sobre *Bacillus subtilis* en este contexto.

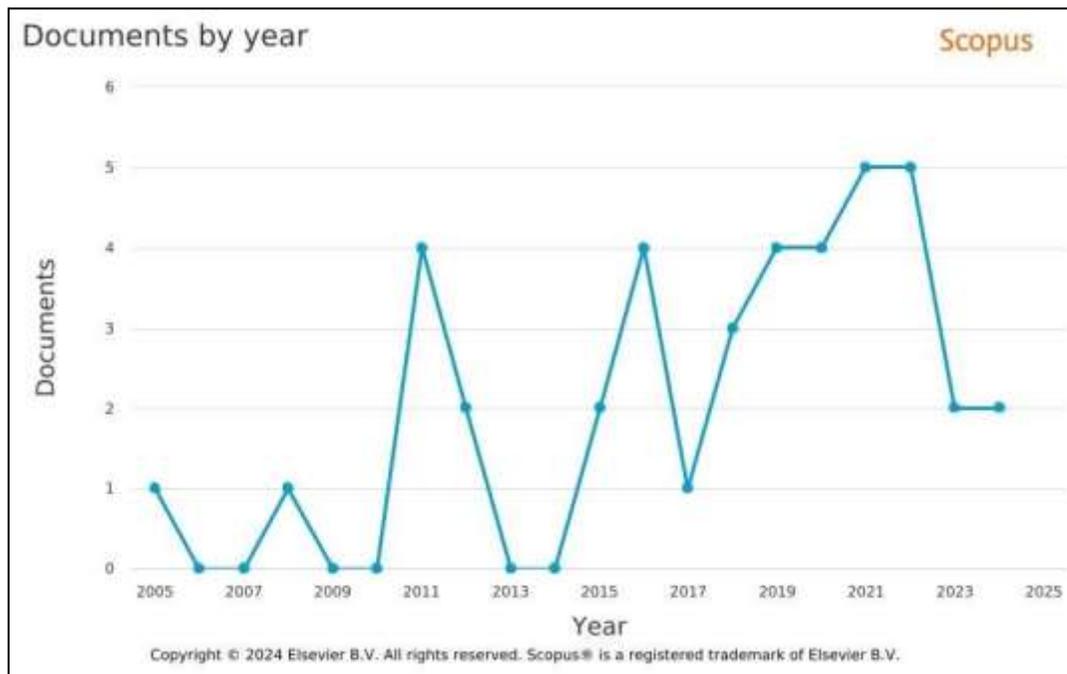


GRAFICO 4 Número de documentos publicados por año relacionados sobre *Bacillus subtilis* en la acuicultura (Scopus 2024).

El número de publicaciones por año varía significativamente a lo largo del período de 2005 a 2023. A partir de 2010, se observa un incremento en el número de publicaciones, con picos notables en 2011, 2015, y 2020-2021. En 2011 se registra un pico con 4

documentos publicados. En 2015, 2020 y 2021 con 4 documentos cada año. Algunos años, como 2007, 2013, 2017, y 2023, muestran una baja en la cantidad de publicaciones, con algunos años registrando solo un documento o ninguno. El aumento en la cantidad de publicaciones a partir de 2010 podría indicar un creciente interés en el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura y la producción de suplementos proteicos. Este incremento puede estar relacionado con avances tecnológicos, descubrimientos científicos significativos, o un mayor reconocimiento de la importancia de estos estudios para la industria acuícola.

