UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

"EFECTO ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS ASOCIADAS A MORTALIDAD LARVARIA EN *Aulacomya atra* (CHORO)"

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. Giuliana Judith Gomez Chino

ASESOR:

MSc. Alejandro Marcelo Gonzales Vargas

COASESOR:

Mg. Sheyla Amanda Zevallos Feria

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO PESQUERO

MOQUEGUA - PERÚ

2026

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA PESQUERA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
UNAM
FEDATARIO

Folio Nº 0055

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

Tesis : [X]
Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]
Otro: ..... : [ ]

II. Documento de aprobación para la sustentación:
RESOLUCIÓN DE CONSEJO DE FACULTAD N° 171-2026-CF-FAIN-UNAM

Fecha: 28/05/2026

III. El jurado ha dictaminado la (el) TESIS, TITULADO:
EFECTO ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE BACTERIAS PATOGENOS ASOCIADAS A MORTALIDAD LARVARIA EN Aulacomya atra (CHARO)

Bachiller: GIULIANA JUDITH GOMEZ CHINO
Asesor Principal: MSC. ALEJANDRO MARCELO GONZALES VARGAS
Co-Asesor: Mg. SHEYLA AMANDA ZEVALLOS FERIA

IV. Se dictamina:
Como: APROBADO por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: DIECIOCHO (18) por lo que; Sí [X] No [ ]

Opta el Título Profesional de INGENIERO PESQUERO.

Siendo las 17:30 horas, del 28 de MAYO del año 2026 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Dr. WALTER MERMA CRUZ
Presidente

MSc. SUCY A. CABALLERO APAZA
Primer Miembro

MSc. ELVIS A. PAREJA GRANDA
Segundo Miembro

GIULIANA J. GOMEZ CHINO
Bachiller

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

"EFECTO ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS ASOCIADAS A MORTALIDAD LARVARIA EN *Aulacomya atra* (CHORO)"

Tesis sustentada y aprobada el jueves 28 de Mayo de 2026; estando de jurado calificador y asesores integrado por:

Presidente : ----------
Dr. Walter Merma Cruz

Primer miembro : ----------
MSc. Sucy Alicia Caballero Apaza

Segundo miembro : ----------
Mg. Elvis Alberto Pareja Granda

Asesor : ----------
MSc. Alejandro Marcelo Gonzales Vargas

Asesora : ----------
Dra. Sheyla Amanda Zevallos Feria

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por brindarme fortaleza, salud y perseverancia para superar cada desafío presentado durante mi formación profesional.

A mis padres, Arnaldo y Rosa, por su amor incondicional, apoyo constante, sacrificio y confianza a lo largo de toda mi etapa académica. Gracias por ser mi mayor motivación para alcanzar mis metas.

Finalmente, dedico esta tesis a todas las personas que creyeron en mis capacidades y me impulsaron a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme culminar satisfactoriamente esta etapa académica y por brindarme la fortaleza necesaria para afrontar los desafíos durante el desarrollo de esta investigación.

A la Universidad Nacional de Moquegua, por la formación académica recibida y a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, quienes compartieron sus conocimientos y experiencias, contribuyendo a mi formación profesional.

A mis asesores de tesis, el MSc. Alejandro Gonzales por su orientación y apoyo contante y a la Dra. Sheyla Zevallos por su confianza, paciencia, por guiarme en todo este camino y hacer posible que este trabajo de investigación se desarrolle.

A la Dra. Rocío Urtubia, de la Universidad Católica del Norte-Coquimbo; al Dr. Beder Ramírez, del IMARPE sede Tumbes; y al Dr. Marco Medina, de la sede central del IMARPE, expreso mi más sincero agradecimiento por su orientación, apoyo y valiosos aportes desde que surgió la idea de esta investigación. Sus conocimientos, experiencias y observaciones fueron fundamentales para fortalecer este estudio, corregir errores y ampliar mi comprensión sobre un tema que fue nuevo para mí.

Finalmente, agradezco a mi familia y amigos: Milagros, Ana, Mary, Henry, Jose Luis, Luisa, Mery, Arnold y a todos aquellos que fueron parte de mi vida académica y me brindaron su cariño, su apoyo incondicional, comprensión y constante motivación, que me permitieron alcanzar esta meta profesional.

Muchas gracias.

RESUMEN

En el Perú, el choro (*Aulacomya atra*) destaca por su alto valor nutricional, sin embargo, sus bancos naturales han ido disminuyendo por la sobreexplotación, por ello se ha optado por desarrollar cultivos en medio controlado como alternativa para conservar el recurso. Sin embargo, estos enfrentan problemas de mortalidad principalmente en la etapa pre metamórfica, presuntamente vinculados a la presencia de bacterias. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto antagonista de bacterias probióticas sobre bacterias patógenas, previamente aisladas y asociadas a la mortalidad larvaria. Para ello se analizaron larvas sanas y moribundas, obteniendo un crecimiento bacteriano promedio de $5{,}54 \times 10^{7}$ UFC/g y $1{,}24 \times 10^{8}$ UFC/g en el medio PCA, respectivamente; mientras que en el medio TCBS, solo las larvas moribundas presentaron crecimiento del género Vibrio ($2{,}19 \times 10^{3}$ UFC/g), si bien en ambos casos no hubo diferencia significativa ($p>0{,}05$), su presencia evidenció un desequilibrio bacteriano. Se aislaron un total de 33 cepas, de las cuales 22 fueron potencialmente patógenas: Pseudomonas, Aeromonas, Vibrio, Shiguella, Escherichia y Enterococcus; mientras que 11 fueron potencialmente probióticas: Bacillus y Lactobacillus. Fueron seleccionadas 4 bacterias patógenas (P2, P4, P20 y P22) y 4 probióticas (B1, B3, B5 y B9). Tras realizar las pruebas de antagonismo, la cepa B3 mostró mayor zona de inhibición (1,97± 1,72 mm) frente al resto de los probióticos, siendo significativamente superior al control ($p = 0{,}019$). Los resultados obtenidos demostraron la diversidad bacteriana y la existencia de una cepa con potencial probiótico que podría mejorar la supervivencia larvaria en *Aulacomya atra*.

Palabras clave: *Patógenos, probióticos, antagonismo, Aulacomya atra, larvicultura.*

ABSTRACT

In Peru, the mussel (*Aulacomya atra*) is valued for its high nutritional content; however, its natural stocks have been declining due to overexploitation. Therefore, controlled culture has been developed as an alternative to conserve the resource. However, these cultures face mortality problems, mainly in the pre-metamorphic stage, presumably linked to the presence of bacteria. This study aimed to evaluate the antagonistic effect of probiotic bacteria on pathogenic bacteria, previously isolated and associated with larval mortality. Healthy and moribund larvae were analyzed, obtaining an average bacterial growth of 5.54×10^7 CFU/g and 1.24×10^8 CFU/g in the PCA medium, respectively. While in TCBS medium, only moribund larvae showed growth of the genus Vibrio (2.19×10^3 CFU/g), although in both cases there was no significant difference ($p>0.05$), their presence indicated a bacterial imbalance. A total of 33 strains were isolated, of which 22 were potentially pathogenic: Pseudomonas, Aeromonas, Vibrio, Shigella, Escherichia, and Enterococcus; while 11 were potentially probiotic: Bacillus and Lactobacillus. Four pathogenic bacteria (P2, P4, P20, and P22) and four probiotic bacteria (B1, B3, B5, and B9) were selected. After performing antagonism tests, strain B3 showed the largest inhibition zone (1.97 ± 1.72 mm) compared to the other pathogens, being significantly superior to the control ($p = 0.019$). The results obtained demonstrated bacterial diversity and the existence of a strain with probiotic potential that could improve larval survival in *Aulacomya atra*.

Keywords: *Pathogens, probiotics, antagonism, Aulacomya atra, larviculture.*

ÍNDICE

ÍNDICE **6**

INTRODUCCIÓN **13**

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA **15**

1.1. DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 15

1.1.1. Descripción del problema *15*

1.1.2. Formulación del problema *16*

1.1.2.1. Interrogante general 16

1.1.2.2. Interrogantes específicas 16

1.2. OBJETIVOS 17

1.2.1. Objetivo General *17*

1.2.2. Objetivos Específicos *17*

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA 17

1.4. HIPÓTESIS 19

1.4.1. Hipótesis general *19*

1.4.1.1. Hipótesis nula general 19

1.4.1.2. Hipótesis alternativa general 19

1.4.2. Hipótesis específicas *19*

1.4.2.1. Hipótesis específica 01 19

1.4.2.2. Hipótesis específica 02 19

1.4.2.3. Hipótesis específica 03 20

1.4.2.4. Hipótesis específica 04 20

1.5. VARIABLES 20

1.5.1. Variable independiente *20*

1.5.2. Variable dependiente *20*

II. MARCO TEÓRICO **22**

2.1. ANTECEDENTES 22

1.1.1. Antecedentes internacionales *22*

1.1.2. Antecedentes nacionales *23*

2.2. BASES TEÓRICAS 25

2.2.1. Biología de la especie *25*
2.2.1.1. Taxonomía 25
2.2.1.2. Distribución 26
2.2.1.3. Hábitat 27
2.2.1.4. Alimentación 28
2.2.1.5. Reproducción 28
2.2.1.6. Ciclo de vida 29
2.2.2. Problemas en larvicultura de moluscos bivalvos *30*
2.2.3. Bacterias en acuicultura *30*
2.2.3.1. Bacterias patógenas 30
2.2.3.2. Bacterias probióticas 32
2.2.4. Medios de cultivo *33*
2.2.4.1. Agar GSP (Agar Selectivo para Pseudomonas y Aeromonas) 33
2.2.4.2. Agar TCBS (tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa) 34
2.2.4.3. PCA (Plate count agar) 35
2.2.4.4. Centrimide Agar 36
2.2.4.5. Agar Macconkey 37
2.2.4.6. Agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) 38
2.2.4.7. Agar Mueller-Hilton 39
2.2.5. Tipos de siembra *39*
2.2.5.1. Siembra por punción 40
2.2.5.2. Siembra en estrías 40
2.2.5.3. Siembra por agotamiento en estrías 41
2.2.5.4. Siembra por dispersión en superficie 42
2.2.5.5. Siembra por vertido en placa 42
2.2.5.6. Siembra con hisopo 43
2.2.6. Pruebas bioquímicas *43*
2.2.6.1. Tinción Gram 43
2.2.6.2. Prueba de catalasa 44
2.2.7. Pruebas moleculares *45*
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS 45
III. METODOLOGÍA 47
3.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN 47

3.1.1. Tipo de investigación ... *47*
3.1.2. Nivel de investigación ... *47*
3.2. ÁMBITO TEMPORAL Y ESPACIAL ... 47
3.2.1. Ámbito temporal ... *47*
3.2.2. Ámbito espacial ... *47*
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA ... 48
3.3.1. Población ... *48*
3.3.2. Muestra ... *48*
3.4. INSTRUMENTOS ... 48
3.4.1. Materiales, equipos, reactivos ... *48*
3.4.1.1. Materiales ... 48
3.4.1.2. Reactivos ... 49
3.4.1.3. Equipos: ... 49
3.5. PROCEDIMIENTOS ... 50
3.5.1. Determinación de las diferencias en la concentración de bacterias entre larvas sanas y moribundas de Aulacomya atra ... *50*
3.5.1.1. Recolección de muestras ... 50
3.5.1.2. Cuantificación de concentración bacteriana en larvas ... 52
3.5.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas en larvas sanas y moribundas ... *53*
3.5.2.1. Aislamiento en larvas sanas ... 53
3.5.2.2. Aislamiento en larvas moribundas ... 55
3.5.2.3. Caracterización fenotípica ... 55
3.5.2.4. Pruebas bioquímicas complementarias ... 56
3.5.3. Evaluación de la capacidad antagonista de bacterias con potencial probiótico frente a bacterias patógenas ... *58*
3.5.3.1. Conservación de cepas ... 58
3.5.3.2. Preparación de inóculo ... 59
3.5.3.3. Prueba de antagonismo ... 60
3.5.4. Identificación molecular de bacterias patógenas y probióticas ... *61*
3.6. ANÁLISIS DE DATOS ... 62
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ... 64
4.1. RESULTADOS ... 64

4.1.1. Diferencias de concentración bacteriana entre larvas sanas y moribundas 64
4.1.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas..... 66
4.1.3. Ensayos de antagonismo entre bacterias probióticas y patógenas..... 76
4.1.4. Identificación molecular..... 79
4.2. DISCUSIÓN 80
4.2.1. Concentración de bacterias..... 80
4.2.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas..... 81
4.2.3. Identificación molecular y antagonismo 83
V. CONCLUSIONES..... 85
VI. RECOMENDACIONES 86
VII. REFERENCIAS 87
VIII. ANEXOS 100

INDICE DE TABLAS

***Tabla 1**. Cuadro de operacionalización de variables 21*

***Tabla 2.** Patógenos bacterianos asociados al cultivo de moluscos en Chile citado por de la Fuente et al. (2015) 31*

***Tabla 3.** Actividad de bacterias probióticas contra bacterias patógenas de moluscos en Chile citado por de la Fuente et al. (2015) 33*

***Tabla 4.** Características de colonias crecidas en medio GSP 34*

***Tabla 5.** Crecimiento de colonias en medio TCBS según cepas de referencia 34*

***Tabla 6.** Características observadas después de incubación en medio Centrimide. 37*

***Tabla 7.** Especificaciones microbiológicas del medio Agar MacConkey 38*

***Tabla 8.** Respuesta de crecimiento y recuperación de cepas lácticas en medio MRS .. 39*

***Tabla 9.** Concentración de bacterias totales cultivables en medio PCA 64*

***Tabla 10.** Concentración de bacterias del género Vibrio en medio selectivo TCBS 66*

***Tabla 11.** Características morfologicas del aislamiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas provenientes de larvas moribundas 68*

***Tabla 12.** Cepas bacterianas potencialmente probióticas aisladas de muestras de larvas sanas 73*

***Tabla 13.** Zona de inhibición (mm) producida por cepas probióticas frente a bacterias patógenas 76*

***Tabla 14.** Identificación de cepas bacterianas aisladas por amplificación del gen ARNr 16S provenientes de larvas sanas y moribundas 76*

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Aulacomya atra (choro)* *26*
Figura 2. *Distribución geográfica de recurso Aulacomya atra (choro)* *27*
Figura 3. *Gónadas de ejemplares macho y hembra* *28*
Figura 4. *Ciclo de vida en la familia Mytilidae* *29*
Figura 5. *Características del género Bacillus* *32*
Figura 6. *Características visuales en especies del género Vibrio crecido en medio TCBS* *35*
Figura 7. *Características de colonias crecidas en medio PCA según cepas de referencia* *36*
Figura 8. *Diferenciación visual de bacterias según fermentación de lactosa* *37*
Figura 9. *Representación gráfica de siembra por punción* *40*
Figura 10. *Siembra por estrías en agar inclinado* *41*
Figura 11. *Procedimiento para siembra por agotamiento en estrías* *41*
Figura 12. *Siembra por dispersión en superficie* *42*
Figura 13. *Siembra por vertido en placa* *43*
Figura 14. *Procedimiento para tinción Gram* *44*
Figura 15. *Prueba catalasa positiva y negativa* *44*
Figura 16. *Ubicación del Laboratorio costero de IMARPE - Ilo* *48*
Figura 17. *Larvas moribundas en el cultivo* *50*
Figura 18. *Tanque de cultivo larvario de A. atra* *51*
Figura 19. *Separación de larvas de A. atra vivas y moribundas o muertas* *52*
Figura 20. *Centrifugado de muestras* *53*
Figura 21. *Condiciones anaerobias o microaerofilas para incubación en medio MRS* *54*
Figura 22 . *Diseño para siembra en placas – medio MRS para larvas sanas* *54*
Figura 23. *Diseño para siembra en placas para aislamiento* *55*
Figura 24. *Guía para clasificación morfológica de colonias bacterianas* *56*
Figura 25. *Tinción Gram aplicada a cepas aisladas* *57*
Figura 26. *Prueba de catalasa aplicada en cepas aisladas* *58*
Figura 27. *Conservación de cepas potencialmente patógenas y probióticas* *58*
Figura 28. *Composición de McFarland* *59*
Figura 29. *Ajuste de turbidez de suspensiones bacterianas* *60*

Figura 30. *Pruebas de antagonismo con 4 cepas potencialmente patógenas y 4 probióticas previamente seleccionadas* *61*
Figura 31. *Concentración bacteriana (UFC/g) por crecimiento en medio PCA* *65*
Figura 32. *Concentración bacteriana (UFC/g) por crecimiento en medio TCBS* ***¡Error! Marcador no definido.***
Figura 33. *Crecimiento de colonias bacterianas placas de PCA* *691*
Figura 34. *Crecimiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas en medio GSP y MacConke**y*** *69*
Figura 35. *Crecimiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas en medio TCBS* *70*
Figura 36. *Predominancia de características morfológicas en colonias aisladas de larvas moribundas* *69*
Figura 37. *Proporciones de tinción Gram y prueba catalasa según aislamiento de cepas bacterianas potencialmente patógenas* *71*
Figura 38. *Resultado de tinción Gram en cepas P7 y P8* *72*
Figura 39. *Distribución de UFC por grupo presuntivo en cepas bacterianas provenientes de larvas moribundas* *72*
Figura 40. *Colonias crecidas en medio MRS para aislar bacterias con potencial probiótico* *75*
Figura 41. *Tinción gram de resultado positivo para la cepa B5* *75*
Figura 42. *Predominancia de características morfológicas en colonias aisladas de larvas sanas* *74*
Figura 43. *Proporciones de tinción gram y prueba catalasa* *74*
Figura 44. *Gráfico de zona de inhibición efectuada por las 4 cepas de potencial probióticos contra los 4 patógenos seleccionadas + control* *77*
Figura 45. *Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P2* *77*
Figura 46. *Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P4* *77*
Figura 47. *Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P20* *78*
Figura 48. *Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P22* *78*

INTRODUCCIÓN

La acuicultura de moluscos bivalvos, a nivel mundial es una de las actividades de mayor importancia económica, debido a que contribuye a la seguridad alimentara; según los datos proporcionados por la FAO (2024) el valor de exportaciones de este grupo alcanzó los 6 000 millones de dólares el 2022, que representa el 3 % de exportaciones mundiales en recursos acuáticos. En el Perú, el choro (*Aulacomya atra*) destaca por su alto valor nutricional (Quispe, 2018); sin embargo, en zonas como Moquegua y Tacna, este recurso ha sido sobreexplotado, observándose como consecuencia la disminución de sus bancos naturales (IMARPE, 2007). Frente a ello, el desarrollar cultivos de *A. atra* en condiciones controladas constituye una alternativa sostenible para conservar el recurso y recuperar sus poblaciones naturales.

Sin embargo, el cultivo de *A. atra* enfrenta diversas limitaciones en la fase larvaria, una etapa crítica en la que los organismos tienen una alta vulnerabilidad a diferentes factores que afectan su supervivencia, destacando las enfermedades infecciosas ocasionadas en su mayoría por bacterias (54,9%), seguidas de virus (22,6%), parásitos (19,4%) y hongos (3,1%) (Kibenge *et al.*, 2012). Estos problemas, según experiencias de cultivo larval en otros moluscos bivalvos, pueden estar asociados a las altas densidades en el cultivo larval, bajos niveles de oxígeno, inadecuado tratamiento de agua, deficiencias en el alimento suministrado o trasmisión vertical de bacterias desde los reproductores (Elston, 1984; FAO, 2008; Riquelme *et al.*, 1994).

Tradicionalmente, el control y prevención de enfermedades en acuicultura se ha tratado mediante el uso de antibióticos; considerados compuestos con la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos no deseados (Barattini, 2014). Sin embargo, su uso excesivo podría provocar problemas de propagación de residuos de antibióticos y consecuentemente generar resistencia bacteriana en el medio acuático y llegar hasta el ser humano, convirtiéndose en un problema de salud pública (Barattini, 2014; Pepi y Focardi, 2021).

En este contexto, es necesaria la implementación de alternativas sostenibles y sobre todo seguras que permitan reducir la presencia de patógenos y mejorar la supervivencia en el cultivo larvario de *A. atra*. Por ende, la evaluación preliminar de cepas probióticas con capacidad antagonista in vitro constituye una estrategia que podría contribuir directamente al desarrollo del potencial acuícola en la región de Moquegua y servir como modelo replicable en otras experiencias de cultivo (Cruz *et al.*, 2021; de la Fuente *et al.*, 2015). Asimismo, la aplicación de bacterias antagonistas, podría usarse junto a otras estrategias de manejo como el control de la calidad de agua, manejo del alimento y medidas de bioseguridad (Ren *et al*., 2021), que conlleven al incremento del rendimiento productivo y promuevan la expansión de la maricultura en el sur del Perú.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción y formulación del problema

1.1.1. Descripción del problema

A nivel mundial, la presencia de bacterias patógenas ha sido identificada como uno de los principales problemas en el cultivo de bivalvos, países como Estados Unidos, México y Chile, han reportado diferentes infecciones bacterianas en criaderos de moluscos. Informándose mediante investigaciones la presencia de *Vibrio coralliilyticus* y *V. alginolyticus* en criaderos de larvas de ostra oriental *Crassostrea virginica* y *C. gigas* (Modak y Gomez, 2020; Varela, 2022), así también se ha detectado Pseudomonas, Moraxella y Halomonas en los primeros estadíos larvales de *Argopecten purpuratus*, responsables de provocar altas tasas de mortalidad (Riquelme *et al.*, 1995; Llanos et al., 2002).

En el Perú el cultivo de bivalvos está enfocada principalmente en concha de abanico (*A. purpuratus*), donde han reportado problemas por altas mortalidades en etapas iniciales de cultivo, lo que ha impulsado a estudiar la identificación y caracterización de bacterias (Gonzales, 2019) así como al uso de bacterias probióticas aisladas con el fin de reducir la mortalidad durante el estadio larvario (Castro *et al*., 2021). A pesar de que se ha buscado abordar la problemática mediante diferentes estudios, la investigación específica para moluscos bivalvos, aún es limitada (Dai *et al.*, 2022).

En los últimos años se ha visto la necesidad de realizar investigaciones que contribuyan al desarrollo óptimo del cultivo de moluscos bivalvos, siendo uno de los principales retos, asegurar el éxito de la etapa larvaria, ya que en esta fase los bivalvos son altamente vulnerables. Las bacterias juegan un papel importante en este proceso, ya que pueden ser patógenas y causar mortalidades masivas por infecciones (Romalde y Barja, 2010; De la Fuente y Faúndez, 2020); o tratarse de bacterias beneficiosas, que combaten la proliferación de microorganismos adversos y contribuyen a la salud larvaria (Prado *et al.*, 2010; Kapareiko *et al*., 2011).

La mortalidad en la etapa larval de moluscos bivalvos se atribuye principalmente a la presencia de agentes infecciosos, tales como: virus, bacterias

en su mayoría del género Vibrio, hongos, protozoos y metazoos (Modak y Gomez, 2020; Varela, 2022). Así mismo, factores como la alta densidad larval y bajos niveles de oxígeno favorecen la proliferación de bacterias patógenas (FAO, 2008). Además, la presencia de bacterias también puede deberse a un inadecuado tratamiento del agua, el alimento suministrado o la transmisión vertical desde los reproductores (Elston, 1984; Riquelme *et al.*, 1994). Estas infecciones impactan de manera crítica el desarrollo de la larvicultura de moluscos bivalvos (Jimenez y Lagos, 2018). Por ello, es necesario comprender y conocer la interacción entre los microorganismos y las larvas para mejorar su supervivencia en esta etapa crítica.

1.1.2. Formulación del problema

1.1.2.1. Interrogante general

¿Cuál es el efecto antagonista de bacterias probióticas sobre las bacterias patógenas asociadas a mortalidad larvaria en *Aulacomya atra* (choro)?

1.1.2.2. Interrogantes específicas

- ¿Existen diferencias en la concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y larvas moribundas de *Aulacomya atra* (choro) durante el cultivo larvario?
- ¿Qué bacterias con potencial patógeno y con potencial probiótico se encuentran presentes en larvas moribundas y sobrevivientes durante un evento de mortalidad en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro)?
- ¿Qué capacidad tienen las bacterias probióticas aisladas de inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas provenientes del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro)?
- ¿Cuáles son las principales bacterias con potencial probiótico y patogénico asociadas al cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro) identificadas mediante técnicas moleculares?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto antagonista de bacterias probióticas sobre bacterias patógenas asociadas a mortalidad larvaria en *Aulacomya atra* (choro).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar las diferencias en la concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y moribundas de *Aulacomya atra* (choro) en condiciones de cultivo larvario.
- Obtener bacterias potencialmente patógenas y potencialmente probióticas presentes en larvas moribundas y sobrevivientes durante un evento de mortalidad en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).
- Determinar la capacidad de las bacterias con potencial probiótico aisladas, para inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas provenientes del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).
- Identificar con técnicas moleculares las principales bacterias con potencial probiótico y las patógenas asociadas al cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

1.3. Justificación e importancia

En América Latina, si bien el cultivo de moluscos bivalvos se ha desarrollado con mayor incidencia en Chile, su desarrollo también ha incrementado en gran medida en países como Perú y Brasil (Lovatelli y Montt, 2008). Sin embargo, uno de los principales obstáculos de esta actividad es la elevada mortalidad que ocurre durante los primeros estadios de desarrollo larvario, lo que afecta tanto la producción como la continuidad de los cultivos. Diferentes estudios han asociado estas mortalidades a la presencia de bacterias patógenas principalmente de los géneros Vibrio, Pseudomonas, Moraxella y Halomonas (Riquelme *et al*., 1995; Llanos *et al.*, 2002; Modak y Gomez, 2020; Varela, 2022). A pesar de que se han identificado agentes bacterianos relacionados a los eventos de mortalidad larvaria, aún no se conoce en qué momento o de qué manera se desarrollan estos problemas, principalmente con

relación a las diferencias microbiológicas entre larvas sanas y moribundas (Prado *et al.*, 2010). Es por ello, que determinar las variaciones en la concentración de bacterias cultivables entre ambos estados larvarios es fundamental para comprender la relación que existe entre carga bacteriana y condición sanitaria de los cultivos.

Respecto al recurso *Aulacomya atra* (choro), se carece de estudios acerca de patógenos que afectan directamente los cultivos larvarios dando lugar a mortalidades masivas, razón por la cual, como indica Wurmann (2008) se tiende a tomar la decisión de repetir o reiniciar el proceso de producción. Por ello, el aislamiento y caracterización de bacterias potencialmente patógenas y probióticas a partir de larvas moribundas y sobrevivientes durante un evento de mortalidad es un paso importante para lograr comprender la función de las comunidades bacterianas asociadas al cultivo, y así mismo esta información permitirá implementar estrategias para la obtención de larvas viables y sanas (De la Fuente *et al*., 2015).

Así mismo, la búsqueda de alternativas sostenibles para el control de patógenos ha impulsado el interés sobre el uso de bacterias probióticas en el ámbito de la acuicultura, debido a que este tipo de bacterias han mostrado un efecto positivo sobre la sobrevivencia larvaria, crecimiento, rendimiento y resistencia a enfermedades en algunos organismos acuáticos de cultivo (Pérez *et al.*, 2020). En este sentido, evaluar la capacidad antagonista de bacterias con potencial probiótico frente a bacterias patógenas aisladas del cultivo larvario de *Aulacomya atra* permitirá determinar su posible aplicación como solución biológica para reducir la mortalidad y no depender del uso de antibióticos.

Finalmente, la identificación molecular de las bacterias potencialmente patógenas y probióticas aisladas permitirán una caracterización más precisa respecto a microbiota asociada al cultivo del recurso, lo cual es una información necesaria y básica, para el manejo microbiológico adecuado del cultivo larvario. En conjunto, todos los objetivos planteados en la investigación permitirán generar resultados e información valiosa como base, orientado al desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo del recurso *Aulacomya atra*.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis general

1.4.1.1. Hipótesis nula general

H_0: Las bacterias probióticas no presentan un efecto antagonista significativo sobre las bacterias patógenas asociadas a la mortalidad larvaria de *Aulacomya atra* (choro).

1.4.1.2. Hipótesis alternativa general

H_1: Las bacterias probióticas presentan un efecto antagonista significativo sobre las bacterias patógenas asociadas a la mortalidad larvaria de *Aulacomya atra (*choro).

1.4.2. Hipótesis específicas

1.4.2.1. Hipótesis específica 01

a) Hipótesis nula

H_0: No existen diferencias significativas en la concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y moribundas de *Aulacomya atra* (choro).

b) Hipótesis alternativa

H_1: Existen diferencias significativas en la concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y moribundas de *Aulacomya atra* (choro).

1.4.2.2. Hipótesis específica 02

a) Hipótesis nula

H_0: No hay presencia de bacterias potencialmente patógenas y con potencial probiótico en el evento de mortalidad del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

b) Hipótesis alternativa

H_1: Hay presencia de bacterias potencialmente patógenas y con potencial probiótico en el evento de mortalidad del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

1.4.2.3. Hipótesis específica 03

a) **Hipótesis nula (H_0)**

H_0: Las bacterias con potencial probiótico aisladas no tienen un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de las bacterias patógenas provenientes del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

b) **Hipótesis alternativa (H_1):**

H_1: Al menos una de las bacterias con potencial probiótico aisladas tiene un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de las bacterias patógenas provenientes del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

1.4.2.4.Hipótesis específica 04

c) **Hipótesis nula (H_0)**

H_0: No es posible identificar al menos 04 bacterias con potencial probiótico y 04 bacterias patògenas que se presentan en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

d) **Hipótesis alternativa (H_1):**

H_1: Es posible identificar al menos 04 bacterias con potencial probiótico y 04 bacterias patògenas que se presentan en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

1.5. Variables

1.5.1. Variable independiente

Mortalidad larvaria de *Aulacomya atra* (choro)

1.5.2. Variable dependiente

- Concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y moribundas.
- Obtención de bacterias potencialmente patógenas y bacterias potencialmente

probióticas.

- Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas.
- Identificación molecular de principales bacterias con potencial probiótico y las patógenas.

Tabla 1

Cuadro de operacionalización de variables

Variables	Dimensiones	Indicadores
V. Independiente Mortalidad Larvaria de *Aulacomya atra* (choro)	Presencia/ausencia de bacterias patógenas y probióticas	Crecimiento en medios de cultivo
V. Dependiente Concentración de bacterias cultivables entre larvas sanas y moribundas	Concentración bacteriana en larvas sanas	Unidades formadoras de colonias (UFC)/g
	Concentración bacteriana en larvas enfermas	
V. Dependiente Obtención de bacterias potencialmente patógenas y bacterias potencialmente probióticas	Caracterización fenotípica de colonias	- Color - Textura - Forma - Borde - Elevación
	Prueba microbiológica y bioquímica	- Tinción Gram - Prueba catalasa
V. Dependiente Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas	Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas	Tamaño de halos de inhibición (mm)
V. Dependiente Identificación molecular de bacterias	Identificación de especie bacteriana de interés	Secuenciación y amplificación PCR

Nota. Se muestra la operacionalización de variables, donde la dimensión son los aspectos de cada variable y los indicadores son los parámetros que se miden.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

1.1.1. Antecedentes internacionales

Varela (2022) en una investigación realizada en larvas de ostras *Magallana gigas,* tuvo como objetivo establecer la patogenicidad de cepas aisladas tras un evento de mortalidad larvaria asociado a la presencia de necrosis bacilar. Para ello, evaluó la presencia de bacterias mediante evaluación microscópica y análisis bacteriológico en medio TCBS. El inóculo bacteriano empleado (C-2021-56) fue obtenido de muestras de larvas moribundas, que se aislaron, pasaron por pruebas bioquímicas, de tinción Gram y de sensibilidad a antibióticos. Las larvas se colocaron en 3 recipientes (A, B, y C) de 200 mL con 2800 larvas por grupo, alimentadas con *Pavlova lutheri*. "A" y "B" fueron inoculados con la cepa C-2021-56; mientras que "C" se inoculó con solución salina estéril. Las larvas se monitorearon cada 3 horas por 12 horas y se realizaron análisis bacteriológicos del agua antes y 24 h después de la inoculación, así como pruebas de sensibilidad a antibióticos en agar Mueller-Hinton. Los resultados mostraron la identificación de *Vibrio alginolyticus* en los grupos A y B, y en C se tuvo colonias tanto sacarosa positivas como negativas. 12 h después del inóculo, los grupos A y B mostraron inmovilidad, desorientación y mortalidad; mientras que en C no se presentó ningún signo. A las 24 horas posteriores se registró una mortalidad del 90% en los grupos A y B. Concluyéndose que las altas tasas de mortalidad larvaria fueron causadas por infección de *Vibrio alginolyticus* en el medio de cultivo.

Molina *et al*. (2021), tuvieron como objetivo evaluar la actividad antagónica de bacterias marinas contra el patógeno *Vibrio parahaemolyticus* AHPND en cultivos de *Litopenaeus vannamei*. La metodología incluyó el muestreo al azar de organismos marinos, así como sedimentos, agua de mar y suelo. Realizaron el aislamiento bacteriano en diferentes medios de cultivo mediante el método de siembra por extensión. Posteriormente evaluaron la actividad antagónica, utilizando la cepa patógena *Vibrio parahaemolyticus* AHPND (MC32) en placas Petri con Agar Mueller-Hinton + 2% de NaCl. La caracterización bioquímica se llevó a cabo utilizando el sistema API 20 NE y el sistema API 50 CH, y la identificación se realizó por secuenciación. Los resultados mostraron la recolección de 96 muestras, de las cuales se aislaron 258 bacterias; en la evaluación de actividad antagónica se detectaron halos

de inhibición frente al patógeno MC32 en aislados de las cepas mencionadas como: HA, 43, 32a, Y100 y Y119. Las cepas posteriormente fueron identificadas por secuenciación rDNA 16S y perfil bioquímico API, revelando la presencia de *Vibrio alginolyticus*, *Shewanella indica*, *Bacillus altitudinis*, *B. zhangzhouensis*, *B. pumilus*. En la investigación concluyeron que las bacterias marinas presentan actividad inhibitoria frente a patógenos acuícolas que permitirían posteriormente al desarrollo de componentes antimicrobianos.

De la Fuente y Faúndez (2020) tuvieron como objetivo evaluar la capacidad de bacterias aisladas en la provincia de Arauco-Chile, para inhibir bacterias patógenas (*Vibrio anguillarum*, *V. splendidus* y *V. parahaemolyticus*) asociadas a los cultivos de moluscos bivalvos. Para ello recolectaron muestras de: moluscos bivalvos, agua de mar, sedimento y algas, para la obtención de cepas bacterianas. Las muestras fueron colocadas en solución salina marina (SMM), diluidas y sembradas en medios TSA y TCBS. De estas se seleccionaron a aquellas con capacidad de inhibir vibrios patógenos, las cuales fueron caracterizadas fenotípicamente por pruebas de tinción Gram, movilidad, descarboxilación de la lisina, licuefacción de la gelatina, presencia de catalasa y oxidasa, fermentación de glucosa y crecimiento en agar TCBS. Así mismo, se analizó la interacción entre las cepas y sus curvas de crecimiento. Como resultado se tuvo el aislamiento de 70 cepas bacterianas de los géneros Vibrio y Pseudomonas, donde 3 cepas fueron inhibidoras de vibrios patógenos: A5 (cepa de arena), CCH18 (cepa de choro) y CA6 (cepa de alga). En el estudio de interacción de cepas A5 inhibió a CCH18 y CA6. Así mismo, las 3 cepas crecieron en caldo de soja y agua de mar, pero alcanzando la fase estacionaria en diferentes tiempos y concentraciones. Finalmente, concluyeron que las cepas CA6 y CCH18 presentan potencial para usarse como biocontroladores en cultivos de moluscos bivalvos.

1.1.2. Antecedentes nacionales

Castro *et al.* (2021), tuvieron como objetivo evaluar el efecto probiótico de bacterias propias del intestino de *Argopecten purpuratus*, frente a patógenos *Vibrio anguillarum* y *Aeromonas salmonicida* de las larvas. La metodología se basó en el estudio de larvas D de *A. purpuratus*. Para el aislamiento de bacterias probióticas, tomaron muestras del tracto intestinal de adultos y se cultivaron en agar común con 2% de NaCl. La actividad anti- *Vibrio* se evaluó mediante la presencia de halos de

inhibición en colonias tras la incubación de 20 mL de inóculo en placas de agar. Para el desafío con patógenos, las larvas se alimentaron con *Isochrysis galbana* y bacterias probióticas, luego se añadieron *Vibrio anguillarum* y *Aeromonas salmonicida*, evaluando la supervivencia larvaria durante 3 días. Los resultados obtenidos, mostraron el aislamiento de 30 cultivos microbianos, donde 12 tuvieron halos de inhibición de 2 a 20 mm. En los desafíos empleando *Vibrio anguillarum* y *Aeromonas salmonicida*, las larvas presentaron 90% de mortalidad en 72 h. Los probióticos seleccionados: Prob A y Prob B disminuyeron la mortalidad frente a ambos patógenos; siendo identificados molecularmente como *Pseudomonas stuzeri* y *Bacillus sp.* Finalmente se concluyó que el Prob. B (*Bacillus sp.*) fue el más eficiente para disminuir la mortalidad de larvas de *A. purpuratus* en un 47,75% y 61,08% ante el enfrentamiento con *A. salmonicida* y *V. anguillarum* respectivamente; mientras que Prob. A solo redujo la mortalidad al 29,88% y 34,86% enfrentándose a las mismas bacterias.

Diringer *et al.* (2019), plantearon desarrollar métodos para la producción sostenible de larvas de *Anadara tuberculosa* libres de patógenos específicos. Para ello recolectaron ejemplares adultos del Santuario Nacional Manglares de Tumbes, y lo transportaron al laboratorio. Realizaron un análisis de madurez gonadal y los colocaron en tanques para la producción de semillas por inducción. Las larvas obtenidas, fueron empleadas para los experimentos respectivos. Para el análisis microbiológico se aisló y purificó bacterias de larvas moribundas, además de la hemolinfa de reproductores tomadas del músculo abductor, para ello emplearon medios TSA, TCBS y Centrimide con 2% NaCl. Seleccionaron las colonias fenotípicamente diferentes y realizaron la tinción Gram para obtener colonias puras que fueron identificadas luego por secuenciación PCR. Adicional a ello, se realizaron análisis patológico y genético de poblaciones. Se tuvo como resultado el aislamiento de 36 cepas bacterianas, y se identificaron *Pseudomonas* en muestras de biopelícula, Pseudomonas y vibrionáceas en muestras de larvas moribundas, mientras que en ejemplares adultos se obtuvo *vibrionaceas*, *Pseudomonas* y *Shilonii*. Este estudio concluyó que es viable producir larvas de *Anadara pustulosa* libres de enfermedades.

Gonzales (2019) tuvo como objetivo identificar bacterias con capacidad de producir biofilm asociadas al cultivo de concha de abanico *Argopecten purpuratus* en

la bahía de Huaynuma, Casma - Perú. Para ello, las metodologías empleadas se basaron en el aislamiento de bacterias provenientes de la bahía de Huaynuma, empleando caldo de cultivo SWT (Sea Water Triptona) e incubación a 22 °C por 5 días; hisopado, enjuague y diluciones seriadas para bacterias adheridas a malla y las suspendidas en caldo de cultivo; inóculo en agar SWT incubado por 24 a 48 h y tinción Gram para garantizar la pureza de cada cepa. También se realizaron pruebas bioquímicas, pruebas de tolerancia a la sal, identificación molecular de bacterias productoras de biofilm, amplificación del ADN y análisis filogenético. Como resultado se obtuvieron 40 cepas en total, siendo las más predominantes del género *Vibrio*, la especie *V. alginolitycus*; de las cuales16, 8 y 7 fueron fuerte, moderada y débilmente productoras de biofilm y 9 fueron cepas no productoras. En conclusión, se identificó en mayor proporción la bacteria Gram negativa *Vibrio alginolyticus*, así mismo otra bacteria identificada por primera vez fue: *Photobacterium damselae* en *A. purpuratus* en la bahía de Huaynuma.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Biología de la especie

2.2.1.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica para el recurso *Aulacomya atra*, según el Registro Mundial de Especies Marinas (WORMS, 2024) es:

Reino: Animalia
Phylum: Mollusca
Clase: Bivalvia
Sub clase: Autobranchia
Infraclase: Pteriomorfia
Orden: Mytilida
Superfamilia: Mytiloidea
Familia: Mytilidae
Subfamilia: Mytilidae incertae sedis
Género: Aulacomya
Especie: *Aulacomya atra*

Figura 1

Ejemplar de Aulacomya atra (choro)



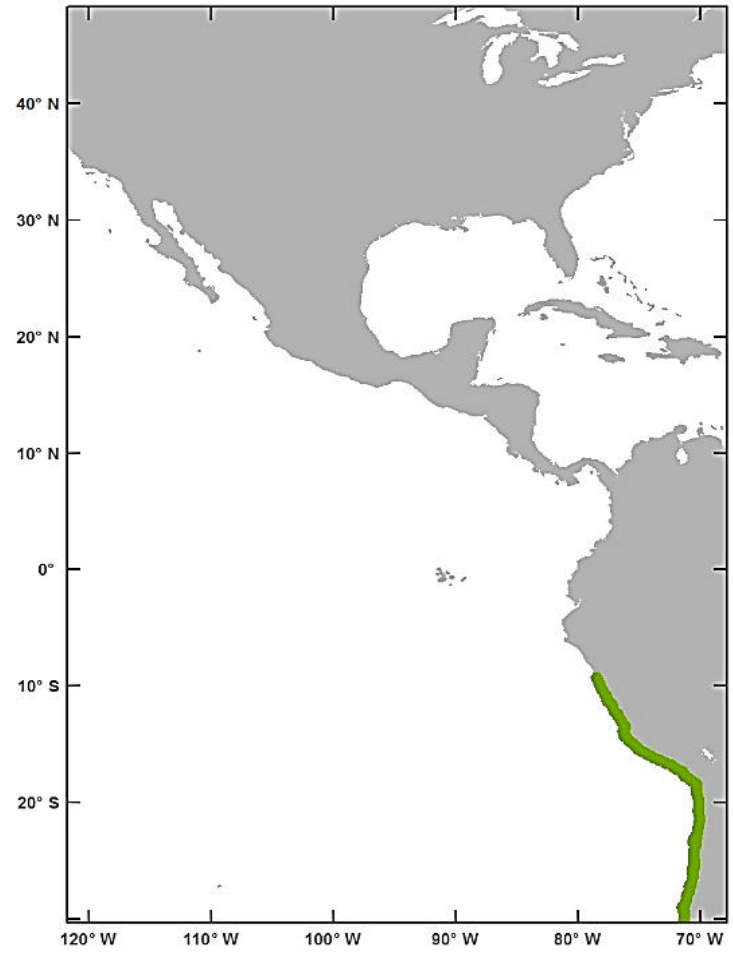
Nota. Tomado de IMARPE (2022)

2.2.1.2. Distribución

La distribución de esta especie se encuentra principalmente en la costa peruana desde la ciudad de Chimbote al norte del país, hasta el sur de Chile en el estrecho de Magallanes y la Isla Juan Fernández (Álamo y Valdivieso, 1997). Sin embargo, también el recurso fue hallado en las costas de los países de Uruguay, Brasil y Argentina en el océano Atlántico, e incluso en las costas del continente Africano (Cancino y Becerra, 2023; Scarabino y Ortega, 2004; Sepúlveda *et al.*, 2016) (Figura 2).

Figura 2

Distribución geográfica de recurso Aulacomya atra (choro)



Nota. La zona sombreada representa el área de distribución natural de *Aulacomya atra* en las costas de Perú y Chile. Tomado de IMARPE (2022)

2.2.1.3. Hábitat

Esta especie de molusco bivalvo habita exclusivamente en ecosistemas marinos y bentónicos, viven principalmente en zonas intermareales hasta los 40 m de profundidad. Se encuentran en zonas costeras adheridas a sustratos duros y rocosos. Suelen encontrarse agrupados formando bancos de la misma especie (Bernardi *et al.*, 2015).

2.2.1.4.Alimentación

El choro, al no tener la capacidad de desplazarse para obtener alimento, tiende a alimentarse por filtración de plancton y detritos utilizando sus cilios branquiales. Filtra microalgas o material particulado con tamaño menor a 0,01 mm, para obtener los nutrientes necesarios para su desarrollo (Pacheco y Olave, 2000).

2.2.1.5.Reproducción

Presenta sexos separados, los cuales se diferencian entre hembra y macho al alcanzar la madurez sexual por el color de sus gónadas, en el caso de los ejemplares machos presentan un color amarillo claro, mientras que las hembras se caracterizan por un color café oscuro en sus gónadas (Lozada López, 2023). La fecundación se da de manera externa por la liberación de gametos de ambos sexos en el medio. Así mismo, Incio (2018), mediante un estudio de madurez sexual del recurso indica que en el caso de las hembras, esta madurez se puede alcanzar desde los 35,8 mm de LV (longitud valvar) (Figura 3).

Figura 3

Gónadas de ejemplares macho y hembra de A. atra



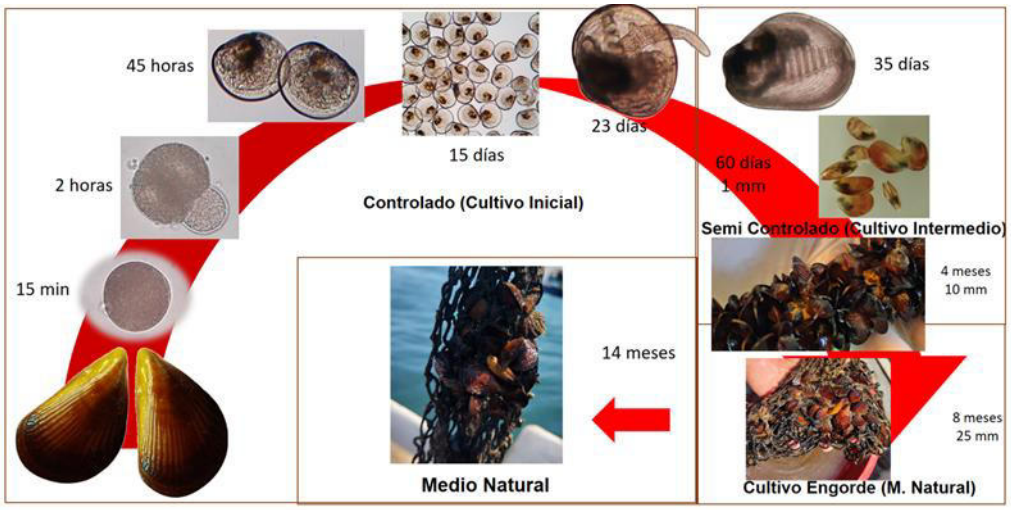
Nota. Coloración de las gónadas de *Aulacomya atra*, donde la gónada femenina (♀) presenta tonalidades pardo-violáceas a marrón oscuro y la masculina (♂) coloración crema a amarillo pálido.

2.2.1.6. Ciclo de vida

Para que las hembras y machos formen óvulos y espermios sexualmente maduros, se requiere una cantidad adecuada de alimento y condiciones ambientales óptimas. En su ciclo de vida, los óvulos y espermios son liberados al medio, donde ocurre la fertilización, dando inicio al desarrollo de larvas trocóforas. Conforme estas se desarrollan, se convierten en larvas véliger, momento en el que ya presentan la capacidad de alimentarse y desplazarse gracias a su velo. Posteriormente, se transforman en larvas pedivéliger, cuyo tamaño varía entre 240 y 300 micras. En esta etapa, el velo se va perdiendo y aparece un pie que les permite moverse en busca de un sustrato. Una vez que lo encuentran, se fijan y pasan a la etapa de postlarva, continuando su crecimiento hasta lograr una talla comercial, el cual puede tardar hasta los 2 o 3 años (Pacheco y Olave, 2000) (Figura 4).

Figura 4

Ciclo de vida en A. atra



Nota. Desarrollo de ciclo de vida de *A. atra*, desde un cultivo controlado: liberación de gametos, desarrollo embrionario, desarrollo larvario. Cultivo semicontrolado: desarrollo de postarlar y juveniles. Cultivo de engorde: adultos llevados al medio natural. Tomado de IMARPE (2022)

2.2.2. Problemas en larvicultura de moluscos bivalvos

La larvicultura de moluscos bivalvos ha tenido bastante importancia en los últimos años en Latinoamérica. Sin embargo, se tienen un conjunto de desafíos asociados la baja cantidad y calidad de semillas producidas en hatchery, se considera que ello se relaciona a la alta mortalidad en etapas larvarias, postlarvarias y juveniles, así como a problemas en crecimiento, maduración de reproductores, tecnología inadecuada y ausencia de manuales de procedimiento para cada especie de cultivo (Lovatelli y Montt, 2008).

Aspectos como la alta densidad de cultivo larvario, la presencia de concentraciones elevadas de materia orgánica y bajos niveles de oxígeno en el medio de cultivo, dan lugar a una fácil proliferación de diferentes especies de bacterias, dentro de ellas las patógenas, causantes de eventos de mortalidad masiva (Wurmann, 2008). Investigaciones previas señalan la presencia de *Halomonas* sp., *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas hydrophila* y *Vibrio alginolyticus,* como causantes de estas mortalidades (Riquelme *et al.*, 1995).

2.2.3. Bacterias en acuicultura

2.2.3.1. Bacterias patógenas

Las bacterias patógenas son microorganismos que tienen la capacidad de generar enfermedades o infecciones en sus huéspedes (Cárdenas *et al.*, 2014). Dentro del campo de la acuicultura, los patógenos considerados como aquellos con mayor prevalencia son: *Lactococcus garvieae*, *Listonella anguillarum, Aeromona hydrophila*, *Photobacterium damsela*, *Streptococcus iniae*, *Carnobacterium piscicola*, *Yersinia ruckeri;* mientras que propiamente del género Vibrio se tiene a: *Vibrio anguillarum* , *Vibrio vulnificus y Vibrio alginolitycus*, (Desriac *et al.*, 2010; Frans *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2013; Watts *et al*., 2017)

Tabla 2

Patógenos bacterianos asociados al cultivo de moluscos en Chile

Especie cultivada	Etapa	Especie patógena	Bioensayo de patogenicidad (Inóculo, densidad de moluscos desafiados, volumen final, tiempo de desafío)	Ensayo
Argopecten purpuratus	Larval	*Vibrio Anguillarum*	$10^4 10^8$ cel mL^{-1}, 2 larvas mL^{-1}, 15 mL, 24h	*In vivo*
Argopecten purpuratus	Larval	*Aeromonas hydrophila*	$5{,}5x10^2$-$5{,}5x10^4$ cel mL^{-1}, 1-3 larvas mL^{-1}	*In vivo*
Argopecten purpuratus	Larval	*Vibrio alguinolyticus*	$5{,}5x10^4$-$5{,}5x10^2$ cel mL^{-1}, 1-3 larvas mL^{-1}	*In vivo*
Argopecten purpuratus	Larval	*Halomonas sp.*	10^5cel mL^{-1}, 10 larvas mL^{-1}, 300 mL, 48h	*In vivo*
Argopecten purpuratus	Larval	*Vibrio splendidus*	$1{,}0x10^6$ UFC mL^{-1}, 20 larvas $mL^{-1,4}$ mL, 48h	*In vivo*
Haliotis rufences	Adulto	*Candidatus Xenohaliotis californiensis*	Sin bioensayo	
Haliotis rufences	Adulto	*Xenohaliotis californiensis*	Sin bioensayo	

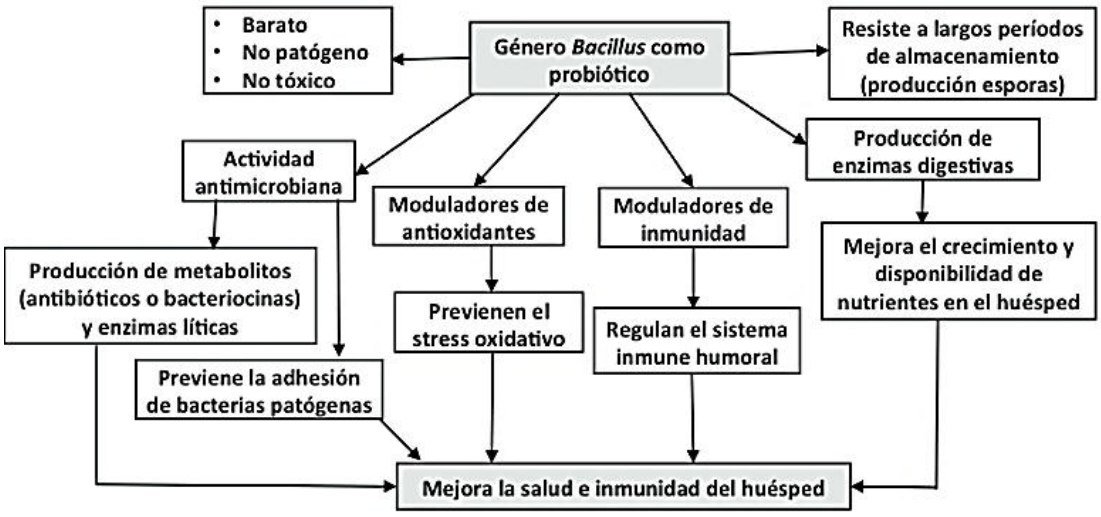
Nota. Tomado de De la Fuente *et al.* (2015)

2.2.3.2.Bacterias probióticas

Las bacterias probióticas son consideradas microorganismos o un conjunto de microorganismos con capacidad de mejorar la calidad de agua, mejorar el sistema inmunológico de los organismos acuáticos a los que les son suministrados (Hai, 2015). Dentro de los más empleados en acuicultura están:*Bacillus, Streptomyces* (Pérez *et al*., 2020), *B. subtilis*, *B. licheniformis, B. pumilus* y *B. amyloliquefacien* (Prieto *et al*., 2012; Yi *et al.*, 2018), aisladas de diferentes fuentes: agua, intestinos de peces, algas marinas, del mismo alimento, entre otros (Figura 5).