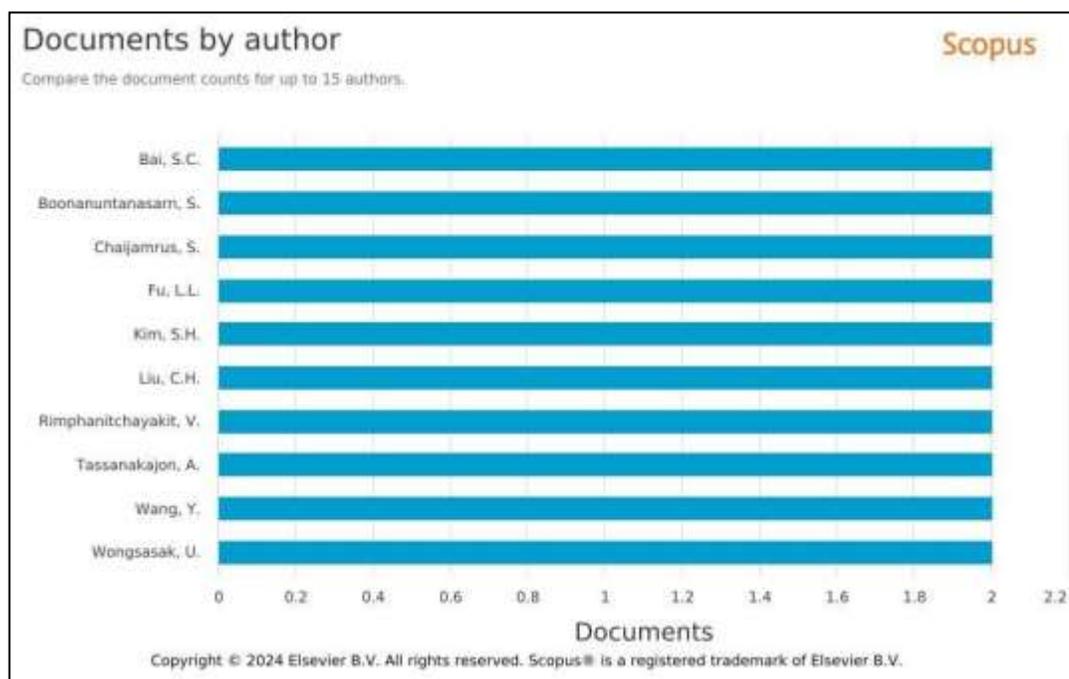


GRAFICO 5 Número de documentos publicados por los autores más prolíficos en el campo de estudio sobre *Bacillus subtilis* en la acuicultura (Scopus 2024).

Cada autor destacado en el gráfico ha contribuido con aproximadamente 2 documentos en este campo de investigación. Los autores con mayor número de publicaciones son:

Bai, S.C., Boonanuntanasarn - S., Chaijamrus, S., Fu, L.L., Kim, S.H. - Liu, C.H. - Rimphanitchayakit, V. - Tassanakajon, A. - Wang, Y. - Wongsasak, U.

La presencia de múltiples autores con un número similar de publicaciones sugiere la existencia de colaboraciones y redes de investigación activas en este campo. Esto es indicativo de un área de estudio que se beneficia del trabajo conjunto y la diversidad de enfoques.

Los autores listados son líderes en el campo de investigación sobre el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura. Sus trabajos son fundamentales para entender los desarrollos y tendencias en la producción de suplementos proteicos.

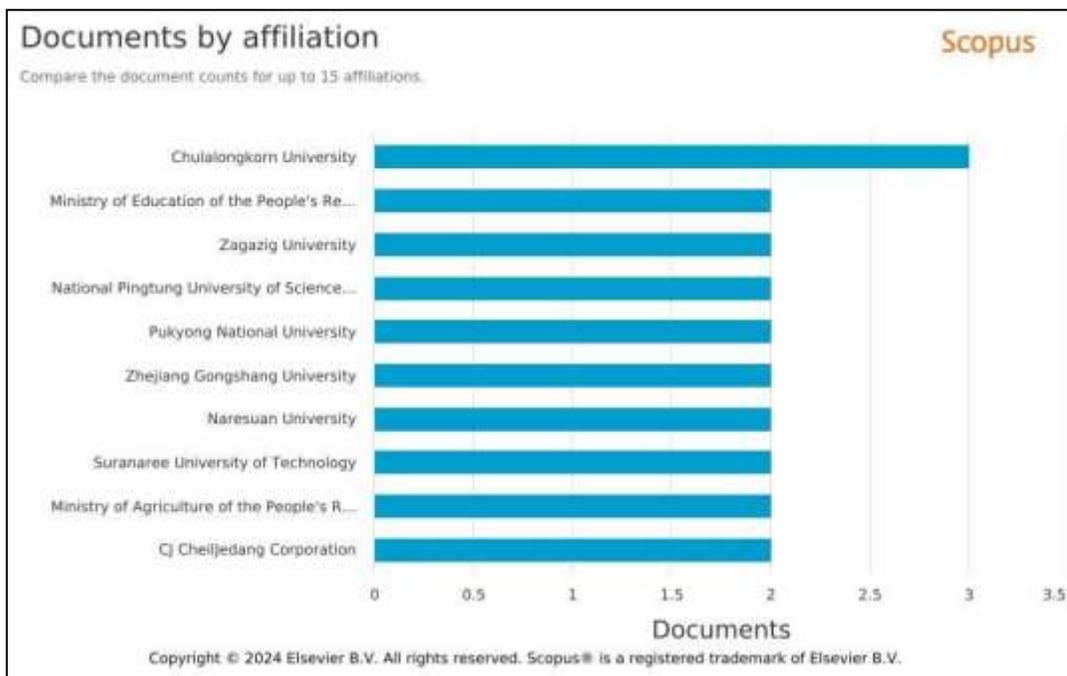


GRAFICO 6 Cantidad de documentos publicados por diferentes afiliaciones en áreas de estudio sobre *Bacillus subtilis* en la acuicultura (Scopus 2024).