Figura 5

Características del género Bacillus



Nota. Principales mecanismos y beneficios del género Bacillus como probiótico. Tomado de Kuebutornye *et al.* (2019)

Tabla 3

Actividad de bacterias probióticas contra bacterias patógenas de moluscos en Chile

Molusco beneficiado	Etapa	Especie probiótica	Especie patogénica	Ensayo
Argopecten purpuratus	*Larva*	*Alteromonas haloplanktis*	*Vibrio sp., Aeromonas hydrophila*	*In vivo*
Argopecten purpuratus	*Larva*	*Vibrio sp.*	*Vibrio anguillarum-related*	*In vivo*
Argopecten purpuratus	*Larva*	*Arthrobacter sp.*	*Vibrio anguillarum-related*	*In vivo*
Argopecten purpuratus	*Larva*	*Pseudomonas sp.*	*Vibrio anguillarum-related*	*In vivo*
Argopecten purpuratus	*Larva*	*Bacillus sp.*	*Vibrio anguillarum-related*	*In vivo*
Concholepas concholepas	*Larva*	*Bacillus sp.*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*
Concholepas concholepas	*Larva*	*Bacillus pumilus*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*
Concholepas concholepas	*Larva*	*Bacillus pumilus*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*
Haliotis rufences	*Juvenil /adulto*	*Vibrio sp.*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*
Haliotis rufences	*Juvenil /adulto*	*Vibrio sp.*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*
Haliotis rufences	*Juvenil /adulto*	*Agarivorans albus*	*Vibrio parahaemolyticus*	*In vivo*

Nota. Tomado de De la Fuente *et al.* (2015)

2.2.4. Medios de cultivo

2.2.4.1.Agar GSP (Agar Selectivo para Pseudomonas y Aeromonas)

Este tipo de agar, en su composición, como únicos nutrientes al glutamato y almidón, no todos los microorganismos pueden metabolizar estos nutrientes. Este medio de cultivo permite el aislamiento de Pseudomonas y Aeromonas, estos últimos tienen la capacidad de degradar el almidón, y la

producción de ácido genera un cambio de color del fenol rojo a amarillo. Para su preparación se diluyen 45g de medio deshidratado por litro de agua destilada y pasan por un proceso de autoclavado a 121°C (Merck, 2025a), el medio ya inoculado con las muestras son incubadas hasta las 72h aproximadamente a una temperatura de 28ªC en condiciones aerobias.

Tabla 4

Características de colonias crecidas en medio GSP

Apariencia de colonias	Microorganismos
Grande, de 2-3 mm de diámetro, color azul-violeta, rodeado por una zona rojo-violeta.	Pseudomonas
Grande, de 2-3 mm de diámetro, color amarillo y rodeada por una zona amarilla.	Aeromonas
Generalmente pequeño, crecimiento retardado, a veces mucoide.	Enterobacteriaceae

Nota. Adaptado de Merck (2025a)

2.2.4.2.Agar TCBS (tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa)

Este medio de cultivo contiene como parte de su composición sales biliares, tiosulfato y citrato; el medio como tal puede presentar valores de pH de 8.6, un medio alcalino, estas características inhiben el crecimiento de otros microrganismos como las Enterobacterias. Una vez inoculada la muestra en el agar TCBS, se incuba a 37°C por un periodo de 24 ± 3h (Merck, 2021) (Figura 6).

Tabla 5

Crecimiento de colonias en medio TCBS según cepas de referencia

Cepa de prueba	Especificación	
	Crecimiento	Reacción típica

Vibrio parahaemolyticus ATCC® 17802 [WDCM 00037]	bueno	colonias verdes
Vibrio parahaemolyticus NCTC 10885 [WDCM 00185]	bueno	colonias verdes
Vibrio furnissii DSM 14383 [WDCM 00186]	bueno	colonias amarillas
Escherichia coli ATCC® 25922 [WDCM 00013]	inhibición total	no aplica
Escherichia coli ATCC® 8739 [WDCM 00012]	inhibición total	no aplica
Escherichia coli ATCC® 11775 [WDCM 00090]	inhibición total	no aplica

Nota. Adaptado de Merck (2021).

Figura 6

Características visuales en especies del género Vibrio crecido en medio TCBS



Nota. En el medio TCBS, *Vibrio parahaemolyticus* presenta colonias de color verde, mientras que *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio cholerae* desarrollan colonias de color amarillo. Tomado de Merck (2021).

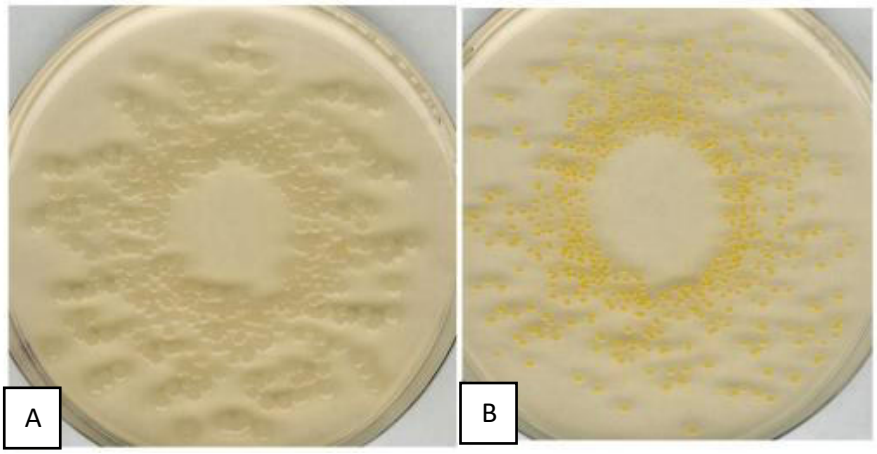
2.2.4.3.PCA (Plate count agar)

El medio PCA permite el crecimiento de microorganismos aerobios; está compuesto por dextrosa, caseína y extracto de levadura que proporciona

carbono, energía, nitrógeno, vitaminas, aminoácidos y minerales ideales para el crecimiento de la mayoría de las bacterias, la transparencia característica del medio y el crecimiento de buen tamaño de las colonias bacterianas permite su aislamiento y recuentos (Condalab, 2019b; Merck, 2025b) (Figura 7)

Figura 7

Características de colonias crecidas en medio PCA según cepas de referencia



Nota. Se muestran características de crecimiento de cepas comerciales, A: *E. coli* ATCC y B: *S. aureu*s ATCC en agar de recuento en placa (PCA). Tomado de Merck (2025b)

2.2.4.4. Centrimide Agar

El medio Centrimide, permite el aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* y en menor medida otras especies del mismo género, dentro de su composición contiene bromuro de cetiltrimetilamonio que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de la flora microbiana acompañante (Britania, 2021; HIMEDIA, 2025).

Tabla 6

Características observadas después de incubación en medio Centrimide

Organismo	Crecimiento	Recuperación	T°de incubación	Incubación
Pseudomonas paraeruginosa	exuberante	≥50 %	30–35 °C	≤18 horas
Escherichia coli	inhibido	0 %	30–35 °C	≥72 horas
Pseudomonas aeruginosa	exuberante	≥50 %	30–35 °C	18–24 horas
Stenotrophomonas maltophilia	inhibido	0 %	30–35 °C	≥72 horas
Staphylococcus aureus	inhibido	0 %	30–35 °C	≥72 horas

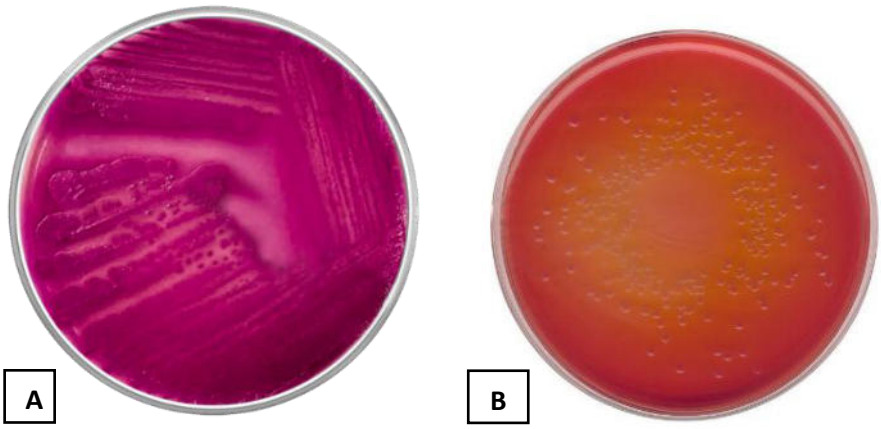
Nota. Tomado de HIMEDIA (2025)

2.2.4.5.Agar Macconkey

El MacConkey permite el crecimiento y aislamiento de bacterias gram negativas entéricas, que pueden tener o no la capacidad de fermentar lactosa o azucares, es considerado un medio selectivo y diferencial, donde principalmente crecen microorganismos del género Enterobacteriaceae y Pseudomonas incubados a 35 ± 1 °C por un periodo de 20 ± 2 horas en condiciones aerobias (Allen, 2016) (Figura 8).

Figura 8

Diferenciación visual de bacterias según fermentación de lactosa



Nota. Crecimiento de colonias crecidas en medio MacConkey, A: fermentadoras de lactosa y B: no fermentadoras de lactosa. Adaptado de MDM (2020) y Labor (2010).

Tabla 7

Especificaciones microbiológicas del medio Agar MacConkey

Organismo	Resultado esperado
Shigella flexneri ATCC 29903	incoloro; colonias translúcidas sin zona de precipitación, color amarillento medio
Shigella sonnei ATCC 29930	incoloro; colonias translúcidas sin zona de precipitación, color amarillento medio
Proteus mirabilis ATCC 29906	incoloro; colonias translúcidas sin zona de precipitación, color amarillento medio
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Si hay crecimiento: colonias pequeñas, redondas y rojas sin zona de precipitación
Escherichia coli ATCC 8739	Recuperación en medio de prueba (*Escherichia coli* ATCC 8739, WDCM 00012)
Salmonella	Colonias incoloras, transparentes y ámbares

Nota. Adaptado de Merck (2022).

2.2.4.6.Agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe)

Este es un medio selectivo que permite el crecimiento de bacterias acido lácticas, especialmente Bacillus y Lactobacillus, algunos que crecen escasamente en otros medios de cultivo como *Lactobacillus brevis* y *L. fermenti*; dentro de su composición incluye peptona, extracto de carne, extracto de levadura, glucosa, polisorbato, citrato de amonio y acetato de sodio, los cuales otorgan al medio condiciones que inhiben el crecimiento de otros microorganismos competidores (Condalab, 2019a). Los Bacillus y Lactobacillus son bacterias microaerofilas, por ende, se requiere realizar una siembra de doble capa o trabajar con jarras de anaerobiosis.

Tabla 8

Respuesta de crecimiento y recuperación de cepas lácticas en medio MRS

Organismo	Crecimiento	Recuperación
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	exuberante	≥50%
Lactobacillus casei ATCC 9595	exuberante	≥50%
Lactobacillus ATCC 9338	exuberante	≥50%
Plantas de lactobacilos ATCC 8014	exuberante	≥50%
Lactococcus lactis s*ubsp*. *lactis* ATCC 19435	exuberante	≥50%
Lactococcus sakei ATCC 15521	exuberante	≥50%
Pediococcus damnosus ATCC 29358	exuberante	≥50%
Pediococcus pentosaceus ATCC 33316	exuberante	≤10%
Bifidobacterium bifidum ATCC 11863	exuberante	≤10%
Escherichia coli ATCC 25922	nulo–escaso	≤10%

Nota. Adaptado de HIMEDIA (2023).

2.2.4.7.Agar Mueller-Hilton

El agar Mueller-Hinton es un medio de cultivo empleado en su mayoría para evaluar la sensibilidad contra antibióticos; está compuesto por extracto de carne, hidrolizado de caseína, almidón y agar. Para su preparación se disuelven 38g por cada litro de agua destilada, el cual como la mayoría de medios de cultivo, se esteriliza en autoclave con 15 lb de presión durante 15 minutos a 121°C (HiMedia, 2018)

2.2.5. Tipos de siembra

Las técnicas de siembra empleadas en el ámbito de la microbiología pueden ser diversas, entre ellas, según lo mencionado por Reynoso *et al.* (2015): siembra por punción, siembra en estría, siembra de agotamiento por estrías,

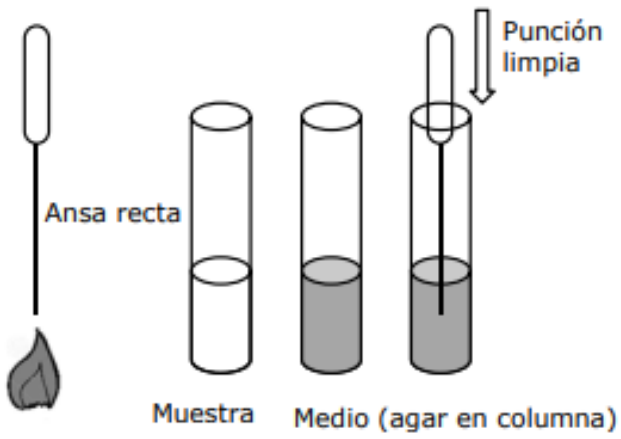
siembra con espátula Drigalsky, siembra por vertido en placa y siembra con hisopo, los cuales se describen a continuación:

2.2.5.1. Siembra por punción

Este tipo de siembra consiste en tomar el inóculo con un asa recta e introducirla en un tubo con agar, sin tocar las paredes del tubo, así mismo, se debe considerar que el asa debe ser quemada antes y después de usarla. Este tipo de siembra nos permite conocer el comportamiento de las bacterias frente al oxígeno (Reynoso *et al*., 2015) (Figura 9).

Figura 9

Representación gráfica de siembra por punción



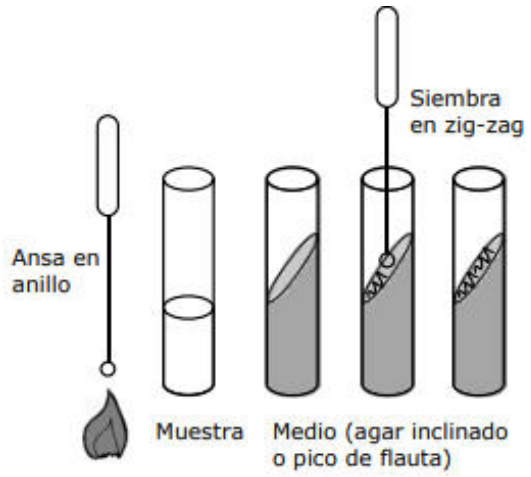
Nota. Tomado de Reynoso *et al.* (2015).

2.2.5.2. Siembra en estrías

Para este tipo de siembra, se usa un asa bacteriológica, con el que se toma la bacteria de interés y se siembra en otro tubo con agar inclinado formando estrías en la superficie, es un método útil para el crecimiento de bacterias aerobias y aerobias facultativas (Reynoso *et al*., 2015) (Figura 10).

Figura 10

Siembra por estrías en agar inclinado



Nota. Tomado de Reynoso *et al*. (2015).

2.2.5.3.Siembra por agotamiento en estrías

Para usar esta técnica, se toma la muestra de interés y se realiza una serie de estrías en la tercera parte de la placa con el medio de cultivo, posteriormente se quema el asa y se realiza otro estriado en dirección perpendicular a la anterior sin superponerla y luego se completa la última estría más dispersa con la finalidad de reducir la concentración de bacterias y contribuir al aislamiento de colonias de interés. Una vez las placas estén inoculadas, se incuban por un periodo de 24 a 48h según el microorganismo a cultivar (Reynoso *et al.*, 2015) (Figura 11).

Figura 11

Procedimiento para siembra por agotamiento en estrías



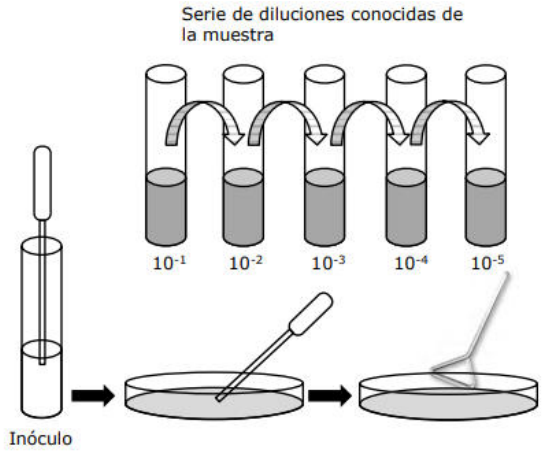
Nota. Tomado de Reynoso *et al.* (2015).

2.2.5.4.Siembra por dispersión en superficie

Para ello, se toma 01 mL de la muestra, se coloca en la superficie del agar en placa Petri y se dispersa con un asa Drigalsky estéril previamente flameada y enfriada, para dispersar la muestra se realiza movimientos rotatorios en toda la superficie para asegura la absorción completa. Esta técnica es usada principalmente para ver el efecto de los antimicrobianos y para realizar el recuento de colonias (Reynoso *et al*., 2015) (Figura 12).

Figura 12

Siembra por dispersión en superficie



Nota. Tomado de Reynoso et al. (2015).

2.2.5.5.Siembra por vertido en placa

Se toma por lo general 1 mL de la muestra y se inocula a un tubo de ensayo con agar fundido, para luego verter el contenido a una placa Petri vacía, el contenido se homogeniza con movimientos rotatorios y se deja solidificar, posteriormente se incuba a un tiempo y temperatura determinado según los requerimientos de la bacteria y el medio de cultivo. Con esta técnica se logra el crecimiento de bacterias aerobios, aerobios facultativos y microaerófilos (Reynoso *et al.*, 2015) (Figura 13).

Figura 13

Siembra por vertido en placa



Nota. Tomado de Reynoso et al. (2015).

2.2.5.6.Siembra con hisopo

Para ello se inserta un hisopo estéril en la muestra o cultivo líquido previamente enriquecido, se elimina el exceso de líquido del hisopo presionando contra las paredes del tubo de donde se extrae la muestra y posteriormente se esparce el inóculo contenido en el hispo en la superficie de la placa con agar (*Reynoso et al.*, 2015).

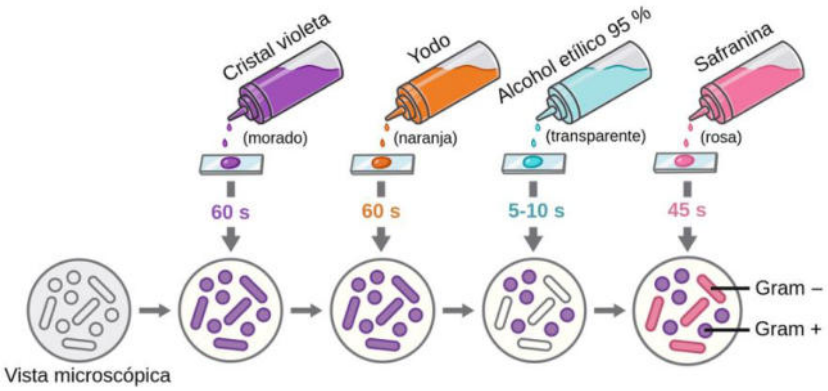
2.2.6. Pruebas bioquímicas

2.2.6.1.Tinción Gram

La tinción Gram es una técnica de coloración para análisis inicial de bacterias que permite diferenciarlas de acuerdo a su coloración y morfología (Popescu y Doyle, 1996). En función a su estructura y composición de pared celular, las bacterias pueden clasificarse entre Gram negativas y Gram positivas; dentro de los colorantes que incluye este método se encuentra: cristal violeta, yodo gram, decolorante (alcohol acetona o alcohol etílico al 96% y por último la safranina, tras culminar el proceso las bacterias que se tiñen de azul son Gram positivas y las que se tiñen de rosa son Gram negativas (Beveridge, 1990) (Figura 14).

Figura 14

Procedimiento para tinción Gram



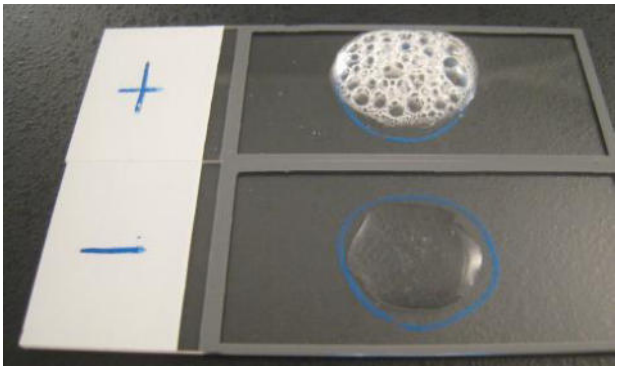
Nota. Tomado de Labster (2025).

2.2.6.2.Prueba de catalasa

Es una prueba microbiológica que permite identificar la presencia de la enzima catalasa en las bacterias, esta enzima tiene la capacidad de descomponer el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. Para realizar la prueba se toma parte de la colonia de una bacteria y se coloca sobre un portaobjetos, luego se adiciona una gota de peróxido al 3%, donde la formación inmediata de burbujeo indica que la prueba es positiva, mientras que su ausencia indica el resultado negativo (Khatoon *et al.*, 2022; Reiner, 2013) (Figura 15).

Figura 15

Prueba catalasa positiva y negativa



Nota. Resultados de catalasa positiva (+) y negativa (-) identificada por burbujeo ante la presencia de peróxido en la muestra. Tomado de Reiner (2013)

2.2.7. Pruebas moleculares

Las pruebas moleculares permiten el análisis de ácidos nucleicos para la identificación de especies y genotipos, para ello se requiere como paso principal la extracción de ADN o ARN, el cual debe purificarse adecuadamente, para su extracción se hace uso de kits comerciales donde especifican el procedimiento para la extracción. Los métodos para purificar el ADN se basan principalmente en procesos de: extracción, ultrafiltración, cromatografía y centrifugación (Diz, 2020).

- **PCR:** Es la reacción cadena polimerasa, que trabaja con un fragmento específico de ADN, empleando primers o cebadores, para su amplificación se usan 25-40 ciclos de cambio de temperatura, cada ciclo tiene etapas de: desnaturalización (94-96°C), alineamiento (45-55°C) y extensión (72°C).
- **RT-PCR:** Es una variante en la cual inicialmente se trabaja con el ARN y no ADN, pero en el proceso una transcriptasa inversa convierte el ARN en ADN complementario (cDNA)**,** para que luego se amplifique por PCR normal.

2.3. Definición de términos

- **Acuicultura:** Actividades donde se desarrolla el cultivo de organismos acuáticos para investigación, conservación o comercialización.
- **Antagonismo:** Capacidad de inhibición de una bacteria frente a otra, mediante la reducción de su crecimiento.
- **Bacterias:** Son microorganismos unicelulares microscópicos, pueden ser patógenos y causar enfermedades, o benéficas mejorando la salud del hospedador.
- **Bivalvos:** Molusco que se caracteriza por presentar dos valvas o también denominadas dos conchas.
- **Hatchery:** Infraestructura acuícola que, en condiciones controladas, lleva a cabo el cultivo organismos acuáticos en sus primeros estadios de desarrollo.
- **Inhibir:** Capacidad de dificultar, reprimir o impedir el desarrollo de una acción, un proceso o una actividad específica.

- **Larvas:** Correspondiente a las primeras fases de desarrollo de muchos organismos, en la que el individuo presenta una morfología distinta a la del adulto, para lo cual pasa por un conjunto de procesos de metamorfosis.
- **Molusco:** Phylum de animales invertebrados presentes en diferentes medios acuáticos, presentan cuerpos blandos y en la mayoría de casos conchas calcáreas.
- **Patógenos:** Microorganismos con la capacidad de generar enfermedades en otro organismo que es de huésped.
- **Probióticos:** Microorganismos que, suministrado en concentraciones adecuadas, tienen efectos positivos en la salud del huésped, ayudando a combatir a microorganismos patógenos.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

3.1.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, por la evaluación del efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente (Ramos, 2021), debido a que en esta investigación, se manipularán las variables en un medio controlado con la finalidad de ver el efecto antagónico de las bacterias con potencial probiótico previamente aisladas frente a las bacterias potencialmente patógenas en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro).

3.1.2. Nivel de investigación

El estudio es de nivel exploratorio, debido a que la investigación nos permite inicialmente tener una información que servirá de base para estudios más complejos (Zafra, 2006). En esta investigación se identificará la diversidad bacteriana en los medios de cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro) y así mismo ver el efecto antagonista de algunas bacterias, información que servirá de fuente de datos para futuras investigaciones.

3.2. Ámbito temporal y espacial

3.2.1. Ámbito temporal

El presente estudio se inició el 23 de julio de 2025, correspondiente al día 12 del cultivo larvario de *Aulacomya atra* (choro). Durante el primer mes posterior al muestreo se ejecutaron los procedimientos de aislamiento y caracterización preliminar de las bacterias, mientras que la identificación molecular de las cepas obtenidas se desarrolló en el mes de octubre, completando el proceso de análisis microbiológico planteado en la investigación.

3.2.2. Ámbito espacial

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de investigación Acuícola (LIA) del laboratorio costero de Ilo - Instituto del Mar del Perú (IMARPE), situado en Jr. Mirave – Ilo, donde se realizó la recolección de muestras bacterianas asociadas al cultivo larvario de *Aulacomya atra*; así como los procedimientos de aislamiento y caracterización bacteriana (Figura 16).

Figura 16

Ubicación del Laboratorio costero de IMARPE - Ilo



Nota. Se muestra la ubicación según Google maps del laboratorio costero de Ilo, Laboratorio de investigación acuícola (LIA)

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Conformada por la totalidad de bacterias aisladas en los medios de cultivo, tanto patógenas como las potencialmente probióticas, provenientes del cultivo larvario de *Aulacomya atra (choro).*

3.3.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por 4 bacterias patógenas y 4 bacterias potencialmente probióticas. Para su elección se consideraron a las que tuvieron mayor prevalencia en los medios de cultivo empleados.

3.4. Instrumentos

3.4.1. Materiales, equipos, reactivos

3.4.1.1. Materiales

- Tubos eppendorf 1 ml
- 3 tápers de 2L
- Micropipeta 10 - 100 ul
- Micropipeta 1000 ul

- 6 pipetas Pasteur de plástico
- Pipeta graduada de 5 ml
- Tamiz de 50 µm
- 2 morteros de porcelana
- Placas Petri
- Tubos de ensayo de 10 ml
- Asa Drigalsky
- Asa bacteriológica
- Mechero bunsen
- Matraces 250 ml
- Matraces 500 ml
- Matraces de 1000 ml

3.4.1.2.Reactivos

- Solución salina fisiológica o suero fisiológico estéril (0.85%)
- Cloruro de bario dihidratado 1,175 %
- Glicerol 100%
- Ácido sulfúrico 1%
- Agar Mueller-Hinton
- Agar MRS
- Agar CENTRIMIDE
- Agar TCBS
- Agar GSP
- Agar MacConkey
- Agar PCA
- Alcohol etílico 95%
- Fuccina
- Lugol
- Cristal violeta
- Aceite de inmersión
- Peróxido de hidrógeno 3%

3.4.1.3.Equipos:

- Incubadora

- Estufa
- Autoclave
- Centrífuga

3.5. Procedimientos

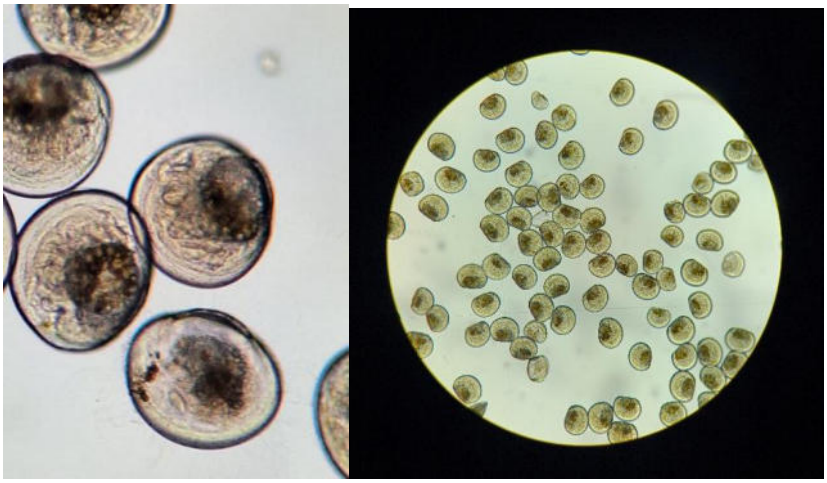
3.5.1. Determinación de las diferencias en la concentración de bacterias entre larvas sanas y moribundas de Aulacomya atra

3.5.1.1. Recolección de muestras

Para iniciar con la recolección de muestras, se consideró el estado general del cultivo. Se decidió tomar las muestras en el día 12 posterior a la fecundación, al detectarse una mortalidad del 79% con un total de 22857 larvas sobrevivientes. En esta etapa, se encontraban en fase larval umbonada, próximo a pediveliger y asentamiento, momento en el que suele producirse una mayor mortalidad (Bayne, 1965; FAO, 2008). Considerando la metodología descrita por Urtubia *et al*. (2023), en este caso las muestras fueron tomadas por duplicado y obtenidas de dos fuentes principales: larvas muertas o moribundas y larvas sanas o sobrevivientes de un evento de mortalidad en el cultivo larvario de *Aulacomya atra* desarrollado por el laboratorio de investigación acuícola (LIA) del Instituto del Mar del Perú – Sede Ilo (Figura 17).

Figura 17

Larvas moribundas en el cultivo



Para la recolección de larvas, se tomó en cuenta la metodología descrita por Godoy *et al*. (2011), para ello se empleó un tamiz de 50 µm, el cual fue colocado en la salida de agua del sistema de cultivo. Las larvas obtenidas fueron dispuestas en un recipiente estéril (2 L), donde fueron separadas las larvas sanas de las moribundas, se realizaron tres lavados sucesivos empleando agua de mar estéril, se colectaron 2 muestras de larvas sanas y 2 muestras de larvas moribundas en tubos eppendorf de 1 mL (Figura 18).

Figura 18

Tanque de cultivo larvario de A. atra

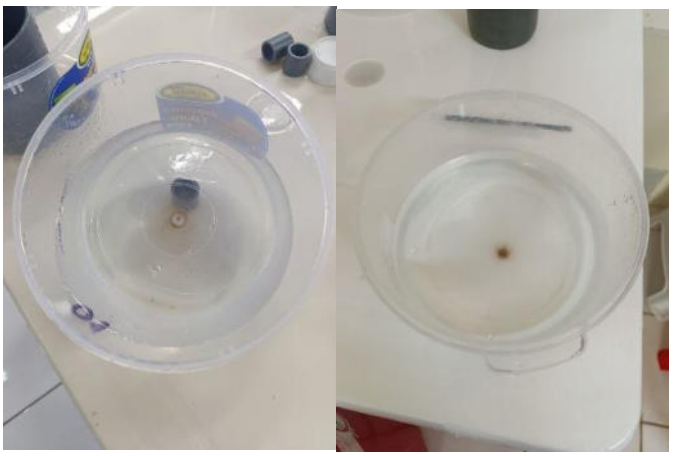


Nota. Se muestra el tanque de 500 L del cultivo larvario de choro, de donde procedieron las muestras por el evento de mortalidad.

Para la separación de larvas sanas y moribundas, se siguió la recomendación de Ayerbe (comunicación personal, 15 de febrero de 2025), para ello se colocaron las larvas en un recipiente estéril (2 L), con una leve inclinación. Las larvas sanas se desplazaron hacia el lado más bajo de la pendiente, mientras que las larvas moribundas, permanecieron sedimentadas en el centro sin movimiento. Posteriormente, se procedió a extraer ambas muestras (larvas sanas y moribundas) por separado en tubos eppendorf de 1 mL, para su análisis microbiológico (Figura 19).

Figura 19

Separación de larvas de A. atra vivas y moribundas o muertas



Nota. Disposición inclinada de recipiente para la separación de larvas con movimiento (vivas) y sin movimiento (muertas)

3.5.1.2.Cuantificación de concentración bacteriana en larvas

Para la cuantificación de bacterias, las muestras de larvas sanas y moribundas fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 5 minutos, descartándose el sobrenadante, mientras que el sedimento fue molido manualmente en un mortero de vidrio estéril con 2 mL de solución salina fisiológica estéril (0,85 %) hasta obtener un homogenizado (Rojas *et al*., 2015). Con el homogenizado se prepararon diluciones seriadas (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} y 10^{-4}), las cuales fueron inoculadas en medio PCA y TCBS, con incubación a 37 °C por 24 h a 48h. La determinación de la concentración bacteriana se expresó como UFC/mL y UFC/g, empleando los procedimientos y fórmulas descritas por Cerra *et al*. (2013) y Nonga *et al.* (2023).

$$UFC/mL = \frac{n°\ de\ colonias\ x\ 1}{factor\ de\ dilución\ x\ volumen\ de\ muestra\ (mL)}$$

$$\frac{UFC}{g} = \frac{UFC}{mL} x \frac{Volumen\ total\ de\ dilución\ (mL)}{Peso\ de\ la\ muestra\ (g)}$$

3.5.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas en larvas sanas y moribundas

3.5.2.1. Aislamiento en larvas sanas

Para las muestras de larvas sanas obtenidas se siguió el procedimiento descrito por Rojas *et al*. (2015), donde las larvas se centrifugaron durante 5 minutos a 3000 rpm, el agua excedente se eliminó y las larvas sedimentadas se molieron manualmente con adición de 2 mL de solución salina fisiológica o suero fisiológico estéril (0,85%) en un mortero de vidrio estéril, dando lugar a un homogenizado. A este homogenizado se le hicieron diluciones a 10^{-1}, 10^{-2} ,10^{-3} y 10^{-4} empleando solución salina, se realizaron las siembras de 0,1 mL en agar De Man Rogosa Sharpe (MRS) para la identificación de Lactobacillus y Bacillus; estas placas se incubaron a una temperatura de 37°C por 48h en condiciones anaeróbicas, hasta que se observó crecimiento de las colonias (Figura 20).

Figura 20

Centrifugado de muestras

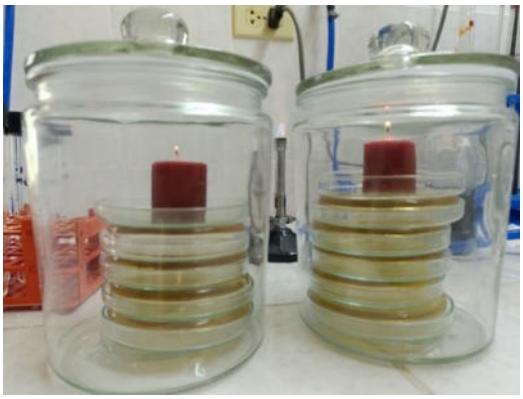


Las condiciones anaeróbicas para la incubación de las placas con el inóculo de la muestra, se otorgaron empleando un depósito de vidrio de sellado hermético, se introdujeron las placas en posición invertida y se prendió una vela pequeña para luego cerrar el recipiente, con la finalidad de

que se produzca CO_2 al interior y se retire la presencia de oxígeno en el medio (Figura 21).

Figura 21

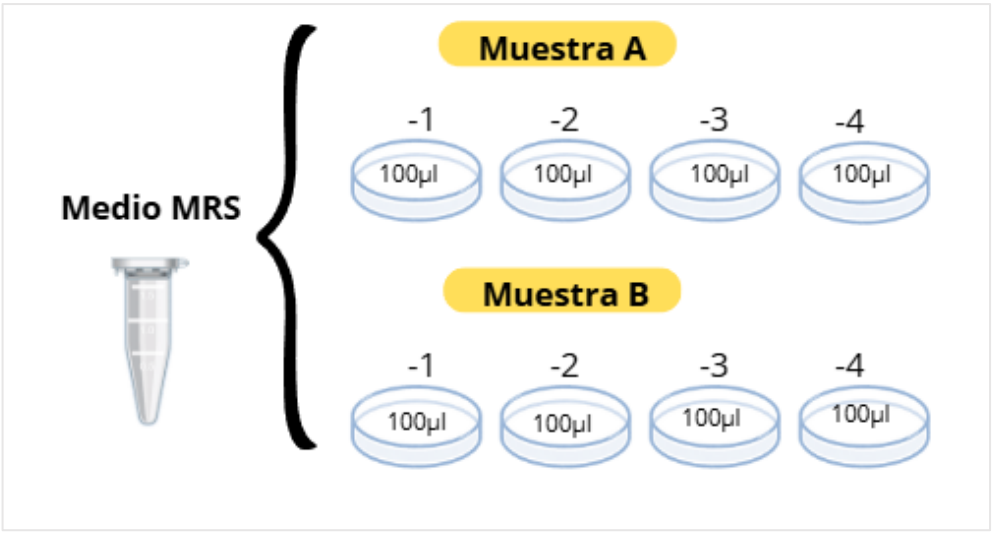
Condiciones anaerobias o microaerofilas para incubación en medio MRS



El inóculo se distribuyó en 100 µL por cada muestra (A y B), en el medio de cultivo MRS empleado para la identificación de Lactobacillus. Se consideró diluciones seriadas (-1,-2,-3 y -4) en el que se emplea 1 mL de la muestra inicial en 9 mL de solución salina (Figura 22).

Figura 22

Diseño para siembra en placas – medio MRS para larvas sanas

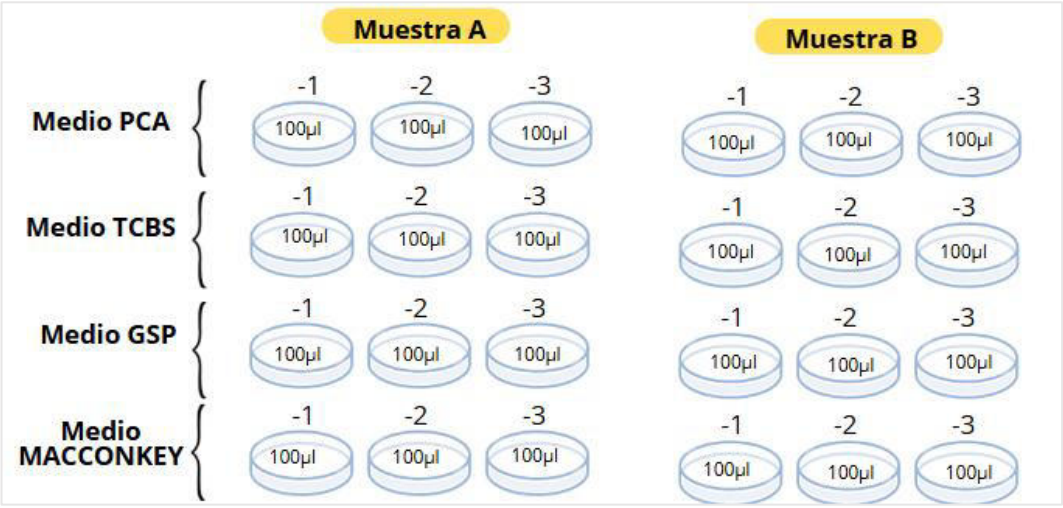


3.5.2.2.Aislamiento en larvas moribundas

Del mismo modo, para las muestras de larvas moribundas obtenidas, se realizó el centrifugado durante 5 minutos a 3000 rpm, posterior a ello el exceso de agua se descartó y las larvas asentadas se molieron manualmente con adición de 2 mL de solución salina fisiológica estéril (0.85%), y a partir de homogenizado que se obtuvo se sembró 0.1 mL de la muestra en cada medio de cultivo, considerando las diluciones -1, -2 y -3 para su inoculo en los medios: Agar TCBS, GSP, Macconkey y PCA, solo para aislamiento de bacterias y todo ello fue incubado a 35°C por 18h-24h (Figura 23).

Figura 23

Diseño para siembra en placas para aislamiento

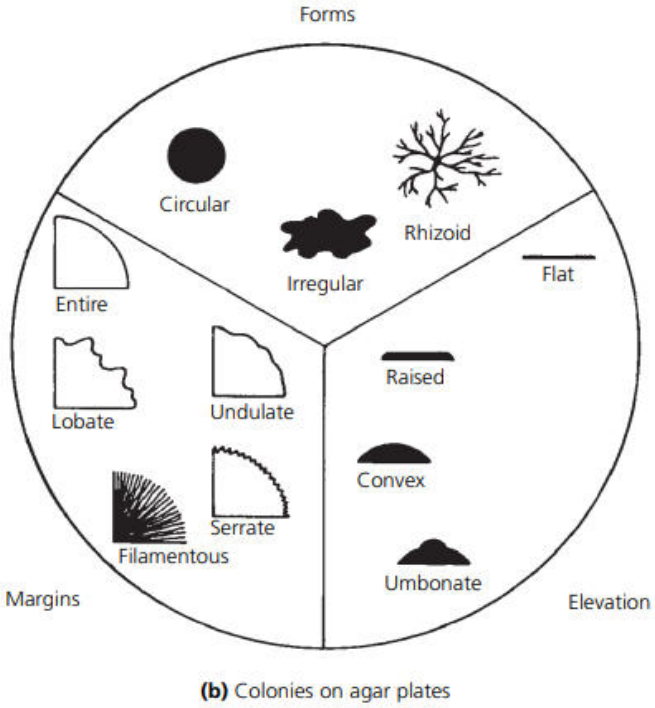


3.5.2.3.Caracterización fenotípica

Para la caracterización fenotípica, se consideró la metodología descrita por Bou *et al.* (2011), basada en criterios observables, incluyendo aspectos como: morfología, desarrollo, y propiedades tanto bioquímicas como metabólicas. En el caso de este trabajo de investigación, con la finalidad de contar con un registro de las cepas previamente aisladas en los cultivos larvarios de *Aulacomya atra*, se tomó en cuenta el registro morfológico, considerando: color, textura, forma, borde y elevación (Cappuccino, 2017) (Figura 24).

Figura 24

Guía para clasificación morfológica de colonias bacterianas



(b) Colonies on agar plates

Nota. Tomado de (Cappuccino, 2017)

3.5.2.4.Pruebas bioquímicas complementarias

En cada cepa aislada se realizaron dos pruebas preliminares: tinción de Gram y prueba de la catalasa. A partir de los resultados de ambas pruebas, y en conjunto con las características fenotípicas se plantearon grupos presuntivos.

A. Tinción Gram

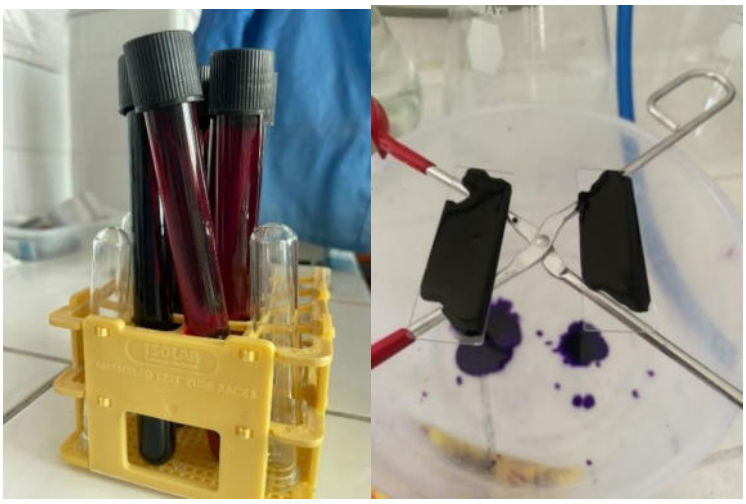
La tinción de Gram se realizó con la finalidad de determinar la reacción de las cepas bacterianas frente a los colorantes empleados en el procedimiento, lo cual permite clasificarlas entre Gram positivas o Gram negativas. Para ello, se empleó la metodología descrita por Cappuccino (2017), para lo cual se tomó una muestra de la colonia bacteriana de interés y se colocó sobre sobre un porta objetos, se fijó la muestra con calor y se aplicó inicialmente cristal violeta por 60 segundos, luego se enjuagó con agua destilada y se añadió lugol como mordiente por otros 60 segundos, nuevamente se enjuagó con agua destilada y se aplicó

alcohol etílico al 95% como decolorante por 45 segundos y finalmente se añadió safranina como colorante de contraste por 45 segundos (Figura 25).

Posteriormente, las muestras se observaron en un microscopio óptico empleando un objetivo de 100X con aceite de inmersión, para el registro de la reacción de tinción de cada una de las cepas evaluadas. Este procedimiento fue una prueba preliminar importante para una identificación bacteriana, lo cual permitió seleccionar las cepas a trabajar.

Figura 25

Tinción Gram aplicada a cepas aisladas

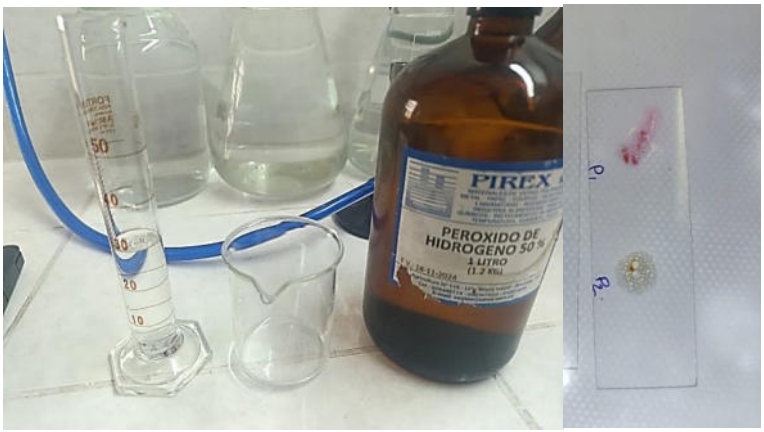


B. Prueba de catalasa

La prueba de catalasa se realizó con la finalidad de determinar la presencia de la enzima catalasa en las muestras, lo que indicaría su capacidad para descomponer el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno, siendo esta reacción característica de bacterias aerobias y anaerobias facultativas. Tomando en cuenta la metodología descrita por Khatoon *et al*. (2022), para realizar la prueba de catalasa se tomó un pequeña colonia bacteriana que creció previamente en un medio de cultivo en agar, y se colocó sobre un portaobjetos y se añadió una gota de peróxido de hidrógeno al 3%, se observó la reacción generada, cuando hubo una formación inmediata de burbujas era indicativo de una reacción catalasa positiva, por el contrario la ausencia de estas burbujas en las muestras era representativo de una reacción catalasa negativa (Figura 26).

Figura 26

Prueba de catalasa aplicada en cepas aisladas



Nota. La presencia de efervescencia en las muestras de la imagen, muestran resultados positivos a la prueba de catalasa.

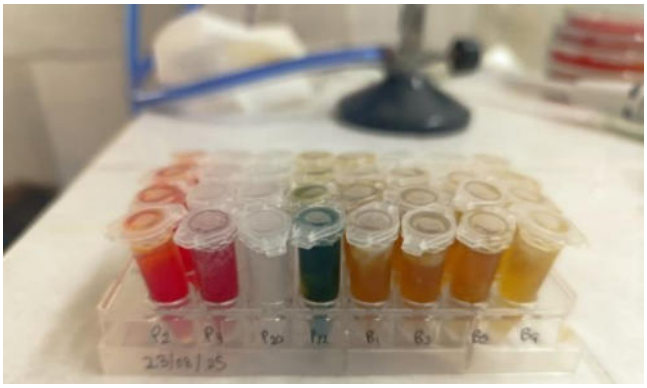
3.5.3. Evaluación de la capacidad antagonista de bacterias con potencial probiótico frente a bacterias patógenas

3.5.3.1.Conservación de cepas

Las cepas bacterianas aisladas (probióticas y patógenas) se conservaron mediante congelación, pero con adición de glicerol al 15–20% (v/v) a una temperatura de –20 °C, donde el glicerol actúa como crioprotector para evitar la formación de cristales de hielo que dañen las células de las bacterias (García y Uruburu, 2000; Gutiérrez *et al*., 2015). Previo almacenamiento, se colocó el agar aun sin gelificar en tubos eppendorf de 1,5 ml, con el 20% de glicerol y la muestra de la cepa bacteriana (Figura 27).

Figura 27

Conservación de cepas potencialmente patógenas y probióticas



3.5.3.2.Preparación de inóculo

Antes de realizar la prueba de antagonismo, según la metodología descrita por García *et al.* (2017), las colonias formadas en el medio de cultivo sólido, fueron trasvasadas a un medio líquido, para ello se tomaron de 3 a 5 colonias similares de la placa con ayuda de un asa bacteriológica y se sembró en 10 mL de medio líquido compuesto por solución salina 0,85% (Rivera, 2013), lo que generó una turbidez que debe ajustarse al McFarland a 0,5, para ello se empleó una tarjeta de blanco y negro para realizar una comparación visual entre el patrón de Mc Farland con cada una de las cepas (Figura 28 y 29).

Figura 28

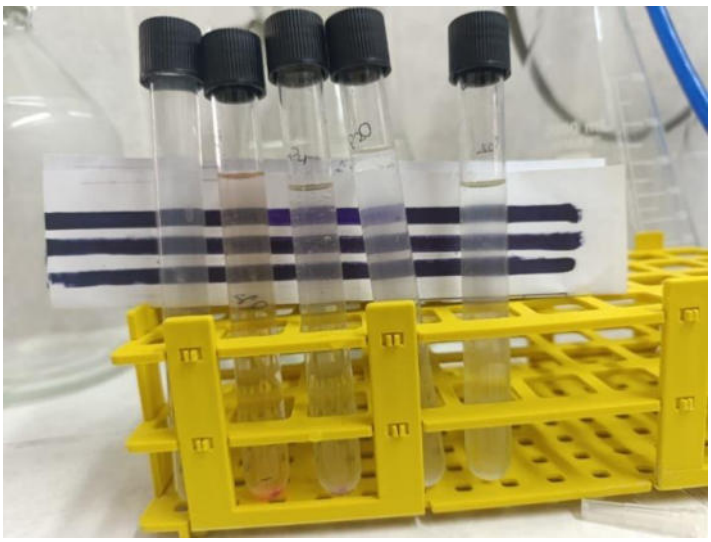
Composición de McFarland

Número de la turbidez estándar	Cloruro de bario dihidratado (1,175%)	Ácido sulfúrico (1%)	Densidad de bacterias aproximada correspondiente
0,5	0,5 ml	99,5 ml	1×10^8
1	0,1 ml	9,9 ml	3×10^8
2	0,2 ml	9,8 ml	6×10^8
3	0,3 ml	9,7 ml	9×10^8
4	0,4 ml	9,6 ml	12×10^8
5	0,5 ml	9,5 ml	15×10^8
6	0,6 ml	9,4 ml	18×10^8
7	0,7 ml	9,3 ml	21×10^8
8	0,8 ml	9,2 ml	24×10^8
9	0,9 ml	9,1 ml	27×10^8
10	1,0 ml	9,0 ml	30×10^8

Nota. Para la preparación de McFarland se emplea 0,5 mL de 0.048M de BaCl2 en 99.5 ml de 0.18M de H2SO4, en espectrofotómetro, la absorción a 625 nf suele estar entre 0.08 y 0.10. Tomado de (Perilla *et al.*, 2009).