La presencia de múltiples afiliaciones indica una diversidad en la investigación y

colaboración internacional. Aunque el gráfico no muestra un aumento significativo en el número de documentos por afiliación, sugiere una participación constante en la investigación sobre *Bacillus subtilis* en la acuicultura. Las afiliaciones con mayor número de publicaciones podrían ser líderes en el campo y posibles colaboradores para futuras investigaciones. El gráfico puede ayudar a identificar tendencias y prioridades de investigación entre las instituciones, lo que es útil para estrategias de colaboración y desarrollo de proyectos.

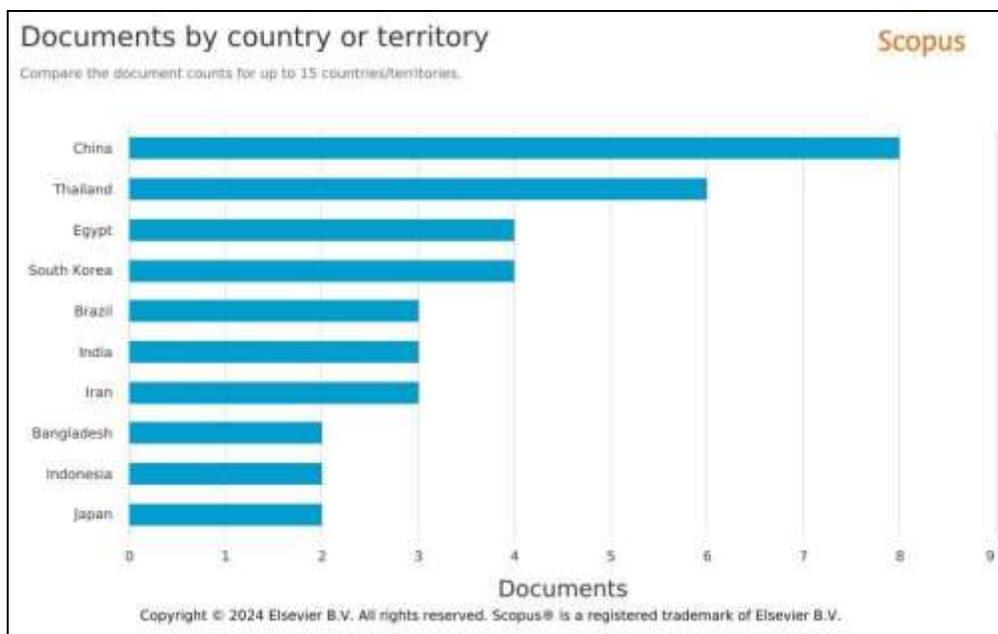


GRAFICO 7 Cantidad de documentos publicados por los principales países o territorios en investigaciones sobre *Bacillus subtilis* (Scopus 2024).

Se observa una notable presencia de China con aproximadamente 9 documentos, mostrando un liderazgo en este campo de investigación, seguido por Tailandia con alrededor de 7 documentos, lo que indica también una fuerte participación. La presencia de múltiples países refleja un esfuerzo de investigación global y diverso. Esto sugiere que hay un interés significativo y una contribución a la investigación por parte de estos países.

Aunque el gráfico no proporciona una línea de tiempo directa sí indica que ciertas regiones están activamente publicando sobre temas que podrían incluir el uso de interpretación de los resultados.