Figura 29

Ajuste de turbidez de suspensiones bacterianas

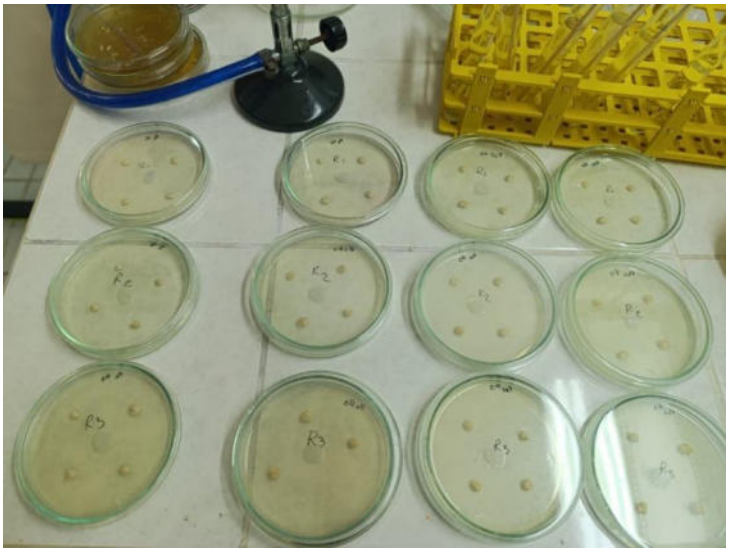


3.5.3.3.Prueba de antagonismo

Para la evaluación de antagonismo de las bacterias con potencial probiótico aisladas frente a las bacterias potencialmente patógenas, se empleará el Agar Mueller-Hinton + 2% de NaCl en placas Petri. La metodología se basó en lo descrito por Gauthier (1976) en la cual los patógenos con la solución estandarizada fueron inoculados de manera uniforme en la superficie del agar Mueller-Hinton al 2% NaCl con ayuda de un hisopo estéril, se dejó reposar 20 minutos y posteriormente se colocaron cúmulos de masas bacterianas de cada cepa de interés con potencial probiótico. Así mismo se consideró un control, en este caso se empleó un disco sumergido solo en solución salina estéril. Luego se incubaron las placas a 37°C por 24h, transcurrido este periodo, se observaron los halos de inhibición que fueron medidos con ayuda del software para el procesamiento de imágenes ImageJ empleando un objeto de referencia con una medida conocida (Figura 30).

Figura 30

Pruebas de antagonismo con 4 cepas potencialmente patógenas y 4 probióticas previamente seleccionadas



3.5.4. Identificación molecular de bacterias patógenas y probióticas

La identificación de las bacterias empleadas en los ensayos de antagonismo se realizó mediante análisis molecular del gen 16S rRNA, a través de un servicio externo realizado por Macrogen Chile. Se analizaron 8 cepas bacterianas, correspondientes a 4 bacterias potencialmente patógenas (P2, P4, P20 y P22) y 4 bacterias potencialmente probióticas (B1, B3, B5 y B9), las cuales fueron enviadas en placas con medio TSA (Tryptic Soy Agar), con colonias bacterianas puras.

Macrogen Chile se encargó de la extracción del ADN genómico, la amplificación por PCR y la secuenciación. Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial a 95 °C por 5 minutos, 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, hibridación a 60 °C por 30 segundos y extinción a 72 °C durante 1 minuto, extensión final a 72 °C durante 7 min y, mantenimiento a 10 °C por 10 minutos (Abed y Shareef, 2021; Redhwan *et al.*, 2021).

La extracción de ADN se realizó con el kit de extracción PowerSoil DNA MOBIO, siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego se amplificó el gen 16S ARNr mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando partidores

universales 27F y 1492R, previamente descritos por Brosius *et al.* (1981). Las secuencias de los partidores utilizados fueron:

- 27F (Forward): 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'
- 1492R (Reverse): 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'

La amplificación de los productos se realizó en un termociclador Px2 (Thermo Corporation), para posteriormente ser visualizados en un gel de agarosa 1%. El producto de PCR fue purificado con el kit de purificación UltraCleanTM15 DNA (MoBio Laboratories, CA, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La secuenciación se realizó en Macrogen Inc., por el método Sanger, garantizando una longitud de secuencia mínima de 1.400 pb. Las secuencias obtenidas se compararon las con la base de datos GenBank y el programa Blast (NCBI, 2025) y la identificación bacteriana se determinó en función del mayor porcentaje de identidad en los resultados de laboratorio obtenidos.

3.6. Análisis de datos

Los datos obtenidos tras la ejecución del estudio fueron organizados y analizados de acuerdo con cada objetivo. El análisis estadístico se realizó utilizando el software SPSS v23.0. Previamente, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene y en función de los resultados, se aplicaron pruebas paramétricas o no paramétricas, considerando un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Las concentraciones bacterianas obtenidas fueron transformadas a $\log_{10}$ a fin de aproximarse a una distribución normal y homogénea. En los recuentos en medio PCA se presentó una distribución normal, por ello se aplicó la prueba t de Student para muestras independientes. En el caso del recuento en medio TCBS no se cumplió con la normalidad, por lo que se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann–Whitney para comparar las muestras de larvas sanas y moribundas.

Para la prueba de antagonismo, se determinó que los datos de las zonas de inhibición (mm) no presentaron normalidad, por ello se aplicó la prueba de Kruskal–Wallis para evaluar diferencias entre las cepas potencialmente

probióticas, y posteriormente se realizó la prueba de post hoc de Dunn–Bonferroni, para identificar el o los tratamientos con diferencia significativa respecto al control.

Para la caracterización de las cepas bacterianas aisladas se realizaron tablas con los datos obtenidos y figuras que facilitaron interpretar los resultados obtenidos en este estudio.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Diferencias de concentración bacteriana entre larvas sanas y moribundas

Los resultados obtenidos en función a la cantidad de bacterias cultivables totales se muestran en la Tabla 9, donde se encuentran datos de la concentración de bacterias que crecieron en medio PCA, en el que las muestras correspondientes a larvas moribundas (M1 y M2) presentaron valores superiores en UFC/g en comparación a las muestras de larvas sanas (S1 y S2). Obteniéndose en promedio $1{,}24 \times 10^8$ UFC/g (7,4 $\log_{10}$ UFC/g) en larvas moribundas y $5{,}54 \times 10^7$ UFC/g (7,1 $\log_{10}$ UFC/g) en larvas sanas, considerando el promedio de las diluciones 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} y 10^{-4} de cada muestra.

Tabla 9

Concentración de bacterias totales cultivables en medio PCA

Código	Muestra	DILUCIÓN	UFC/g	LOG_{10}
S1	Sana	-1	$1{,}35 \times 10^6$	6,13
S1	Sana	-2	$5{,}37 \times 10^6$	6,73
S1	Sana	-3	$3{,}78 \times 10^7$	7,58
S1	Sana	-4	$3{,}12 \times 10^8$	8,49
S2	Sana	-1	$8{,}77 \times 10^5$	5,94
S2	Sana	-2	$6{,}62 \times 10^6$	6,82
S2	Sana	-3	$3{,}71 \times 10^7$	7,57
S2	Sana	-4	$4{,}25 \times 10^7$	7,63
M1	Moribunda	-1	$1{,}56 \times 10^6$	6,19
M1	Moribunda	-2	$4{,}36 \times 10^6$	6,64
M1	Moribunda	-3	$9{,}13 \times 10^7$	7,96
M1	Moribunda	-4	$4{,}13 \times 10^8$	8,62
M2	Moribunda	-1	$8{,}8 \times 10^5$	5,94
M2	Moribunda	-2	$1{,}7 \times 10^7$	7,23
M2	Moribunda	-3	$1{,}23 \times 10^8$	8,09
M2	Moribunda	-4	$3{,}4 \times 10^8$	8,53

Nota. UFC/g: unidades formadoras de colonias por gramo de muestra. LOG_{10}: logaritmo en base 10 de la concentración de bacterias totales cultivables.

En la Figura 31 y Figura 32 se aprecia que las larvas moribundas presentan valores mayores en la concentración bacteriana en comparación con lo obtenido en las muestras de larvas sanas, sin embargo, a pesar de observar una diferencia visual, la prueba t de Student aplicada para muestras independientes, realizada tras confirmar la normalidad en los datos, no mostró diferencias significativas entre grupos ($t = –0,603$; $p = 0,556$).

Figura 31

Concentración bacteriana (UFC/g) por crecimiento en medio PCA

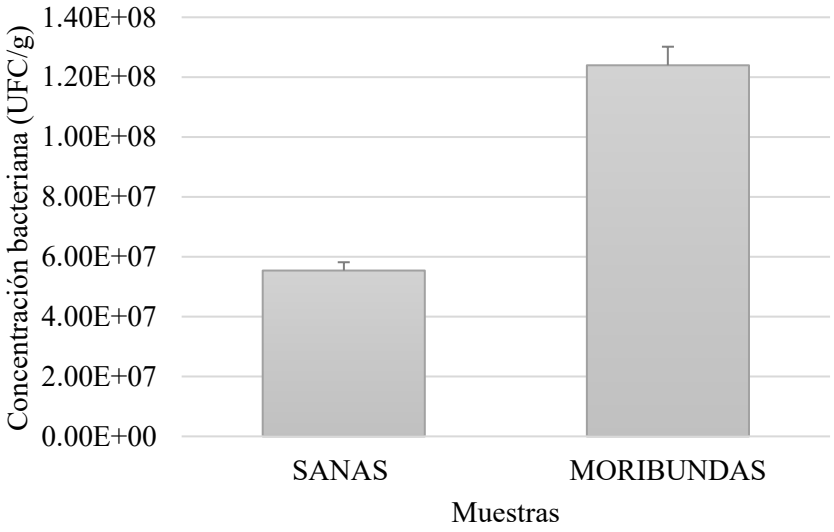
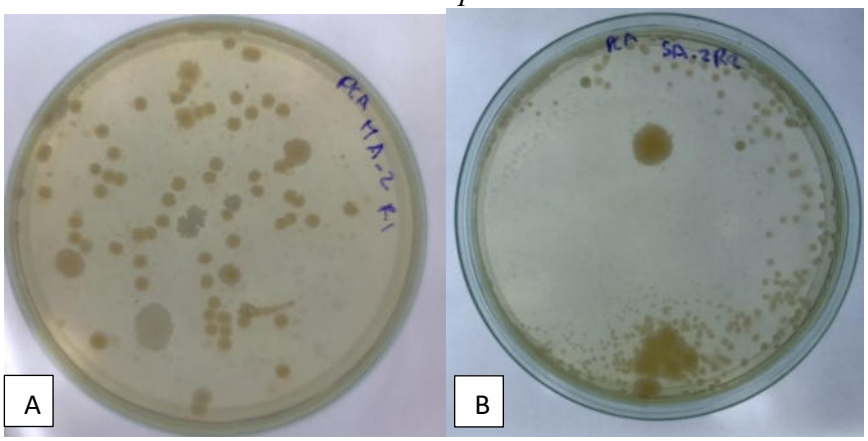


Figura 32

Crecimiento de colonias bacterianas en placas de PCA



Nota. A: crecimiento de colonias en muestras de larvas moribundas. B: crecimiento de colonias en muestras de larvas sanas (Ambas en dilución -2)

Por otro lado, en la Tabla 10 se muestran los valores de crecimiento bacteriano obtenidos en el medio selectivo TCBS, el cual fue nulo para las muestras de larvas sanas, mientras que en las muestras de larvas moribundas se obtuvo una concentración promedio de 2,19 × 10^3 UFC/g. La detección de colonias exclusivamente en las muestras de larvas moribundas sugiere la posible presencia de bacterias del género Vibrio, las cuales podrían estar asociadas a los eventos de mortalidad.

Tabla 10

Concentración de bacterias del género Vibrio en medio selectivo TCBS

Código	Muestra	DILUCIÓN	UFC/g	LOG
S1	Sana	-1	0	0,00
S1	Sana	-2	0	0,00
S1	Sana	-3	0	0,00
S1	Sana	-4	0	0,00
S2	Sana	-1	0	0,00
S2	Sana	-2	0	0,00
S2	Sana	-3	0	0,00
S2	Sana	-4	0	0,00
M1	Moribunda	-1	0	0,00
M1	Moribunda	-2	0	0,00
M1	Moribunda	-3	0	0,00
M1	Moribunda	-4	0	0,00
M2	Moribunda	-1	8.33×10^2	2,92
M2	Moribunda	-2	1.67×10^4	4,22
M2	Moribunda	-3	0	0,00
M2	Moribunda	-4	0	0,00

4.1.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas

Durante el evento de mortalidad en el cultivo larvario de *A. atra,* se aislaron un total de 33 cepas bacterianas, de las cuales 11 correspondieron a

bacterias potencialmente probióticas aisladas en medio MRS (De Man-Rogosa-Sharpe) de muestras de larvas sanas o sobrevivientes, y 22 cepas de bacterias potencialmente patógenas aisladas de larvas moribundas en medios de cultivo PCA, TCBS, GSP y MacConkey.

La Tabla 11 muestra las características morfológicas en función al color, textura, forma, borde y elevación de cada una de las 22 cepas potencialmente patógenas aisladas de la muestra de larvas moribundas, así mismo se tiene la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) contadas en los medios de cultivo, a fin de ver la predominancia de alguna cepa por cada medio.

Tabla 11

Características morfologicas del aislamiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas provenientes de larvas moribundas

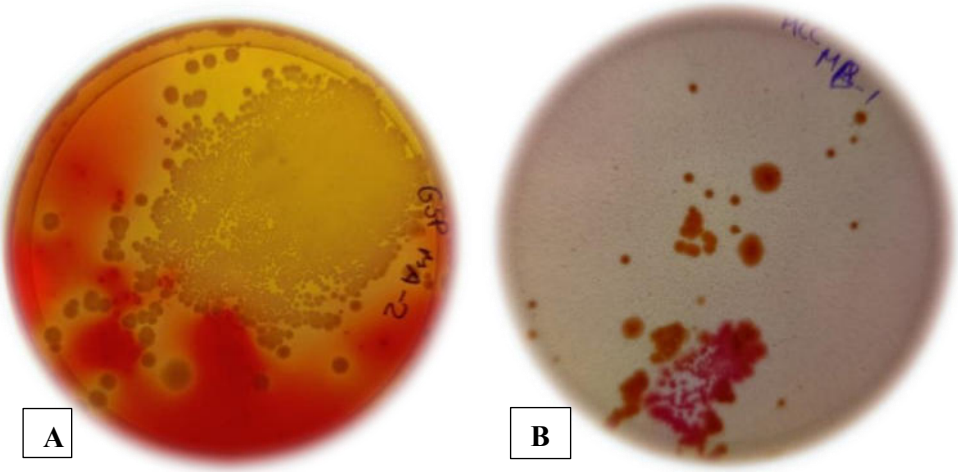
Código	Medio	Color	Textura	Forma	Borde	Elevación	UFC	Gram	Catalasa	Grupo presuntivo
P1	GSP	rojo	lisa	circular	entero	convexo	554	-	+	Pseudomonas
P2	GSP	amarillo	lisa	circular	ondulado	convexo	558	-	-	Aeromonas
P3	GSP	amarillo	rugosa	irregular	dentado	elevado	11	-	-	Aeromonas
P4	MC	traslucido	lisa	irregular	entero	convexo	71	-	-	Shiguella
P5	MC	rosa	rugosa/mucosa	irregular	lobulado	elevado	1	-	+	Escherichia
P6	MC	rojo	lisa	circular	entero	elevado	64	-	+	Escherichia
P7	MC	rosa	lisa	circular	entero	umbonado	39	+	-	Enterococcus
P8	MC	rojo	lisa	circular	entero	umbonado	61	-	-	Shiguella
P9	GSP	amarillo	lisa	circular	entero	elevado	24	-	-	Aeromonas
P10	PCA	crema-oscuro	lisa	circular	entero	elevado	222	-	-	Lactococus / Lactobacillus
P11	PCA	crema-claro	rugoso	irregular	circular	plano	45	-	+	Escherichia
P12	PCA	crema-claro	rugoso	irregular	lobulado	plano	28	+	+	Staphylococcus / Listeria
P13	PCA	crema-claro	lisa	irregular	dentado	plano	5	+	+	Staphylococcus/ Listeria
P14	PCA	crema-claro	lisa	rizoide	lobulado	plano	18	-	+	Escherichia
P15	PCA	rosa	rugoso	irregular	lobulado	elevado	1	-	-	Lactococus / Lactobacillus
P16	PCA	crema	rugosa	rizoide	lobulado	plano	27	-	+	Escherichia
P17	PCA	blanco	lisa	circular	entero	elevado	36	-	+	Escherichia
P18	PCA	crema-oscuro	lisa	circular	ondulado	elevado	1	-	-	Lactococus / Lactobacillus
P19	PCA	crema-claro	lisa	irregular	ondulado	plano	43	-	-	Lactococus / Lactobacillus
P20	PCA	crema-oscuro	lisa	irregular	ondulado	plano	956	-	+	Pseudomonas
P21	TCBS	verde	lisa	circular	entero	plano	1	-	+	Vibrio
P22	TCBS	amarillo	lisa	circular	entero	elevado	2	-	+	Pseudomonas

Nota. Características de colonias provenientes de medios de cultivo: GSP, PCA, MacConkey (MC) y TCBS. Y grupo presuntivo determinado de manera preliminar según pruebas de tinción gram y catalasa de resultado positivo (+) o negativo (-).

En la Figura 34 se observa el crecimiento de colonias amarillas en medio de cultivo selectivo GSP, característico de bacterias del género Aeromona y algunas colonias rojas pequeñas de Pseudomonas, así mismo en el agar MacConkey se observaron diferentes colonias que podrían ser del género Escherichia (colonias rojas) o Shiguella (colonias naranjas o traslúcidas).

Figura 33

Crecimiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas en medio GSP y MacConkey

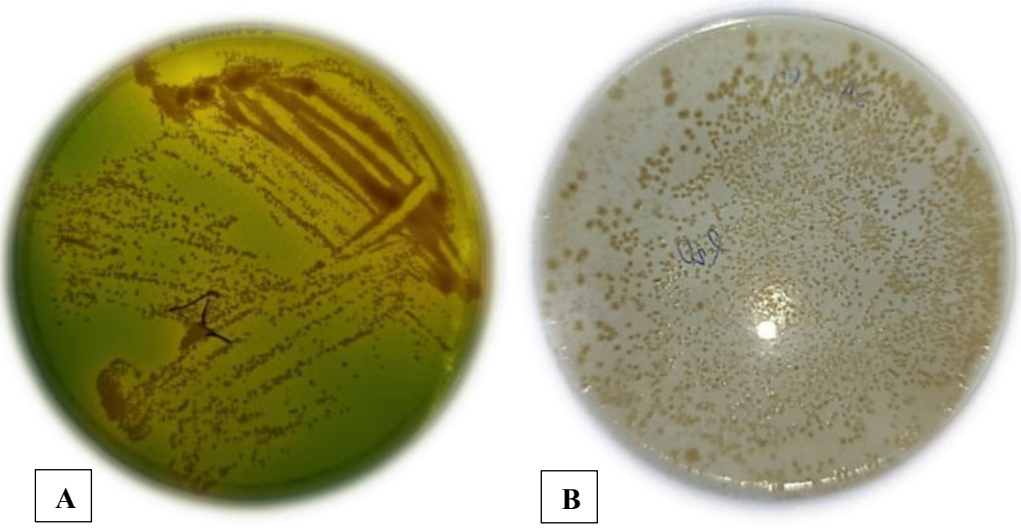


Nota. A: Colonias amarillas y rojas, presuntamente Pseudomonas y Aeromonas. B: Presencia de hasta 2 colonias diferentes en agar MacConkey.

Otros medios de cultivo permitieron el aislamiento de Vibrio en agar TCBS, donde se tuvo el crecimiento en mayor medida de colonias amarillas característico de *V. cholerae* o *V. alginolyticus***.**, mientras que el medio Centrimide permitió aislar selectivamente Pseudomonas, que luego fueron resembradas en agar PCA (Figura 35).

Figura 34

Crecimiento de colonias bacterianas potencialmente patógenas en medio TCBS y PCA



Nota. A: Colonias amarillas en agar TCBS posiblemente *V. cholerae* o *V. alginolyticus*. B: Colonias crecidas en medio PCA previamente aisladas de medio Centrimide selectivo para Pseudomona.

Las bacterias patógenas aisladas presentaron una diversidad morfológica variada, las colonias que predominaron fueron de textura lisa (73%), forma circular (50%), borde entero (50%) y elevado (41%) (Figura 36). En cuanto a las pruebas bioquímicas realizadas, el 86% de las cepas fueron Gram negativas y el 14% Gram positivas, por otro lado, la prueba catalasa mostró que el 55% de los aislamientos fueron positivos y el 45% negativos (Figura 37).

Figura 35

Predominancia de características morfológicas en colonias aisladas de larvas moribundas

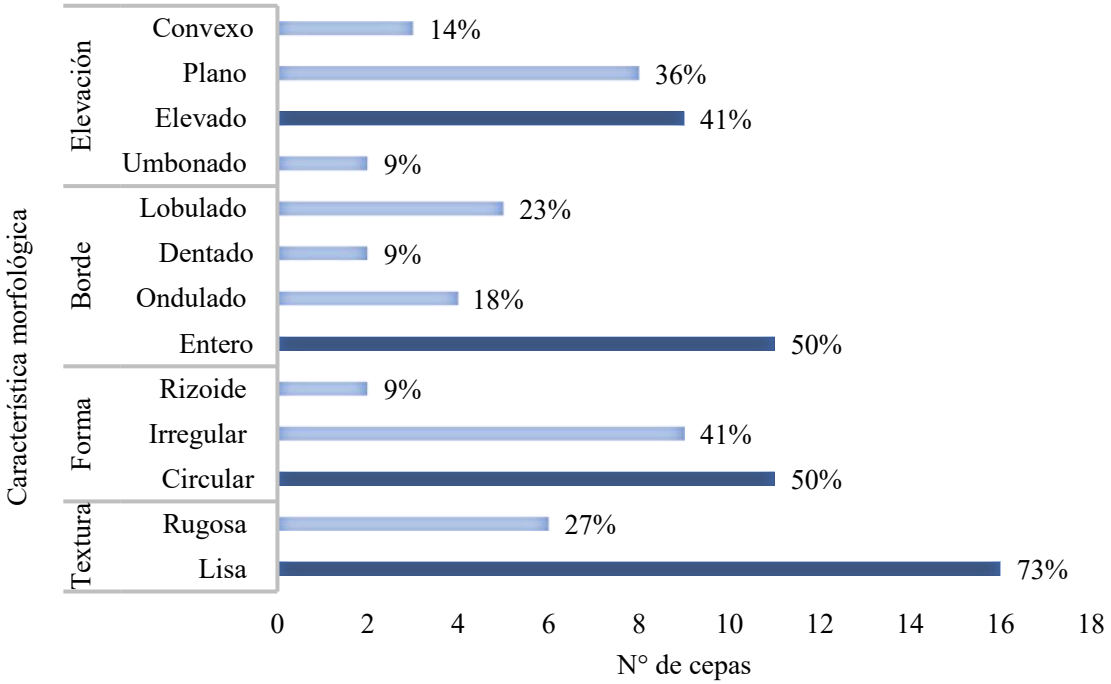
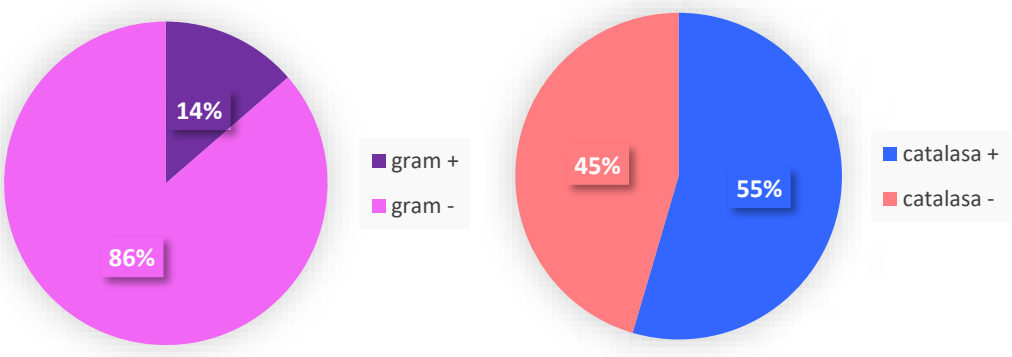


Figura 36

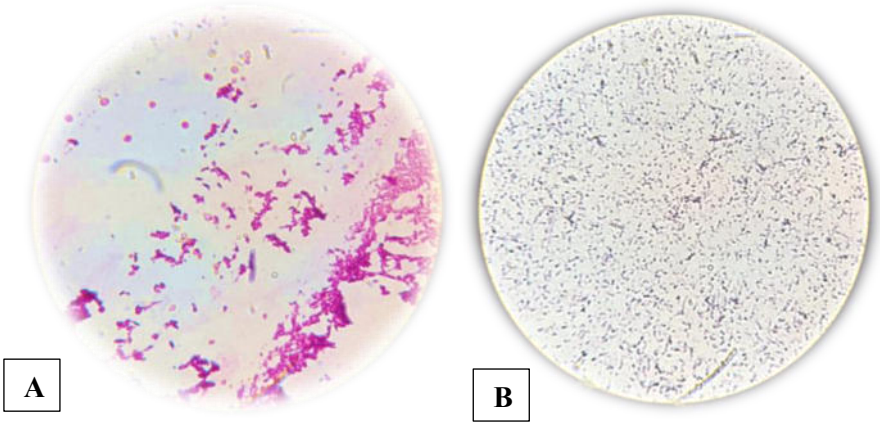
Proporciones de tinción Gram y prueba catalasa según aislamiento de cepas bacterianas potencialmente patógenas



La Figura 38, muestra los resultados obtenidos tras realizar la prueba de Tinción Gram, donde se visualizó una coloración fucsia en bacterias Gram negativas como es el caso de la cepa P8 y una coloración violeta para bacterias Gram positivas como la cepa P7.