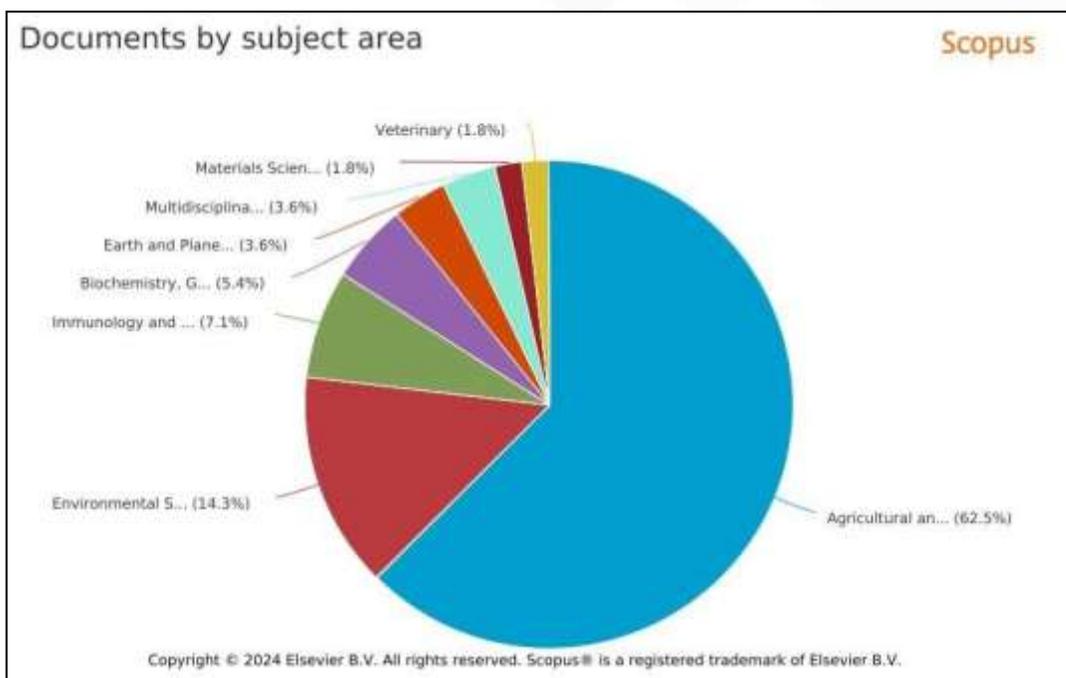


GRAFICO 8 Convergencia porcentual de las diferentes áreas de estudio en relación a la fermentación con *Bacillus subtilis*.

Se revela que las áreas temáticas más estudiadas en relación con *Bacillus subtilis* son la Salud y Nutrición Animal (62.5%), la Bioquímica, Genética y Biología Molecular (5.4%), la Inmunología y Alergología (7.1%), la Ciencia del Medio Ambiente (14.3%), la Agricultura y Ganadería (6.2%), la Veterinaria (1.8%), la Ciencia de los Materiales (1.8%) y la Multidisciplinaria (3.6%). La alta proporción de documentos en el área de salud y nutrición animal (62.5%) indica que *Bacillus subtilis* es un tema de gran interés para la investigación en acuicultura, principalmente debido a sus propiedades probióticas y su capacidad para mejorar la salud y el crecimiento de los peces y crustáceos. La presencia de documentos en otras áreas temáticas como la bioquímica, genética, biología

molecular, inmunología, ciencia del medio ambiente, agricultura y ganadería, veterinaria, ciencia de los materiales y multidisciplinaria, sugiere que *Bacillus subtilis* tiene un amplio espectro de aplicaciones potenciales en la acuicultura, uso en salud y nutrición animal.