Figura 37

Resultado de tinción Gram en cepas P7 y P8

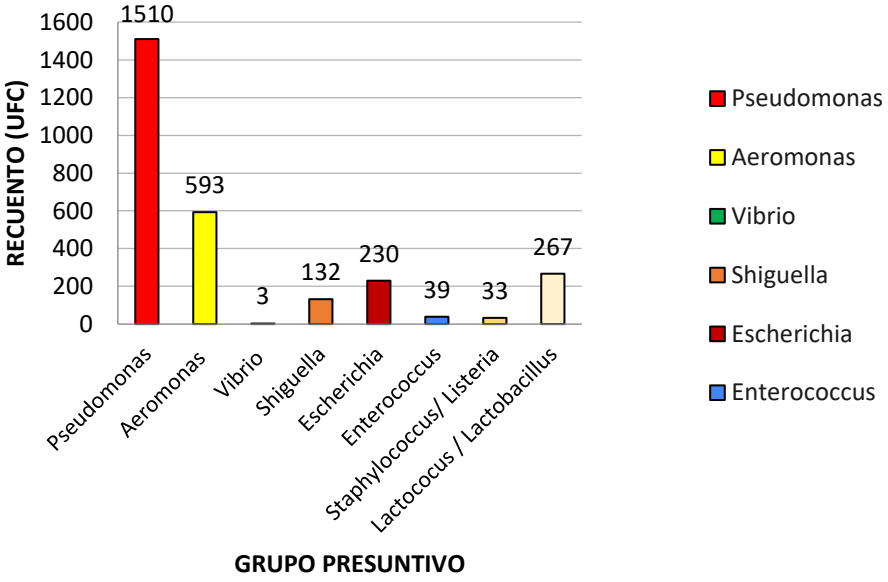


Nota. Tinción Gram negativa (A) y tinción Gram positiva (B)

El análisis presuntivo permitió identificar géneros posiblemente asociados a la patogenicidad en los moluscos, tales como: Vibrio, Aeromonas, Enterococcus, Pseudomonas, Staphylococcus, Escherichia, Shiguella, Lactococus y Listeria, de estos, los grupos predominantes fueron: Pseudomonas (1510 UFC) y Aeromonas (593 UFC) (Figura 39).

Figura 38

Distribución de UFC por grupo presuntivo en cepas bacterianas provenientes de larvas moribundas



Por otro lado, en la Tabla 12, se muestran las características morfológicas de las 11 cepas potencialmente probióticas aisladas de larvas sanas en medio de cultivo MRS, considerando aspectos como: color, textura, forma, borde y elevación, así como pruebas de tinción Gram y Catalasa para ayudar a determinar el grupo presuntivo.

Tabla 12

Cepas bacterianas potencialmente probióticas aisladas de muestras de larvas sanas

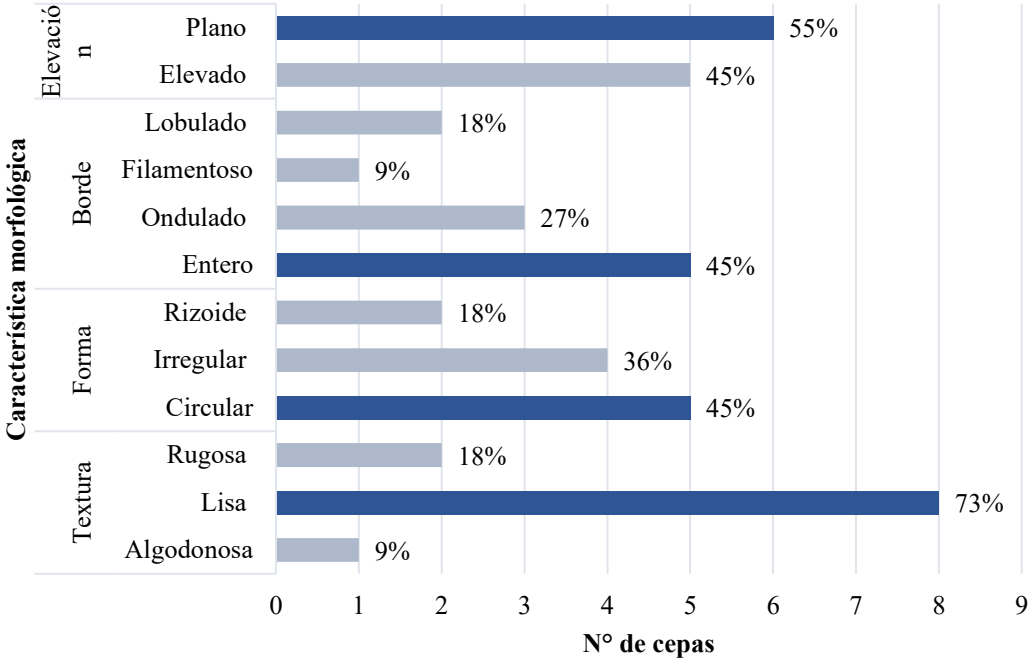
Cód.	Medio	Color	Textura	Forma	Borde	Elevación	Gram	Catalasa	Grupo presuntivo
B1	MRS	blanco	lisa	rizoide	ondulado	elevado	+	-	*Bacillus*
B2	MRS	blanco crema	lisa	circular	entero	plano	+	-	*Bacillus*
B3	MRS	traslucido	lisa	irregular	ondulado	plano	+	+	*Lactobacillus*
B4	MRS	traslucido opaco	lisa	circular	entero	plano	+	-	*Bacillus*
B5	MRS	blanco	lisa	circular	entero	elevado	+	+	*Lactobacillus*
B6	MRS	blanco traslucido	rugosa mucosa	rizoide	filamentoso	plano	-	+	*Hongo*
B7	MRS	blanco	algodonosa	irregular	ondulado	plano	+	+	*Hongo*
B8	MRS	blanco traslucido	rugoso	irregular	lobulado	elevado	+	+	*Lactobacillus*
B9	MRS	crema	lisa	circular	entero	elevado	-	-	*Bacillus*
B10	MRS	blanco	lisa	circular	entero	plano	+	-	*Bacillus*
B11	MRS	blanco	liso	irregular	lobulado	elevado	+	+	*Lactobacillus*

Nota. Resultado positivo (+) y resultado negativo (-) en tinción gram y prueba catalasa.

Las bacterias con potencial probiótico aisladas de larvas sanas, morfológicamente presentaron predominancia de borde entero (45%), forma circular (45%), textura lisa (73%) y colonias planas (55%) (Figura 40).

Figura 39

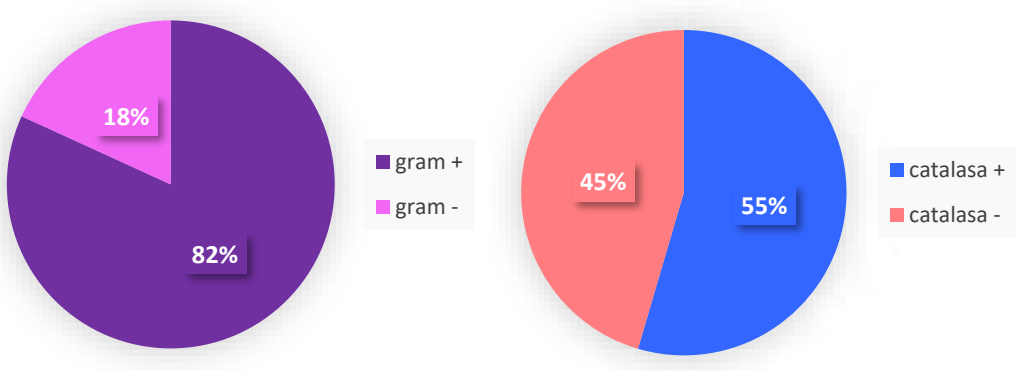
Predominancia de características morfológicas en colonias aisladas de larvas sanas



Tras la tinción Gram, el 82% resultaron Gram positivas y el 18% Gram negativas, mientras que en la prueba catalasa el 55% fueron positivos y el 45% negativos (Figura 41). En función a los grupos presuntivos, de las 11 cepas aisladas, 5 fueron Bacillus, 4 Lactobacillus y 2 hongos.

Figura 40

Proporciones de tinción Gram *y prueba catalasa*



La Figura 42 muestra el crecimiento de colonias en agar MRS, medio selectivo utilizado para el aislamiento de Bacillus y Lactobacillus. Las colonias fueron seleccionadas y aisladas en función de sus características morfológicas y de los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas realizadas. Posteriormente, se efectuaron dos resiembras sucesivas a fin de obtener cultivos puros.

Figura 41

Colonias crecidas en medio MRS para aislar bacterias con potencial probiótico

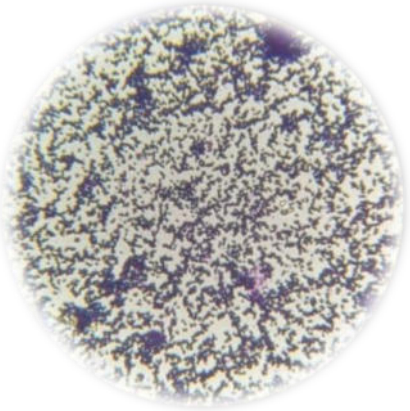


Nota. Se observan colonias dispersas en la superficie del agar, pero con diferencias morfológicas entre algunas de ellas.

La mayoría de las cepas aisladas correspondieron a bacterias Gram positivas, evidenciadas por la coloración violeta observada tras la tinción de Gram; tal como se presenta en la cepa B5 (Figura 43).

Figura 42

Tinción gram de resultado positivo para la cepa B5



4.1.3. Ensayos de antagonismo entre bacterias probióticas y patógenas

El análisis de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk indicó que los datos obtenidos no presentan una distribución normal ($p < 0.05$). Por ello, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

En la Tabla 13 y Figura 44 se muestran las zonas de inhibición promedio obtenidas del enfrentamiento de las cuatro cepas probióticas (B1, B3, B5 y B9) frente a las bacterias patógenas evaluadas (P2, P4, P20 y P22) y adicional se tiene el control del experimento.

La prueba de Kruskal–Wallis indicó la presencia de diferencias significativas entre al menos 2 de los tratamientos ($H = 9{,}999$; $gl = 4$; $p = 0{,}040$), bacterias patógenas provenientes del cultivo larvario de choro. Así mismo, el análisis post hoc (Dunn–Bonferroni) evidenció que solo la cepa B3 presentó una zona de inhibición significativamente mayor respecto al control ($p = 0{,}019$), mientras que las cepas B1, B5 y B9 no mostraron diferencias significativas con el control ni entre sí ($p > 0{,}05$). Por lo tanto, B3 fue la cepa más efectiva frente a las bacterias patógenas analizadas.

Tabla 13

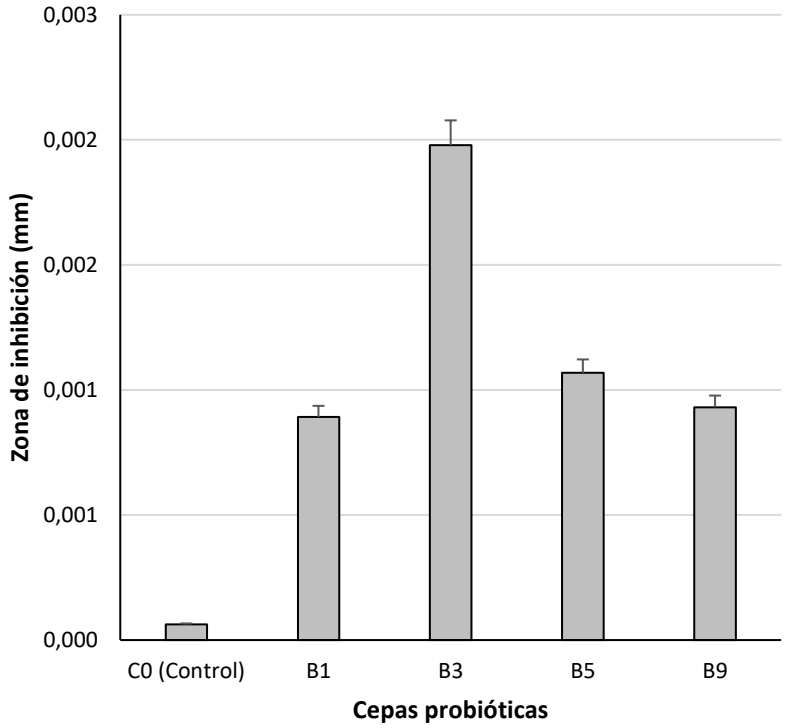
Zona de inhibición (mm) producida por cepas probióticas frente a bacterias patógenas

Nota. B3 fue la única cepa que, mostró un efecto significativo en inhibición en comparación al control para el enfrentamiento contra los patógenos P2, P4, P20 y P22

Cepa probiótica	P2 (mm)	P4 (mm)	P20 (mm)	P22 (mm)	Promedio ± DE	Significación vs control
C0 (Control)	0,25 ± 0,44	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,22	-
B1	2,12 ± 1,93	0,00 ± 0,00	1,44 ± 2,50	0,00 ± 0,00	0,89 ± 1,65	1,000
B3	3.57 ± 0,55	2,02 ± 2,41	1,73 ± 1,57	0,58 ± 1,01	1,97± 1,72	0,019
B5	2,60 ± 1,18	0,00 ± 0,00	1,66 ± 1,47	0,00 ± 0,00	1,42 ± 1,06	0,914
B9	2,42 ± 2,23	0,00 ± 0,00	0,72 ± 1,25	0,57 ± 1,00	0,93 ± 1,50	1,000

Figura 43

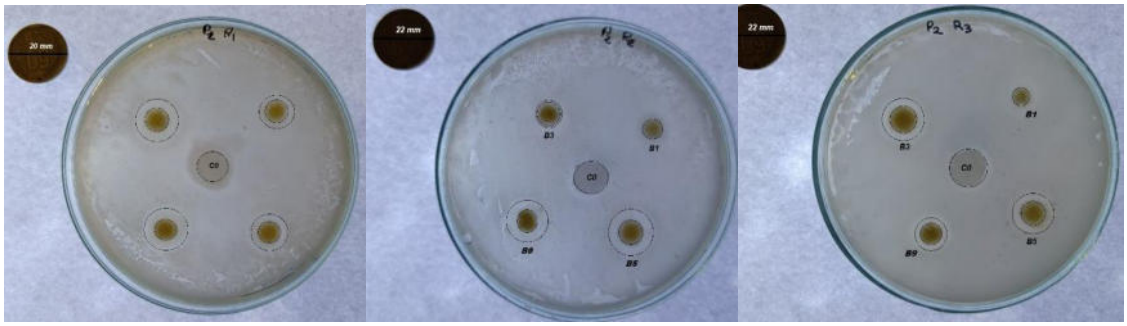
Gráfico de zona de inhibición efectuada por las 4 cepas de potencial probióticos contra los 4 patógenos seleccionadas + control



A continuación, se muestran los halos de inhibición generados en cada uno de los tratamientos contra los patógenos P2, P4, P20 y P22 empleando 4 bacterias potencialmente probióticas aisladas previamente (Figura 45 - 48).

Figura 44

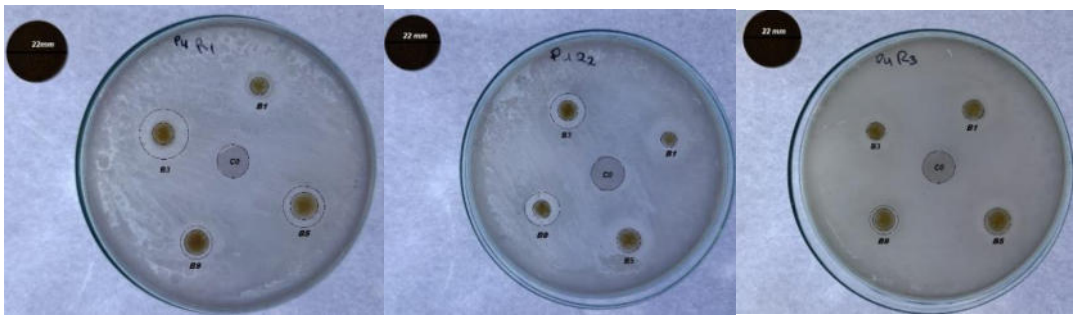
Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P2



Nota. En este tratamiento B3 destacó en el enfrentamiento contra el patógeno P2, obteniendo un halo de inhibición promedio de 3,57 ± 0,55 mm.

Figura 45

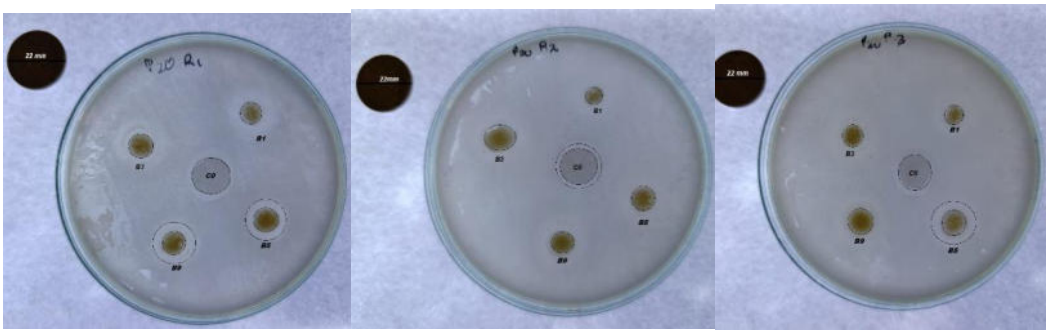
Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P4



Nota. En este tratamiento B3 destacó en el enfrentamiento contra el patógeno P4, obteniendo un halo de inhibición promedio de 2,02 ± 2,41mm.

Figura 46

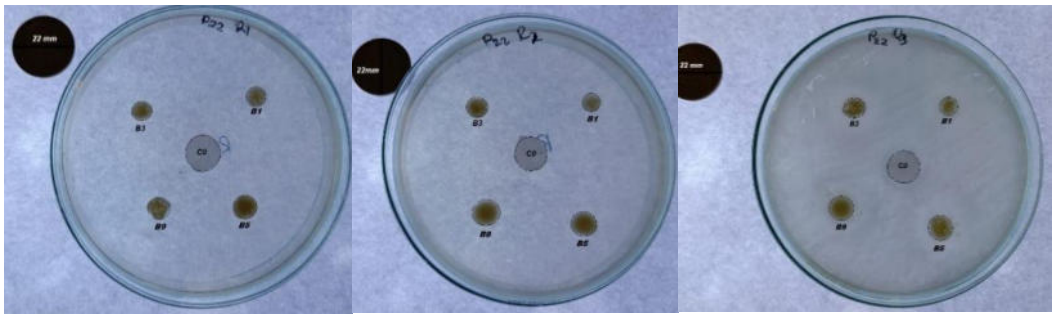
Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P20



Nota. En este tratamiento también B3 destacó en el enfrentamiento contra el patógeno P22, obteniendo un halo de inhibición promedio de 1,73 ± 1,57 mm.

Figura 47

Zonas de inhibición efectuadas por cada cepa potencialmente probiótica contra P22



Nota. En este tratamiento B3 y B9 inhibieron al patógeno P22, obteniendo un halo de inhibición promedio de 0,58 ± 1,01 mm y 0,57 ± 1,00 mm respectivamente.

4.1.4. Identificación molecular

La identificación molecular de las bacterias empleadas en los ensayos de antagonismo se realizó mediante el análisis del gen ARNr 16S, a través de un servicio proporcionado por Macrogen Chile. Se analizaron ocho cepas bacterianas, correspondientes a cuatro bacterias potencialmente patógenas (P2, P4, P20 y P22) y cuatro bacterias con potencial probiótico (B1, B3, B5 y B9), las cuales fueron enviadas en colonias puras cultivadas en medio TSA.

La extracción del ADN genómico, la amplificación por PCR y la secuenciación se realizaron con éxito para todas las cepas analizadas. La amplificación del gen ARNr 16S generó productos de aproximadamente 1.400 pb, los cuales fueron secuenciados mediante el método Sanger. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con la base de datos GenBank utilizando el programa BLAST, permitiendo la identificación taxonómica de las cepas en función del mayor porcentaje de identidad.

Tabla 14

Identificación de cepas bacterianas aisladas por amplificación del gen ARNr 16S provenientes de larvas sanas y moribundas

Código	Identificación molecular	Identidad (%)	Número de Accession
P2	*Staphylococcus saprophyticus* strain SCD2-5	99%	KF476045.1
P4	*Staphylococcus saprophyticus* strain FDAARGOS_355,	99%	CP022093.1
P20	*Staphylococcus warneri* strain SH13	99%	LC035464.1
P22	*Vibrio sp.* 448, isolate 448	99%	HF937143.1
B1	*Staphylococcus saprophyticus* strain TA1 16S	99%	KY992564.1
B3	*Bacillus pumilus* strain BLJB-05	99%	KY970152.1
B5	*Staphylococcus xylosus* strain MGSL01	100%	KY006077.1
B9	*Staphylococcus sp.* ECH3 16S	99%	KP644774.1

Nota. El número de accesión sirve para identificar de manera única una secuencia genética depositada en una base de datos pública como GenBank.

4.2. Discusión

4.2.1. Concentración de bacterias

Los resultados obtenidos en esta investigación en función a la concentración bacteriana entre larvas sanas y moribundas de *Aulacomya atra*, demostraron que, aunque no hubo diferencias significativas en la concentración total de bacterias, si hubo diferencias cualitativas que explicarían la mortalidad observada. En el medio PCA, las muestras de larvas moribundas presentaron 7,4 $\log_{10}$ UFC/g en promedio, superiores a los 7,11 $\log_{10}$ UFC/g registrados en larvas sanas, sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa, pero solo las larvas moribundas presentaron crecimiento bacteriano en medio TCBS, indicando la presencia de bacterias del género Vibrio, estos resultados coinciden con lo reportado por Godoy *et al.* (2011), que por su parte, demostraron que en cultivos larvarios de *Argopecten purpuratus* la carga bacteriana total alcanzó 7,5 y 8,4 $\log_{10}$ UFC/g y se mantuvo relativamente constante durante 15 días de cultivo, sin evidenciar incrementos significativos asociados a la mortalidad. No obstante, se registraron variaciones en la predominancia de géneros, destacando Vibrio. De la misma manera, Miranda *et al.* (2015) reportaron un comportamiento similar tanto en sistemas de cultivo integrado como no integrados, registrando concentraciones de $8{,}8\times10^4$ UFC/mL de bacterias heterótrofas totales y la presencia de *Vibrio spp.* en sistemas no integrados. En ambos estudios, así como en los resultados de la presente investigación, la presencia de Vibrio es un indicador de un problema sanitario en el cultivo, coincidiendo con lo señalado por Modak y Gomez (2020) y Varela (2022), quienes afirman que la mortalidad en estadíos iniciales del cultivo de moluscos bivalvos se da principalmente por la presencia de agentes infecciosos oportunistas, donde *Vibrio* spp. es uno de los patógenos más relevantes.

En este estudio se obtuvo $2{,}19 \times 10^3$ UFC/g equivalente a $1{,}31 \times 10^2$ UFC/mL de Vibrio en larvas moribundas de *A. atra*, un valor inferior a lo reportado por *Sugumar et al.* (1998) quienes registraron 1 x 10^5 UFC/mL de *Vibrio splendidus* durante el cultivo larvario de *Crassostrea,* y que provocó una mortalidad del 100% en 24h. Por otro lado, Kesarcodi *et al.* (2009) reportaron que concentraciones de 1 x 10^2 UFC/mL de Vibrio pueden causar mortalidades del 75–83% del cultivo de larvas del mejillón *Perna canaliculus*, lo que evidencia que bajas concentraciones también pueden ser letales. De la misma manera, Sandlund *et al.* (2006) identificaron a *V. pectenicida* y *V.*

splendidus como causantes del 65,7 % de mortalidades en larvas de *Pecten maximus*, Guimarães y Azevedo (2025) que Vibrio y Photobacterium ocasionaron hasta 98% de mortalidad en larvas *Mytilus edulis*. Prado *et al.* (2005) describió a *V.neptunius* como patógeno en ostiones que ocasionaron 100% de mortalidades y Varela (2022) reportó a *Vibrio alginolyticus* como responsable de la necrosis bacilar en larvas de *Crassostrea gigas* ocasionando hasta un 90 % de mortalidad, mientras que en este estudio se tuvo una mortalidad del 79% en larvas de *A. atra*. En conjunto, todos estos resultados, indicarían que a pesar que se tengan niveles similares de bacterias totales, el tipo de bacteria marcaría la diferencia entre un cultivo sano y uno afectado, por ende, surge la necesidad de complementar los recuentos bacterianos con análisis cualitativos de bacterias, para identificar bacterias patógenas específicas asociadas a la mortalidad larvaria.

4.2.2. Aislamiento de bacterias potencialmente patógenas y probióticas

En cuanto al aislamiento de bacterias potencialmente patógenas, en este estudio, se aislaron de manera presuntiva los géneros: Pseudomonas, Aeromonas, Shigella, Escherichia y Enterococcus, usando medios de cultivo selectivos y de acuerdo a sus características morfológicas, así como pruebas de tinción Gram y Catalasa. Estos resultados evidencian que además de Vibrio, existe una mayor diversidad de bacterias oportunistas que estarían influyendo en la mortalidad larvaria. Entre ellas, las Pseudomonas destacaron por su predominancia, registrándose 1510 UFC en las muestras de larvas moribundas. Estudios previos han señalado que este género actúa como un potencial patógeno en larvas de moluscos. Coincidiendo con los hallazgos de Guillard (1959), quién aisló una cepa del género de Pseudomonas procedente de larvas moribundas de la almeja *Venus mercenaria*, la que provocó un 100% de mortalidad en bioensayos. Por su parte, Lodeiros *et al.* (1992) reportaron necrosis bacilar en larvas de *Euvola ziczac* asociada a infecciones por *Pseudomonas sp.* A pesar de ello, las investigaciones asociadas a la patogenicidad de este género sobre larvas de moluscos, y particularmente en mitílidos es muy escasa. Por lo que se presume que las cepas detectadas en este estudio podrían no ser tan letales como las del género *Vibrio*; sin embargo, se requiere profundizar y confirmar su patogenicidad para establecer con certeza la influencia de estas bacterias en los eventos de mortalidad observados en larvas de *Aulacomya atra*.

En relación a las Aeromonas, nuestros resultados evidenciaron que constituyó el segundo grupo bacteriano con mayor presencia en las muestras de larvas moribundas,

alcanzando un total de 593 UFC. Su detección es relevante, porque coincide con estudios que han identificado a este género como patógeno en el cultivo del bivalvo *Patinopecten yessoensis* (De Silva *et al*., 2019). Respecto a las bacterias *A. hydrophila*, *A. salmonicida* y *A. veronii* reportadas en nuestra investigación, fueron identificadas principalmente como patógenos en cultivos de peces (Tubiash, 1975), por lo que su influencia directa sobre la mortalidad de larvas de *A. atra* requiere confirmarse. Por otro lado, la presencia de bacterias del género Escherichia, Shigella y Enterococcus con concentraciones de 230 UFC, 132 UFC y 39 UFC respectivamente, sugiere una presunta contaminación de origen fecal (Heim *et al.*, 2023; Hoyos *et al.*, 2021; Martínez y De Bastardo, 2005), posiblemente asociada al agua empleada en el cultivo. Este hallazgo resalta la importancia de garantizar una adecuada calidad de agua en el sistema de cultivo larvario para evitar la introducción y posterior proliferación de microorganismos no deseados.

En relación al aislamiento de bacterias con potencial probiótico, en esta investigación, se identificaron preliminarmente bacterias de los géneros Bacillus y Lactobacillus en las muestras de larvas sanas, la capacidad probiótica de estos géneros han sido reportados en otros estudios con moluscos bivalvos, donde Sohn *et al.* (2016) reportaró que *Bacillus pumilus* mejoró la supervivencia (69%) de larvas de *Argopecten irradians*; sin embargo, no tuvo resultados positivos en *Ensis directus*, por ende, se considera que la eficiencia del probiótico depende de la especie a la que se aplique. De manera similar, Abasolo *et al.* (2017) encontraron que *Lactobacillus graminis* incrementó significativamente la supervivencia (100%) y el crecimiento de larvas (8,0 ± 0,23 μm día-1) de *A. ventricosus*, *Lactobacillus plantarum* mejoró la supervivencia de juveniles (100%), mientras que la combinación Lactobacillus + Bacillus favoreció la fijación de larvas pedivelíger. Sin embargo, otros autores han reportado probióticos distintos, tales como de *Arthrobacter* y *Pseudomonas* con actividad inhibitoria frente a *Vibrio* y *Aeromonas* (Riquelme *et al*., 2000). Diferencias que podrían atribuirse a las condiciones del cultivo o a la diversidad bacteriana del molusco bivalvo, en este caso *Aulacomya atra*. Estos resultados indican que las bacterias aisladas de larvas sanas podrían contribuir a la resistencia frente a patógenos propios del cultivo.

4.2.3. Identificación molecular y antagonismo

La identificación molecular de cepas bacterianas aisladas en este estudio por amplificación del gen ARNr 16S, confirmó la presencia de microorganismos potencialmente patógenos aisladas de larvas moribundas: *Staphylococcus saprophyticus* (P2 y P4), *Staphylococcus warneri* (P20) y *Vibrio* sp. (P22). Así mismo, se identificaron bacterias con potencial probiótico aisladas de larvas sanas: *Bacillus pumilus* (B3), *Staphylococcus xylosus* (B5), *Staphylococcus saprophyticus* (B1) y *Staphylococcus* sp (B9). La detección de *S. saprophyticus* en larvas moribundas, indicaría su posible participación como patógeno en el cultivo larvario de *A. atra.* Hallazgo que coincide con lo reportado por Wu *et al*. (2023), quienes la consideraron como un riesgo potencial en el cultivo de esturiones, debido a la mortalidad provocada (93.33%). Por otro lado, Stolp y Gadkari (1981) indicaron que la bacteria al encontrarse en la piel humana o fosas nasales, podría introducirse al sistema de cultivo mediante las prácticas de manejo del cultivo.

Por otro lado *S. saprophyticus* también ha sido aislado en larvas sanas, y aunque en este estudio su capacidad inhibitoria frente a otras bacterias fue mínima (0,89 mm), Mani *et al*. (2016) reportaron halos de inhibición significativos frente a *Vibrio cholerae* (18 mm) y *Bacillus subtilis* (15 mm), lo que evidencia que su comportamiento puede variar según la cepa y el contexto. De manera similar, *Staphylococcus warneri* también aislado de larvas moribundas, podría ser un patógeno oportunista en el cultivo larvario de *A. atra*. Esta especie fue reportada en infecciosos de esturiones, también en cultivo de truchas con alta mortalidad y resistencia a antibióticos usados en la acuicultura (Diler *et al.*, 2023; Stratev, 2016; Xiao *et al*., 2022), lo que complica su control sanitario. Por su parte, la identificación de *Vibrio* sp. confirma su importancia como uno de los principales géneros asociados a eventos de mortalidad masiva en moluscos, reportándose mortalidades superiores al 65 % e incluso del 100 % (Prado *et al*., 2005; Sandlund *et al.*, 2006; Varela, 2022). Respecto a las pruebas de antagonismo, únicamente la cepa B3 (*B. pumilus*) mostró un efecto inhibitorio significativo frente a las bacterias potencialmente patógenas evaluadas, con halos de inhibición promedio de 1,97 ± 1,72 mm. Por el contrario, las cepas B1 (*S. saprophyticus*), B5 (*S. xylosus*) y B9 (*Staphylococcus* sp.) evidenciaron una actividad inhibitoria limitada. Estos resultados, coinciden con estudios previos, donde *Bacillus pumilus* destaca por su capacidad de producir compuestos con actividad antiadhesiva y antagonista frente a patógenos como *E. coli*, *Streptococcus*

agalactiae, Staphylococcus aureus y *Vibrio* spp. (Prieto *et al*., 2012; Yi *et al*., 2018), además de su tolerancia a amplios rangos de pH, salinidad y temperatura (Yaylacı, 2022).

En el caso de *Staphylococcus xylosus*, si bien algunas cepas presentan características probióticas y capacidad de inhibir bacterias como *Escherichia coli* , Salmonella enterica y Staphylococcus aureus (Mangrolia y Osborne, 2020), también existen estudios que los asocian a procesos patológicos y mortalidad en peces (Liaqat *et al*., 2025; Oh *et al*., 2019). Los resultados demuestran que no se puede clasificar una bacteria como patógena o probiótica absoluta, ya que su rol depende de la cepa específica y de las condiciones del sistema de cultivo (Guimarães y Azevedo, 2025), lo que explicaría la detección de un mismo género en larvas sanas y moribundas.

V. CONCLUSIONES

La concentración de bacterias cultivables fue mayor en larvas moribundas (PCA: 1.24×10^8 UFC/g; TCBS: 2.19×10^3 UFC/g) que en larvas sanas (PCA: 5.54×10^7 UFC/g); sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p > 0.05$). Pero la presencia de Vibrio crecido en medio TCBS (2.19×10^3 UFC/g) solo para muestras de larvas moribundas indican un desequilibrio bacteriano asociado al evento de mortalidad.

Se aislaron un total de 33 cepas bacterianas, de las cuales 22 fueron potencialmente patógenas y 11 potencialmente probióticas, entre las patógenas se aislaron bacterias presuntamente de los géneros: Pseudomonas, Aeromonas, Vibrio, Shiguella, Echerichia y Enterococcus, mientras que en las potencialmente probióticas estuvieron asociadas principalmente a Bacillus y Lactobacillus. Por lo que, se acepta la hipótesis alternativa, demostrando que sí hubo presencia de bacterias tanto potencialmente patógenas como potencialmente probióticas asociadas al cultivo larvario de *A. atra*.

La cepa B3 fue la única que mostró efecto antagónico, generando un halo de inhibición significativo respecto al control ($p = 0{,}019$) frente a las cepas potencialmente patógenas evaluadas. Por lo que se acepta la hipótesis alternativa, donde al menos una bacteria con potencial probiótico mostró un efecto significativo de inhibición sobre los patógenos aislados del cultivo larvario de *A. atra*.

Se identificaron ocho cepas bacterianas mediante amplificación y secuenciación del gen ARNr 16S, que estuvieron asociadas al cultivo larvario de *Aulacomya atra*, correspondientes a *Staphylococcus saprophyticus* (strains SCD2-5, FDAARGOS_355 y TA1), *Staphylococcus warneri* (strain SH13), *Staphylococcus xylosus* (strain MGSL01), *Staphylococcus* sp. (ECH3), *Bacillus pumilus* (strain BLJB-05) y *Vibrio* sp. (isolate 448). Confirmando la coexistencia de *Bacillus pumilus* (potencial probiótico) y de *Vibrio* sp. (potencialmente patógena) en el sistema de cultivo.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere incrementar el número de cepas bacterianas analizadas y aisladas (potencialmente patógenas como probióticas), con la finalidad de ampliar el conocimiento de la diversidad microbiana asociada a la larvicultura de *Aulacomya atra*.

- Realizar ensayos in vivo de bacterias con potencial probiótico y patógeno en larvas de *Aulacomya atra*, con la finalidad de confirmar su efecto antagonista y responsabilidad en las mortalidades de los cultivos larvarios que permitan evaluar la eficiencia real sobre sus parámetros productivos.

- Implementar un monitoreo microbiológico continuo, para darle seguimiento al cultivo y detectar a en forma temprana la presencia de bacterias patógenas.

- Promover investigaciones orientadas al desarrollo de formulaciones probióticas que contribuyan a fortalecer la sanidad y sostenibilidad del cultivo de moluscos bivalvos.

VII. REFERENCIAS

Abasolo, F., Campa Córdova, Á. I., Mazón Suástegui, J. M., Tovar Ramírez, D., Araya, R. y Saucedo, P. E. (2017). Enhancing growth and resistance to Vibrio alginolyticus disease in catarina scallop (Argopecten ventricosus) with Bacillus and Lactobacillus probiotic strains during early development. *Aquaculture Research*, *48*(9). https://doi.org/10.1111/are.13283

Abed, M. K. y Shareef, H. K. (2021). Isolation and molecular identification of proteus mirabilis isolated from hospitals in the capital Baghdad. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, *15*(1). https://doi.org/10.37506/ijfmt.v15i1.13733

Álamo, V. y Valdivieso, V. (1997). Lista sistemática de moluscos marinos del Perú. *Instituto Del Mar Del Perú (IMARPE)*.

Allen, M. (2016). *MacConkey Agar Plates Protocols* (Issue September 2005, pp. 1–4).

Barattini, P. (2014). Antibióticos En Acuicultura. *Boletín Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, *223*.

Bayne, B. L. (1965). Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of Mytilus edulis (L.). *Ophelia*, *2*(1), 1–47. https://doi.org/10.1080/00785326.1965.10409596

Bernardi, S. F., Di Prinzio, M.,Maglione, D., Rinaudo, A. y Marini, P. R. (2015). Efecto del protocolo de descongelación de semen sobre el porcentaje de preñez en bovinos lecheros. *Revista Veterinaria*, *26*(1). https://doi.org/10.30972/vet.261243

Beveridge, T. J. (1990). Mechanism of gram variability in select bacteria. *Journal of Bacteriology*, *172*(3). https://doi.org/10.1128/jb.172.3.1609-1620.1990

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A. y Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *29*(8), 601–608. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012

Britania. (2021). *Cetrimida Agar Base*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070668da829e.pdf

Brosius, J., Dull, T. J., Sleeter, D. D. y Noller, H. F. (1981). Gene organization and

primary structure of a ribosomal RNA operon from Escherichia coli. *Journal of Molecular Biology*, *148*(2). https://doi.org/10.1016/0022-2836(81)90508-8

Cancino, J. y Becerra, R. (2023). Antecedentes sobre la Biología y Tecnología del cultivo de Aulacomya ater (Molina, 1782) (Mollusca: Mytilidae). *Biologia Pesquera*, *10*. https://doi.org/10.21703/0067-8767.1978.10.2411

Cappuccino, J. G. (2017). *Microbiology a laboratory manual 11ed 2017* (Pearson Education Limited 2018 (ed.); 11th editi).

Cárdenas, M., Cruz, O., Gándara-Ramírez, J. L. y Pérez-Hernández, M. A. (2014). Factores De Virulencia Bacteriana. In *Elementos* (Vol. 94).

Castro, Á. P., Tresierra, Á. E. y Villanueva, J. M. (2021). Effect of probiotic bacteria on the survival of larvae of Argopecten purpuratus against the challenge of Vibrio anguillarum, Aeromonas salmonicida. *REBIOL*, *41*(1). https://doi.org/10.17268/rebiol.2021.41.01.13

Cerra, H., Aversa, N., Carbone, N., Carnevali, S., Chiesa, C., Covo, M., D'Aquino, M., Degrossi, J., Denoya, C., Domínguez, P., Fernández, M. C., Franco, M., Giampaolo, B., Horak, C., Teves, S., Torno, G., Vázquez, A., Zarankin, E. y Zaresky, A. (2013). *Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos*.

Condalab. (2019a). *Agar MRS: Medio recomendado para el crecimiento de lactobacilos* (pp. 1–2). https://pdf.dutscher.com/doc/777316/777316_FTes.pdf

Condalab. (2019b). *Agar para Métodos Estándar (PCA) ISO/APHA* (pp. 1–2). https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/01/FICHA-TECNICA-AGAR-STANDARD-METHODS-PCA-MDM-CIENTIFICA-1056.pdf

Cruz, W. M., Maquera, A. M., Bellido, D. C. H., Quispe, P. M. H., Medina, N. A. S., Quispe, L. G. H., Quispe, B. D. H. y Ticona, E. P. S. (2021). TECNOLOGÍA DE JAULAS MARINAS PARA CULTIVO DE PECES EN EL LITORAL DE ILO, PERÚ – 2020. In *Coleção desafios das engenharias: Engenharia de produção*. https://doi.org/10.22533/at.ed.29321220715

Dai, W., Ye, J., Liu, S., Chang, G., Xu, H., Lin, Z. y Xue, Q. (2022). Bacterial Community Dynamics in Kumamoto Oyster Crassostrea sikamea Hatchery During Larval

Development. *Frontiers in Microbiology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933941

De la Fuente, M. y Faúndez, V. (2020). Evaluación *in vitro* de bacterias marinas para potencial biocontrol en cultivo de moluscos bivalvos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, *54*(3), 272–282. https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.3.2010

de la Fuente, M., Miranda, C. y Faúndez, V. (2015). Bacteriología asociada al cultivo de moluscos en Chile: Avances y perspectivas. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, *50*(1), 01–12. https://doi.org/10.4067/S0718-19572015000100001

De Silva, B. C. J., Hossain, S., Dahanayake, P. S. y Heo, G. J. (2019). Aeromonas spp. from marketed Yesso scallop (Patinopecten yessoensis): molecular characterization, phylogenetic analysis, virulence properties and antimicrobial susceptibility. *Journal of Applied Microbiology*, *126*(1). https://doi.org/10.1111/jam.14106

Desriac, F., Defer, D., Bourgougnon, N., Brillet, B., Le Chevalier, P. y Fleury, Y. (2010). Bacteriocin as Weapons in the Marine Animal-Associated Bacteria Warfare: Inventory and Potential Applications as an Aquaculture Probiotic. *Marine Drugs*, *8*(4), 1153–1177. https://doi.org/10.3390/md8041153

Diler, Ö., Yılmaz, H. E., Çağatay, İ. T., Nazıroğlu, M., Özil, Ö. y Kan, Ş. (2023). Gökkuşağı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Staphylococcus warneri' nin Teşhis ve Histopatolojisi. *Acta Aquatica Turcica*, *19*(3). https://doi.org/10.22392/actaquatr.1276536

Diringer, B., Moreno, V., Pretell, K., Avellan, R., Sahuquet, M., Vasquez, R., Gentile, G. y Mialhe, E. (2019). Production of specific pathogen free larvae from genetically characterized populations of Anadara tuberculosa (Bivalvia), for stock enhancement and aquaculture in the Peru Northeast Biosphere Reserve. *Latin American Journal of Aquatic Research*, *47*(3), 547–558. https://doi.org/10.3856/vol47-issue3-fulltext-16

Diz, O. M. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*, *III*(30).

Elston, R. A. (1984). Prevention and management of infectious diseases in intensive mollusc husbandry. *Journal of the World Mariculture Society*, *15*(1–4), 284–300. https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1984.tb00163.x

FAO. (2008). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura. Factores que afectan su sustentabilidad futura en América Latina. In *FAO Actas de Pesca y Acuicultura 12*.

FAO. (2024). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. La transformación azul en acción.* Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cd0683es Las

Frans, I., Michiels, C. W., Bossier, P.,Willems, K. A., Lievens, B. y Rediers, H. (2011). Vibrio anguillarum as a fish pathogen: Virulence factors, diagnosis and prevention. In *Journal of Fish Diseases* (Vol. 34, Issue 9). https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01279.x

García, E., Gómez, L. y Rodríguez, F. (2017). Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.

García, M. y Uruburu, F. (2000). La conservación de cepas microbianas. *Actualidad SEM*, *30*(1).

Gauthier, M. J. (1976). Alteromonas rubra sp. nov., a new marine antibiotic producing bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*, *26*(4). https://doi.org/10.1099/00207713-26-4-459

Godoy, F., Espinoza, M., Wittwer, G., Uriarte, I. y Aranda, C. (2011). Characterization of culturable bacteria in larval cultures of the Chilean scallop Argopecten purpuratus. *Ciencias Marinas*, *37*(3), 339–348. https://doi.org/10.7773/cm.v37i3.1882

Gonzales, E. E. (2019). *Identificación fenotípica y molecular de bacterias productoras de biofilm presentes en la formación del biofouling en cultivos de "Concha de Abanico" (Argopecten purpuratus), en la bahía de Huaynuma, Casma - Perú* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://hdl.handle.net/20.500.12672/11428

Guillard, R. R. (1959). FURTHER EVIDENCE OF THE DESTRUCTION OF BIVALVE LARVAE BY BACTERIA. *The Biological Bulletin*, *117*(2). https://doi.org/10.2307/1538905

Guimarães, E. y Azevedo, V. (2025). *Aislamiento de Vibrionaceae de adultos de mejillón azul silvestre (Mytilus edulis) y su impacto en la larvicultura de mejillón azul*. 1–4.

Gutiérrez, J., Luna, L., Mendoza, M., Diaz, G., Burguete, J. y Feliciano, J. (2015). Organización, mantenimiento y preservación de la Colección de Cultivos Bacterianos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas(UNICACH), México. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, *35*(1).

Hai, N. V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, *119*(4), 917–935. https://doi.org/10.1111/jam.12886

Heim, A. von B. T., Janice, J., Bjørnholt, J. V., Lunestad, B. T., Hegstad, K. y Svanevik, C. S. (2023). Genomic insights into Enterococcus faecium isolates from marine bivalves highlight One Health concerns and healthcare linkages. *Microbial Genomics*, *9*(12). https://doi.org/10.1099/mgen.0.001154

HiMedia. (2018). Technical data: mueller hinton agar. In *Himedia Laboratories* (Vol. 1, Issue 2, p. 2). http://www.himedialabc.com

HIMEDIA. (2023). *Ficha técnica Lactobacillus MRS Agar(MRS Agar)*.

HIMEDIA. (2025). *Technical Data Centrimide agar*. https://www.himedialabs.com/media/TD/MH024.pdf

Hoyos, K. De, Guerra, K. y Vázquez, K. (2021). *Evaluación microbiológica en tres zonas de producción de bivalvos de Panamá durante la estación seca del año 2021, mediante indicadores de contaminación fecal y tres especies de Vibrios sp.* https://up-rid.up.ac.pa/7990/2/kristal_dehoyos.pdf

Imarpe. (2022). *Catálogo digital de Biodiversidad Acuática del Perú*. Instituto Del Mar Del Perú.

IMARPE. (2007). *Sede Regional Ilo " Estudio De Línea Base De Las Áreas De Vila Vila Y*. 1–54. https://rnia.produce.gob.pe/wp-content/uploads/2019/09/lbase-vilavila.pdf

Incio, A. P. (2018). *Desarrollo gonadal y escala de madurez de Aulacomya atra (Bivalvia: Mytilidae) durante el año 2014, en el litoral de Ilo, Moquegua* [Universidad Científica del Sur]. https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/576/TL_Incio-

Perez.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Jimenez, J. A. y Lagos, D. A. (2018). *Evaluation of the pathogenicity of two species of the genus Vibrio in bivalve mollusc larvae*. Universidad de Nariña.

Kapareiko, D., Lim, H. J., Schott, E. J., Hanif, A. y Wikfors, G. H. (2011). Isolation and Evaluation of New Probiotic Bacteria for use in Shellfish Hatcheries: II. Effects of a Vibrio sp. Probiotic Candidate Upon Survival of Oyster Larvae (Crassostrea virginica) in Pilot-Scale Trials. *Journal of Shellfish Research*, *30*(3), 617–625. https://doi.org/10.2983/035.030.0304

Kesarcodi, A., Kaspar, H., Lategan, M. J. y Gibson, L. (2009). Two pathogens of greenshell™ mussel larvae, perna canaliculus: Vibrio splendidus and a V. coralliilyticus/neptunius-like isolate. *Journal of Fish Diseases*, *32*(6). https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01006.x

Khatoon, H., Chavan, D. D., Anokhe, A. y Kalia, V. (2022). Catalase Test: A biochemical protocol for bacterial identification. *AgriCos E-Newsletter*, *3*(1).

Kuebutornye, F. K. A., Abarike, E. D. y Lu, Y. (2019). A review on the application of Bacillus as probiotics in aquaculture. In *Fish and Shellfish Immunology* (Vol. 87). https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.010

Labor. (2010). *Merck 105465 Macconkey Agar For The İsolation Of Salmonella, Shigella And Coliform Bacteria*.

Labster. (2025). *Pasos para realizar la tinción de Gram*. https://theory.labster.com/es/steps-gramstain/

Liaqat, I. y Qaiser, I. y Aftab, M. N. y Ali, S. y Latif, A. A. y Naseem, S. y Afzaal, M. y Khalid, A. (2025). Anti-biofilm potential of some fish probiotics, alone and in combination with antibiotics against isolated aquaculture pathogens; A preliminary data. *Microbial Pathogenesis*, *203*. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107437

Llanos, J., Cid, M., Navarro, S., Dinamarca, A. y García-Tello, P. (2002). Atypical bacteria accompanying the scallop Argopecten purpuratus. *Investigaciones Marinas*, *30*(2). https://doi.org/10.4067/s0717-71782002000200005

Lodeiros, C., Freites, L. y Vélez, A. (1992). Bacillary necrosis in larvae of the bivalve Euvola ziczac (Linnaeus, 1758) caused by a Pseudomonas sp. *Acta Científica*

Venezolana, *43*(3).

Lovatelli, E. A. y Montt, P. (2008). Cultivo y manejo de moluscos bivalvos en América Latina : resultados y conclusiones del primer taller – ACUIBIVA 2007. *Estado Actual Del Cultivo y Manejo de Moluscos Bivalvos y Su Proyección Futura: Factores Que Afectan Su Sustentabilidad En America Latina*.

Lozada López, E. (2023). Contribución al estudio de cholga Aulacomya ater en Putemun (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae). *Biologia Pesquera*, *3*, 5–40. https://doi.org/10.21703/0067-8767.1968.3.2371

Mangrolia, U. y Osborne, W. J. (2020). Staphylococcus xylosus VITURAJ10: Pyrrolo [1,2α] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl) (PPDHMP) producing, potential probiotic strain with antibacterial and anticancer activity. *Microbial Pathogenesis*, *147*. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104259

Mani, P., Dineshkumar, G., Jayaseelan, T., Deepalakshmi, K.,Ganesh Kumar, C. y Senthil Balan, S. (2016). Antimicrobial activities of a promising glycolipid biosurfactant from a novel marine Staphylococcus saprophyticus SBPS 15. *3 Biotech*, *6*(2). https://doi.org/10.1007/s13205-016-0478-7

Martínez, N. y De Bastardo, V. (2005). Enteropathogenic Escherichia coli in raw and cooked molluscs. *REVISTA CIENTIFICA-FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS*, *15*(2).

MDM. (2020). *AGAR MACCONKEY MDM CAJA 90MM X 15MM*. Microbiología Integral. https://mdmcientifica.com/producto/agar-macconkey/

Merck. (2021). *TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) agar acc . ISO 21872 and FDA-BAM* (pp. 1–6).

Merck. (2022). *MacCONKEY (MAC) agar acc. ISO 21150, ISO 21567, FDA-BAM and EP, USP, JP GranuCult® prime* (pp. 1–2).

Merck. (2025a). *GSP Agar (Pseudomonas Aeromonas Selective Agar) acc . to KIELWEIN (base)* (pp. 2–4). https://www.merckmillipore.com/PE/es/product/GSP-agar,MDA_CHEM-110230?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F#documentation

Merck. (2025b). *Plate Count Agar acc. ISO 4833, ISO 17410, IFU, FDA-BAM and*

SMWW (pp. 1–7).

Miranda, A., Orozco, C., Rivas, M. E. y Luna, A. (2015). Evaluación de la carga de bacterias heterótrofas y vibrios en un sistema de cultivo integrado camarón-molusco-macroalga. *Hidrobiológica*, *25*(2).

Modak, T. H. y Gomez, M. (2020). Contrasting immunomodulatory effects of probiotic and pathogenic bacteria on eastern oyster, crassostrea virginica, larvae. *Vaccines*, *8*(4). https://doi.org/10.3390/vaccines8040588

Molina, Z. J., Cázares, G. E., Ibarra, J. C. y Galaviz, L. (2021). Actividad antagónica de bacterias aisladas de ecosistemas marinos frente a vibrio parahaemolyticusAHPND como patógeno de camarón en cultivos. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura.*, *3*(2), 78. https://doi.org/10.33936/at.v3i2.3800

Muñoz, E., Gómez, B., Araújo, C., Campanero, C., del Campo, R., Hernández, P. E., Herranz, C. y Cintas, L. M. (2013). Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC Microbiology*, *13*(1), 15. https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-15

NCBI. (2025). *National Center for Biotechnology Information*. Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Nonga, C., Zacharia, I., Mkupasi, E. y Ngowi, H. (2023). Assessment of Bacterial contamination and associated risk factors in pork slaughtered and marketed in urban Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*, *24*(4). https://doi.org/10.4314/thrb.v24i4.14

Oh, W. T., Jun, J. W., Giri, S. S., Yun, S., Kim, H. J., Kim, S. G., Kim, S. W., Han, S. J., Kwon, J. y Park, S. C. (2019). Staphylococcus xylosus infection in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) as a primary pathogenic cause of eye protrusion and mortality. *Microorganisms*, *7*(9). https://doi.org/10.3390/microorganisms7090330

Pacheco, E. y Olave, S. (2000). Curso Cultivo de choritos en la zona sur de Chile. In *Proyecto: "Innovaciones en la tecnología de cultivo de chorito (Mytilus chilensis), tendientes a mejorar la calidad y rentabilidad de la actividad mitilícola en la X región". Instituto de Fomento Pesquero*. https://www.ifop.cl/wp-content/contenidos/uploads/biblioteca/libros_digitales/Curso_Cultivo_de_choritos.

pdf

Pepi, M. y Focardi, S. (2021). Antibiotic-resistant bacteria in aquaculture and climate change: A challenge for health in the mediterranean area. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 18, Issue 11). https://doi.org/10.3390/ijerph18115723

Pérez, M., Alvarez, Y., Soriano, J. y Pérez, M. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, *30*(1).