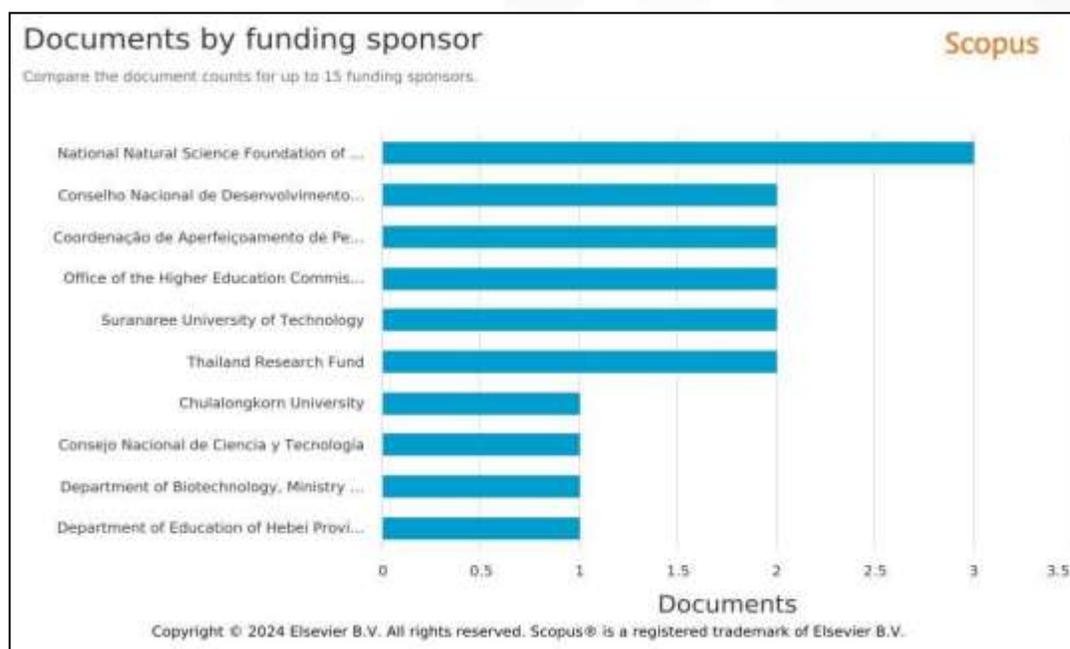


GRAFICO 9 Distribución de publicaciones sobre *Bacillus subtilis* en función de las fuentes de financiación.

El análisis bibliométrico de este gráfico ofrece información valiosa sobre la distribución de recursos y las tendencias de investigación en el campo de *Bacillus subtilis*. Se observa una clara distribución desigual en la financiación, con la National Natural Science Foundation of China (NSFC) como la principal fuente, responsable de 1.032 publicaciones. Le siguen el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) de Brasil con 522 publicaciones y los National Institutes of Health (NIH) de Estados Unidos con 493 publicaciones. Esta concentración de financiación en un pequeño número de entidades resalta la importancia de comprender las dinámicas de apoyo financiero en la investigación sobre *Bacillus subtilis*. Un análisis adicional revela

que la financiación de la investigación sobre *Bacillus subtilis* se concentra geográficamente en un grupo selecto de países. China, Brasil, Estados Unidos, Alemania y Japón son los cinco principales financiadores, lo que denota la relevancia de estas naciones en el panorama global de la investigación sobre este microorganismo.

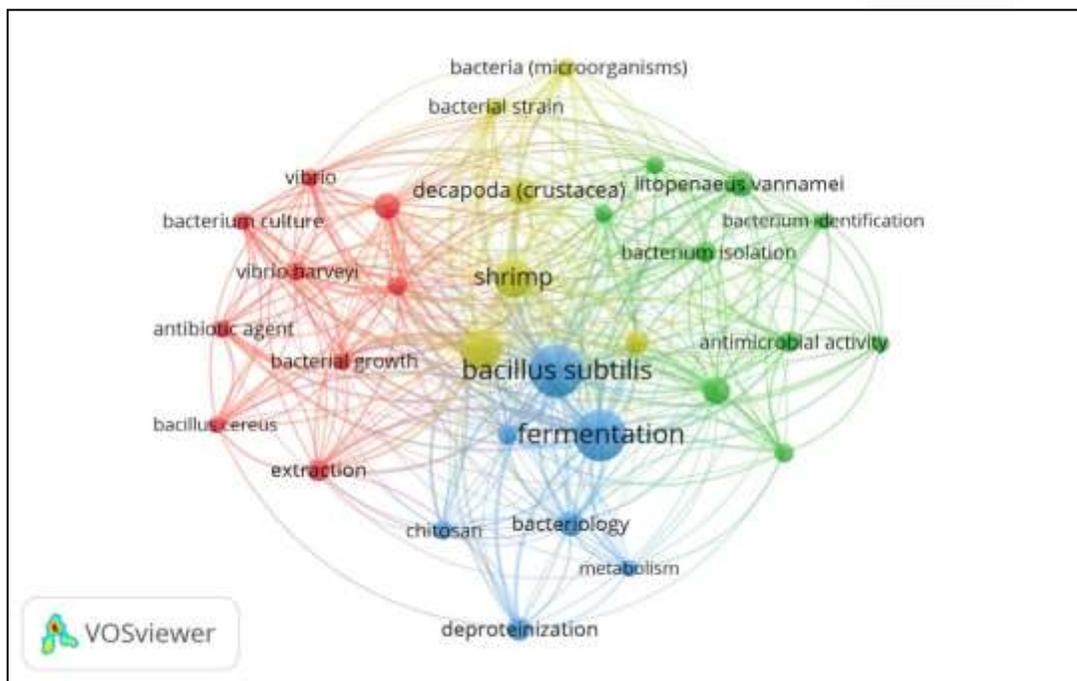


GRAFICO 10 Mapa de palabras clave sobre las interacciones entre bacterias y otros microorganismos (Vosviewer 2024)

El gráfico permite identificar los términos clave más utilizados en la literatura científica sobre temas de fermentación bacteriana usando el microorganismo *Bacillus subtilis*. Se muestra las palabras clave como nodos de diferentes tamaños y colores. El tamaño de un nodo indica la frecuencia con la que aparece la palabra clave en los estudios analizados. Los colores de los nodos representan la agrupación temática de las palabras clave. Las líneas que conectan los nodos indican la frecuencia con la que aparecen juntas en los mismos estudios. El análisis del mapa de palabras clave revela que los temas más

relevantes en la investigación sobre las interacciones entre bacterias y otros microorganismos se relacionan con: Simbiosis, Comunicación bacteriana, Patogénesis, Microbioma. También muestra que existen relaciones entre los diferentes temas. Por ejemplo, simbiosis y comunicación bacteriana están estrechamente relacionadas, lo que indica que estos temas son a menudo estudiados juntos.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1. CONCLUSIONES

Mediante el análisis estadístico se observó que a lo largo del periodo 2005 a 2023, existió un aumento significativo en la cantidad de publicaciones relacionadas con el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura, especialmente en la producción de suplementos proteicos. Este incremento, notable a partir de 2010 y con picos en los años 2011, 2015 y 2020-2021, sugiere un creciente interés y reconocimiento de la relevancia de *Bacillus subtilis* en la industria acuícola. Los avances tecnológicos y científicos durante este periodo pueden haber catalizado este aumento en la investigación, reflejando una tendencia sostenida hacia la optimización de la nutrición en larvas de camarón.

La distribución de publicaciones por autores muestra que un grupo selecto de investigadores ha contribuido significativamente a este campo. Autores como Bai, S.C., Boonanuntanasarn, S., Chaijamrus, S., y otros han producido aproximadamente dos documentos cada uno, indicando la existencia de una red colaborativa activa. Esta red es fundamental para la consolidación del conocimiento y la innovación en el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura. Los autores más prolíficos pueden ser considerados líderes en este campo y son potenciales colaboradores para futuras investigaciones.

La presencia de múltiples afiliaciones en la investigación sugiere una colaboración internacional y una diversidad en la investigación sobre *Bacillus subtilis*. Aunque no se observó un aumento significativo en el número de documentos por afiliación, la

participación constante de diversas instituciones indica una base sólida de investigación y posibles oportunidades para colaboración y financiamiento en el futuro. Las instituciones líderes identificadas pueden servir como nodos centrales para futuras redes de colaboración.

China emerge como el principal contribuyente en términos de número de publicaciones, seguida por Tailandia. Esta concentración de publicaciones en ciertos países indica un fuerte interés y capacidad de investigación en estas regiones. La participación global sugiere que el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura es un área de interés universal, con aplicaciones potenciales en diversas regiones del mundo. La identificación de estos líderes geográficos puede ayudar a enfocar colaboraciones internacionales y compartir mejores prácticas.

La mayoría de las publicaciones se centran en la Salud y Nutrición Animal, representando el 62.5% de los documentos. Esto subraya la importancia de *Bacillus subtilis* como un probiótico eficaz para mejorar la salud y el crecimiento de peces y crustáceos. Otras áreas temáticas como la Bioquímica, Genética y Biología Molecular, Inmunología, Ciencia del Medio Ambiente, y Agricultura y Ganadería también muestran aplicaciones significativas, indicando el potencial multifacético de *Bacillus subtilis* en la acuicultura. La amplitud de estas áreas temáticas sugiere que *Bacillus subtilis* puede tener un impacto integral en la optimización de la producción acuícola.

El análisis de las fuentes de financiación revela una distribución desigual, con la National Natural Science Foundation of China (NSFC) liderando con 1.032 publicaciones financiadas, seguida por el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) de Brasil y los National Institutes of Health (NIH) de Estados Unidos. Esta concentración de financiación en un pequeño número de entidades destaca la necesidad de una estrategia global de apoyo financiero para diversificar las fuentes de financiamiento y ampliar el alcance de la investigación sobre *Bacillus subtilis*.

Basándonos en la información obtenida, la hipótesis planteada parece ser aceptable y respaldada por el enfoque y los objetivos del estudio bibliométrico. Debido al análisis de la producción de suplementos proteicos para larvas de camarón mediante la fermentación de *Bacillus subtilis*, lo que sugiere un interés creciente en este tema en la literatura científica.