Perilla, M., Allejo, G., Bopp, C., Elliott, J., Facklam, R., Knapp, J.,Popovic, T., Wells, J. y Dowell, S. (2009). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. In *Centros para el control y la prevencion de Enfermedades: CDC, OMS* (Vol. 15).

Popescu, A. y Doyle, R. J. (1996). The gram stain after more than a century. *Biotechnic and Histochemistry*, *71*(3). https://doi.org/10.3109/10520299609117151

Prado, S., Romalde, J. L. y Barja, J. L. (2010). Review of probiotics for use in bivalve hatcheries. *Veterinary Microbiology*, *145*(3–4), 187–197. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.08.021

Prado, S., Romalde, J. L., Montes, J. y Barja, J. L. (2005). Pathogenic bacteria isolated from disease outbreaks in shellfish hatcheries. First description of Vibrio neptunius as an oyster pathogen. *Diseases of Aquatic Organisms*, *67*(3). https://doi.org/10.3354/dao067209

Prieto, M. L., O'Sullivan, L., Tan, S. P., McLoughlin, P.,Hughes, H., O'Connor, P. M., Cotter, P. D., Lawlor, P. G. y Gardiner, G. E. (2012). Assessment of the Bacteriocinogenic Potential of Marine Bacteria Reveals Lichenicidin Production by Seaweed-Derived Bacillus spp. *Marine Drugs*, *10*(10), 2280–2299. https://doi.org/10.3390/md10102280

Quispe, S. celestino. (2018). *Variacion espacio temporal en la pesqueria del choro Aulacomya Atra (Moilina, 1972) en el puerto de Pisco*. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

Ramos, C. (2021). Editorial: Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica*,

10(1), 1–7. https://doi.org/10.33210/ca.v10i1.356

Redhwan, A., Sonbol, H., Al Tami, M., Alotaibi, S., Alzahrani, S., ALanazi, M., Alwakeel, S. y Ameen, F. (2021). Molecular identification of airborne bacteria from metro stations in Riyadh. *Fresenius Environmental Bulletin*, *30*(1).

Reiner, K. (2013). American Society for Microbiology, Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology*, *November 2010*, 1–9. http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3226-catalase-test-protocol

Ren, W., Wu, H., Guo, C., Xue, B., Long, H., Zhang, X., Cai, X., Huang, A. y Xie, Z. (2021). Multi-Strain Tropical Bacillus spp. as a Potential Probiotic Biocontrol Agent for Large-Scale Enhancement of Mariculture Water Quality. *Frontiers in Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.699378

Reynoso, M., Magnoli, C., Barros, G. y Demo, M. (2015). MANUAL DE MICROBIOLOGÍA. In *Manual De Microbiología*. Ediciones UC. https://doi.org/10.2307/j.ctvkjb56f

Riquelme, C., Chavez, P., Morales, Y. y Hayashida, G. (1994). Evidence of parental bacterial transfer to larvae in Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819). *Biological Research*, *27*(2).

Riquelme, C., Hayashida, G., Vergara, N., Vasquez, A., Morales, Y. y Chavez, P. (1995). Bacteriology of the scallop Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819) cultured in Chile. *Aquaculture*, *138*(1–4). https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01130-7

Rivera, A. (2013). *ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE METABOLITOS SECUNDARIOS OBTENIDOS DEL COCULTIVO DE Pseudoalteromonas sp VS. Aspergillusfumigatus y Emericella unguis* [Universidad de Granada]. https://up-rid.up.ac.pa/3802/1/andres_rivera.pdf

Rojas, R., Miranda, C., Opazo, R. y Romero, J. (2015). Characterization and pathogenicity of Vibrio splendidus strains associated with massive mortalities of commercial hatchery-reared larvae of scallop Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819). *Journal of Invertebrate Pathology*, *124*, 61–69. https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.10.009

Sandlund, N., Torkildsen, L., Magnesen, T., Mortensen, S. y Bergh, Ø. (2006).

Immunohistochemistry of great scallop Pecten maximus larvae experimentally challenged with pathogenic bacteria. *Diseases of Aquatic Organisms*, *69*(2–3). https://doi.org/10.3354/dao069163

Scarabino, F. y Ortega, L. (2004). Registros uruguayos de Aulacomya atra atra (BIVALVIA : MYTILIDAE): Rol de condiciones oceanográficas anómalas y de dispersión por feofitas flotantes. *Comunicaciones de La Sociedad Malacológica Del Uruguay*, *8*(1961).

Sepúlveda, R. D., Camus, P. A. y Moreno, C. A. (2016). Diversity of faunal assemblages associated with ribbed mussel beds along the South American coast: relative roles of biogeography and bioengineering. *Marine Ecology*, *37*(5). https://doi.org/10.1111/maec.12301

Sohn, S., Lundgren, K. M., Tammi, K., Smolowitz, R., Nelson, D. R.,Rowley, D. C. y Gómez-Chiarri, M. (2016). Efficacy of Probiotics in Preventing Vibriosis in the Larviculture of Different Species of Bivalve Shellfish. *Journal of Shellfish Research*, *35*(2). https://doi.org/10.2983/035.035.0206

Solís, M. A., Ballesteros, M. y Riascos, J. M. (2019). The early life history transitions of the bivalve aulacomya atra from the humboldt current system off Peru are affected by human exploitation and modulated by El Niño-La Niña cycle. *Frontiers in Marine Science*, *6*(JUL). https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00496

Stolp, H. y Gadkari, D. (1981). Nonpathogenic Members of the Genus Pseudomonas BT - The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria. *The Prokaryotes*.

Stratev, D. (2016). Staphylococcus warneri and Shewanella putrefaciens Co-infection in Siberian Sturgeon (Acipenser baerii) and Hybrid Sturgeon (Huso huso x Acipenser baerii). *Journal of Microbiology & Experimentation*, *3*(1). https://doi.org/10.15406/jmen.2016.03.00078

Sugumar, G., Nakai, T., Hirata, Y., Matsubara, D. y Muroga, K. (1998). Vibrio splendidus biovar II as the causative agent of bacillary necrosis of Japanese oyster Crassostrea gigas larvae. *Diseases of Aquatic Organisms*, *33*(2). https://doi.org/10.3354/dao033111

Tubiash, H. S. (1975). Bacterial Pathogens Associated with Cultured Bivalve Mollusk

Larvae. In *Culture of Marine Invertebrate Animals*. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_4

Urtubia, R., Miranda, C. D., Rodríguez, S., Dubert, J., Barja, J. L. y Rojas, R. (2023). First Report, Characterization and Pathogenicity of Vibrio chagasii Isolated from Diseased Reared Larvae of Chilean Scallop, Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819). *Pathogens*, *12*(2). https://doi.org/10.3390/pathogens12020183

Varela, A. (2022). Necrosis bacilar en larvas de ostras Crassostrea gigas. Reporte de caso. *Repertorio Científico*, *25*(1). https://doi.org/10.22458/rc.v25i1.4019

Watts, J., Schreier, H., Lanska, L. y Hale, M. (2017). The Rising Tide of Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Sources, Sinks and Solutions. *Marine Drugs*, *15*(6), 158. https://doi.org/10.3390/md15060158

WoRMS. (2024). *WoRMS - Registro Mundial de Especies Marinas - Aulacomya atra (Molina, 1782)*. https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=505963#links

Wu, Y., Feng, Y., Xue, M., Xiao, Z., Jin, L., Gao, R., Chen, Y., Liang, T. y Zhou, Y. (2023). Isolation and Identification of Staphylococcus saprophyticus from Diseased Hybrid Sturgeon. *Fishes*, *8*(5). https://doi.org/10.3390/fishes8050250

Wurmann, C. (2008). Problemática y desafíos de la producción chilena de moluscos bivalvos en pequeña escala. *Estado Actual Del Cultivo y Manejo de Moluscos Bivalvos y Su Proyección Futura Factores Que Afectan Su Sustentabilidad En América Latina*.

Xiao, Z., Xue, M. ,Wu, X., Zeng, L., Zhu, Y., Jiang, N., Fan, Y. y Zhou, Y. (2022). Isolation and identification of Staphylococcus warneri from diseased Coreius guichenoti. *Aquaculture Reports*, *22*. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100988

Yaylacı, E. U. (2022). Isolation and characterization of Bacillus spp. from aquaculture cage water and its inhibitory effect against selected Vibrio spp. *Archives of Microbiology*, *204*(1). https://doi.org/10.1007/s00203-021-02657-0

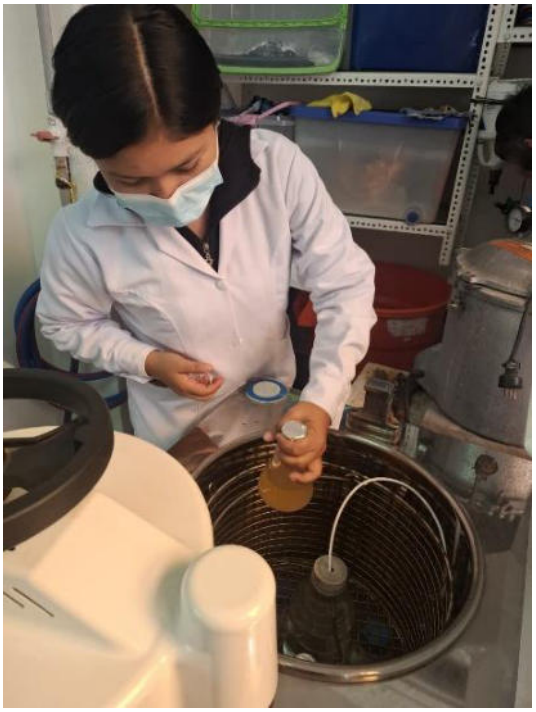
Yi, Y., Zhang, Z., Zhao, F., Liu, H., Yu, L., Zha, J. y Wang, G. (2018). Probiotic potential of Bacillus velezensis JW: Antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and immune enhancement effects on Carassius auratus. *Fish & Shellfish*

Immunology, *78*, 322–330. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.055

Zafra, O. (2006). Revista Científica General José María Córdova, Tipos de Investigación. *General José María Córdova*, *4*.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Procesamiento de muestras en laboratorio







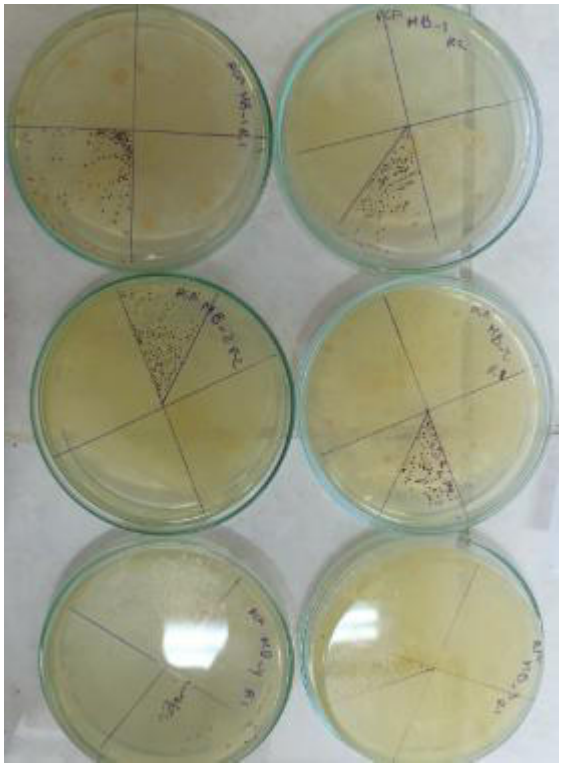
Anexo 2. Placas de cultivo: esterilizadas, embaladas, incubadas

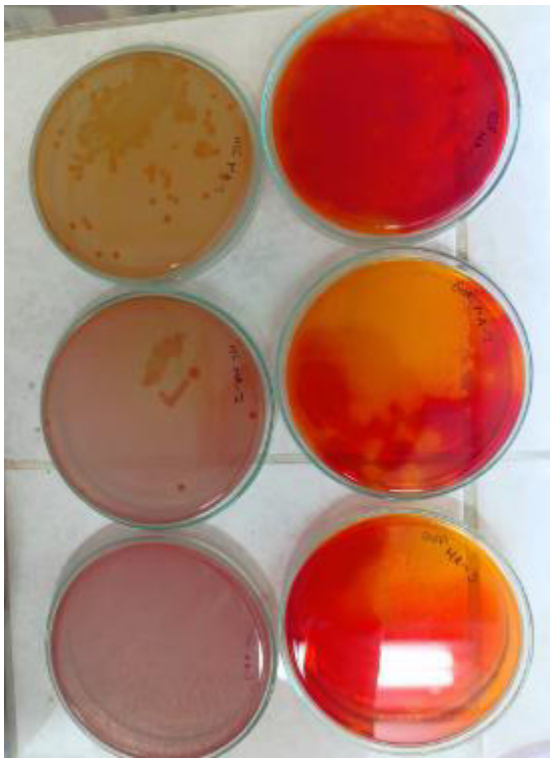


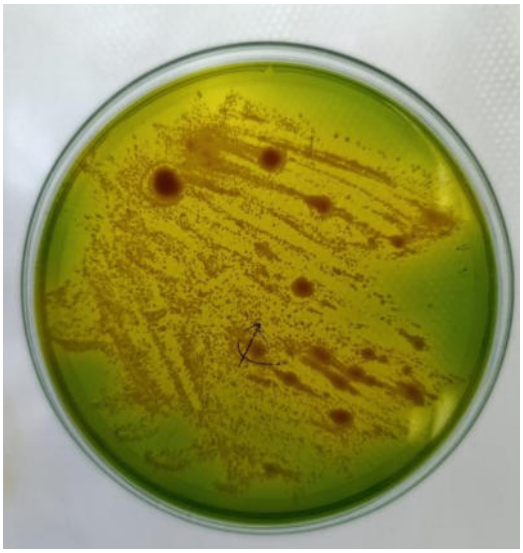




Anexo 3. Resultado de crecimiento de bacterias en placa









Anexo 4. Análisis estadístico de concentración bacteriana

Prueba de normalidad

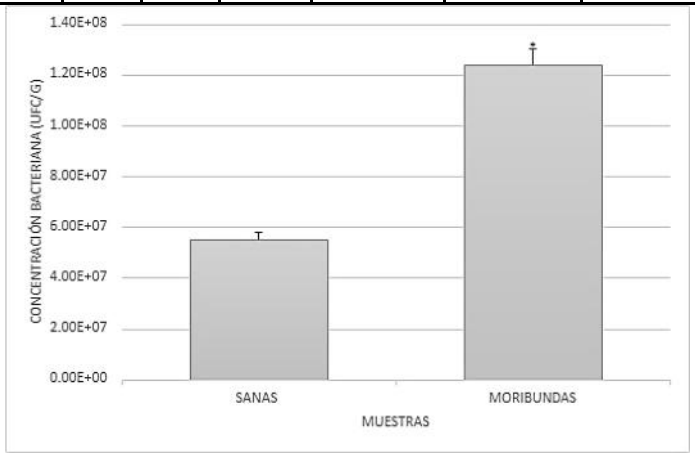
	MUESTRA	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LOG PCA	SANAS	0,203	8	,200*	0.944	8	**0,653**
	MORIBUNDAS	0,203	8	,200*	0.909	8	**0,349**

	Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
SANAS	7,1113	8	0,85896	0,30369
MORIBUNDAS	7,4009	8	1,05099	0,37158

T de student para muestras independientes

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene		prueba t para la igualdad de medias						
									95% de intervalo de confianza de la diferencia	
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superior
LOG _PCA	Se asumen varianzas iguales	0,855	0,371	-0,603	14	0,556	-0,28954	0,47989	-1,31881	0,73973
	No se asumen varianzas iguales			-0,603	13,466	0,556	-0,28954	0,47989	-1,32265	0,74357



Anexo 5. Análisis estadístico de ensayo de antagonismo

Prueba de normalidad

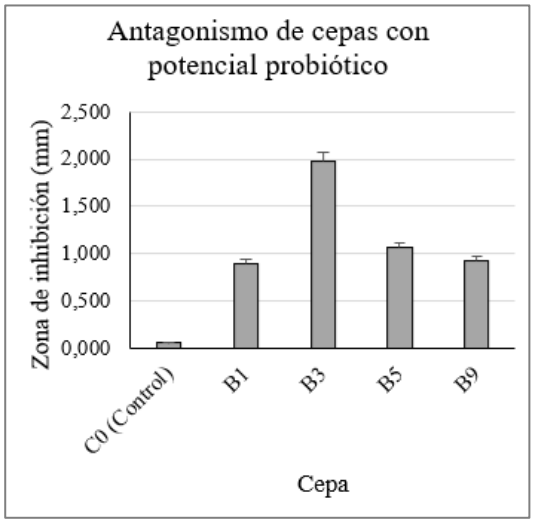
		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
CEPA		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ZONA_INHIBICIÓN_LOG	B3	0,231	12	0,076	0,832	12	0,022
	B1	0,458	12	0,000	0,582	12	0,000
	B5	0,369	12	0,000	0,733	12	0,002
	B9	0,412	12	0,000	0,682	12	0,001
	C0	0,530	12	0,000	0,327	12	0,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba no paramétrica Kruskal-Wallis

Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	
N total	
Estadístico de prueba	9,999[a]
Grado de libertad	4
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0,040

a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.



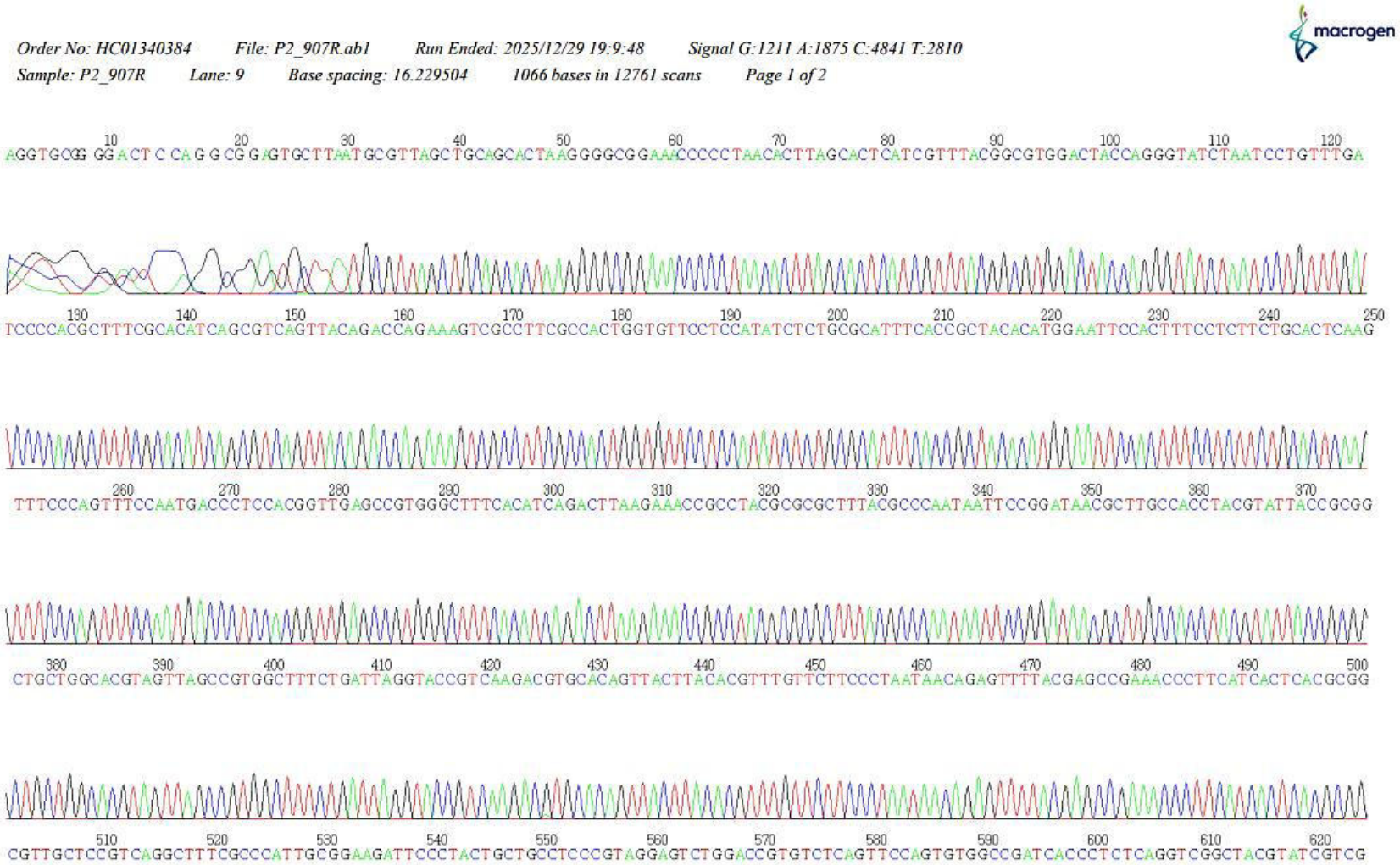
Comparaciones por parejas de CEPA					
Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajustada[a]
C0-B1	6,833	6,073	1,125	0,260	1,000
C0-B9	8,250	6,073	1,359	0,174	1,000
C0-B5	10,250	6,073	1,688	0,091	0,914
C0-B3	18,833	6,073	3,101	0,002	0,019
B1-B9	-1,417	6,073	-0,233	0,816	1,000
B1-B5	-3,417	6,073	-0,563	0,574	1,000
B1-B3	12,000	6,073	1,976	0,048	0,482
B9-B5	2,000	6,073	0,329	0,742	1,000
B9-B3	10,583	6,073	1,743	0,081	0,814
B5-B3	8,583	6,073	1,413	0,158	1,000

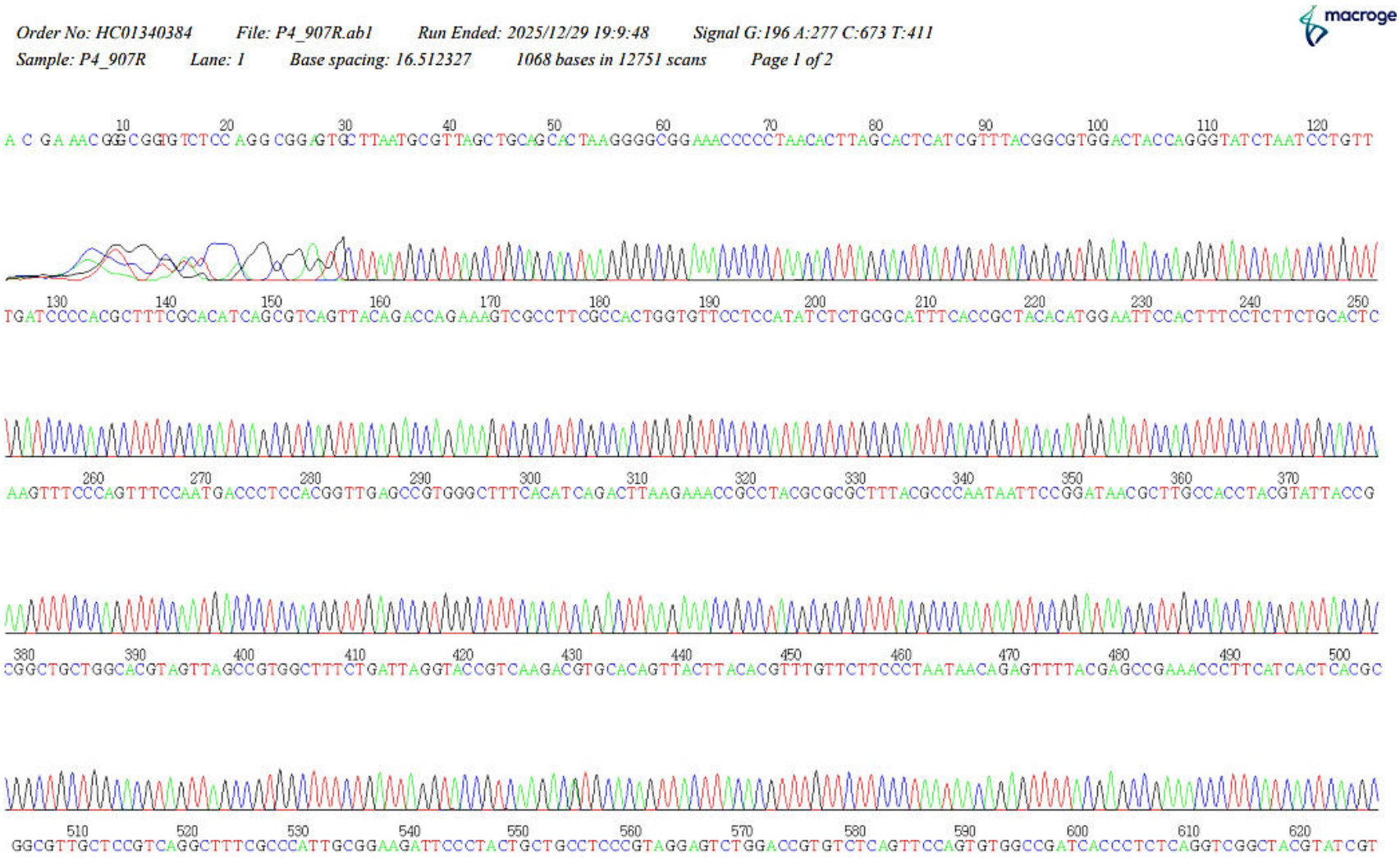
Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.