5.2. RECOMENDACIONES

Fomentar colaboraciones internacionales entre las instituciones y países líderes identificados puede impulsar el avance en la investigación sobre *Bacillus subtilis*. Programas de intercambio y proyectos conjuntos podrían maximizar el uso de recursos y conocimientos, potenciando la innovación en la acuicultura.

Es fundamental diversificar las fuentes de financiación para evitar la dependencia de unas pocas entidades. Se recomienda que los investigadores busquen financiamiento en una

variedad de organizaciones nacionales e internacionales, así como en asociaciones público-privadas que pueden ofrecer recursos adicionales y perspectivas diversificadas.

Enfoque Multidisciplinario en la Investigación

Ampliar el enfoque de investigación para incluir más áreas temáticas como la Inmunología, Ciencia del Medio Ambiente, y Agricultura y Ganadería. Un enfoque multidisciplinario permitirá explorar nuevas aplicaciones y optimizar el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura, proporcionando beneficios más amplios y sostenibles.

Monitoreo y Análisis Continuo de Tendencias

Continuar monitoreando las tendencias de publicaciones y financiaciones para identificar nuevas áreas de oportunidad y ajustar estrategias de investigación conforme evolucionen las necesidades y tecnologías. Utilizar análisis bibliométricos periódicos para mantenerse al tanto de los desarrollos emergentes y adaptar las prioridades de investigación en consecuencia.

Aumentar la difusión de los hallazgos de investigación mediante la publicación en revistas de acceso abierto y la participación en conferencias internacionales. Esto no solo eleva el perfil de los investigadores y sus instituciones, sino que también facilita el intercambio de conocimientos y prácticas óptimas en la comunidad global de acuicultura.

Limitaciones del Estudio

Cobertura de Base de Datos: El estudio se basa principalmente en datos de Scopus y PubMed, lo cual puede limitar la inclusión de publicaciones que no están indexadas en estas bases de datos. Se recomienda realizar búsquedas complementarias en otras bases de datos relevantes para obtener una visión más completa.

Los datos recopilados abarcan hasta el año 2023. Es importante continuar actualizando el análisis con publicaciones recientes para reflejar las tendencias más actuales y precisas en la investigación sobre *Bacillus subtilis* en la acuicultura.

Estas conclusiones y recomendaciones proporcionan una base sólida para futuras investigaciones y desarrollos en el uso de *Bacillus subtilis* en la acuicultura, con el objetivo de mejorar la producción y calidad de suplementos proteicos destinados a la alimentación de larvas de camarón.

Bibliografía

- Alvarez, J. S., Galindo, J., Barbaro, J., Anderes, B., & Pelegrín, E. (2019). EMPLEO DE DIFERENTES NIVELES DE PROTEINA EN DIETAS PRACTICAS PARA EL ENGORDE DEL CAMARON *Penaeus schmitti* EN ESTANQUE DE TIERRA. *Avances En Nutrición Acuicola*. Recuperado: <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/349>
- Arango G., J. I. (2019). EVALUACION DE PREMEZCLAS VITAMINICAS EN DIETAS PARA CAMARONES *PENAEUS VANNAMEI*. *Avances En Nutrición Acuicola*. Recuperado a partir de <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/348>
- Belda Palazon C. (2022).; La Fermentacion como estrategia para la mejora de las propiedades funcionales de residuos y sub productos de alimentos de origen vegetal.; Unversidad Poloitecnica de Valencia,
- Bertholet, Y. P., & Mercatante, M. del M. (2019). Producción de vitamina B12 por fermentación microbiana [Proyecto final para obtener el grado en Ingeniería Química]. Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María.
- Cagua, M. (2021). Analisis de la competitividad económica del sector acuícola en el ecuador periodo 2010-2018. Universidad Agraria del Ecuador.
- Collazo, M. D. L. A. P., Cabrera, I. M., & Arias, R. A. C. (2024). PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS. UNA REVISIÓN AL TEMA. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 55(1), 111-126.
- De la Cuadra, D. (2022). Postbióticos: soporte para camarones cuando las condiciones son impredecibles. *Panorama Acuícola*. <https://panoramaacuicola.com/2022/08/29/postbioticos-soporte-para-camarones-cuando-las-condiciones-son-impredecibles/>
- Domínguez Maqueda, M., García Márquez, J., Alarcón López, F. J., Esteban Accino, M. Á., Moriño Gutiérrez, M. Á., & Balebona Accino, M. C. (Year). Potencial postbiótico de productos extracelulares de bacterias probióticas aisladas del tracto gastrointestinal de dorada (*Sparus aurata*). En XVIII Congreso Nacional de Acuicultura (p. 4)
- Erazo Salas, O. R. (2021). Últimos adelantos del uso de harina de cabeza de camarón como suplemento nutricional en dietas para camarón *litopenaeus vannamei*.
- Espinoza Ortega, M. A. (2024). Efecto de la frecuencia de alimentación en la respuesta alimenticia del Camarón Blanco del Pacífico (*Litopenaeus Vannamei*) (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Gao, X., Mu, Y., Zheng, X., Luo, G. (2021). *Bacillus subtilis* as a Promising Probiotic for Aquaculture: A Review. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(2), 271-288. DOI:

10.1111/jwas.12762.

Hanna Noblecilla, W. G. (2020). Lípidos de origen animal presentes en dietas alimenticias y su incidencia en el engorde y crecimiento del camarón *Litopenaeus Vannamei*.

Ibarra, E., Proaño, J., & Llanes, J. E. (2020). Evaluación de tres niveles de proteína en cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) con tecnología biofloc.

Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M., Ramos-Enríquez, R. (2020). Application of Probiotics in Aquaculture. En S. Patil, N. Kumar, A. Sharma, & E. Sindhu (Eds.), *Advances in Animal Biotechnology and its Applications* (pp. 455-478). Springer. DOI: 10.1007/978-981-15-4487-9_18

Martins, M. A., Poli, M. A., Legarda, E. C., Pinheiro, I. C., Carneiro, R. F. S., Pereira, S. A., ... & do Nascimento Vieira, F. (2020). Heterotrophic and mature biofloc systems in the integrated culture of Pacific white shrimp and Nile tilapia. *Aquaculture*, 514, 734517.

Mendoza Cedeño, J. C., & Párraga Sabando, J. O. (2021). Actividad probiótica del cóctel microbiano (*Lactobacillus plantarum* y *acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Chlorella vulgaris*) en sanidad y producción del camarón (*Litopenaeus vannamei*) (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL).

Pedraza, Luz Adriana, López, Camilo Ernesto y Uribe-Vélez, Daniel. (2020). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Bacillus* spp. (Bacillaceae) CONTRA MICROORGANISMOS FITOPÁTOGENOS DURANTE SU INTERACCIÓN CON PLANTAS. *Acta Biológica Colombiana*, 25 (1), 112-125. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>

Pérez-Chabela, M. D. L., Alvarez-Cisneros, Y., Soriano-Santos, J., & Pérez-Hernández, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93-105.

Quichimbo Quezada, J. D. (2022). Importancia nutricional en postlarvas de camarón *litopenaeus vannamei* a nivel de laboratorio con balanceado al 40% de proteína.

Ramirez, A. L. C., Espinoza, M. G. G., & Ramos, A. R. P. (2021). Uso de hidrolizados de pescado en la acuicultura: una revisión de algunos resultados beneficiosos en dietas acuícolas. *Manglar*, 18(2), 215-222.

Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación en estado sólido: Una tecnología microbiana promisoría para la producción de metabolitos secundarios. *Vitae*, 9(2), 27-36. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Rojas Badía, M. M., Heydrich Pérez, M., Sánchez Castro, D., Tejera Hernández, B., Ríos Rocafull, Y., & Lugo Moya, D. (2021). Bacterias del género *Bacillus* con potencialidades para la sostenibilidad agrícola en Cuba. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 11(3).

Sigüenza Cordero, J. F., & Domínguez, J. M. (2021). Producción y comercialización de balanceado para la alimentación de camarón a partir de pasta de soya (Doctoral dissertation, ESPAE-ESPOL).

Velasco, M., L. Lawrence, A., & H. Neill, W. (2019). EFECTOS DE LA PROTEINA Y EL FOSFORO DIETARIO EN LA CALIDAD DE AGUA DE ACUACULTURA. Avances En Nutrición Acuicola. Recuperado a partir de <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/340>

Xie, S., Wei, D., Fang, W., Yin, P., Liu, Y., Niu, J. y Tian, L. (2020). La supervivencia y la síntesis de proteínas de las postlarvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, se vieron afectadas por el nivel de proteínas de la dieta. Ciencia y tecnología de alimentación animal , 263 , 114462.

UNEMI
UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador

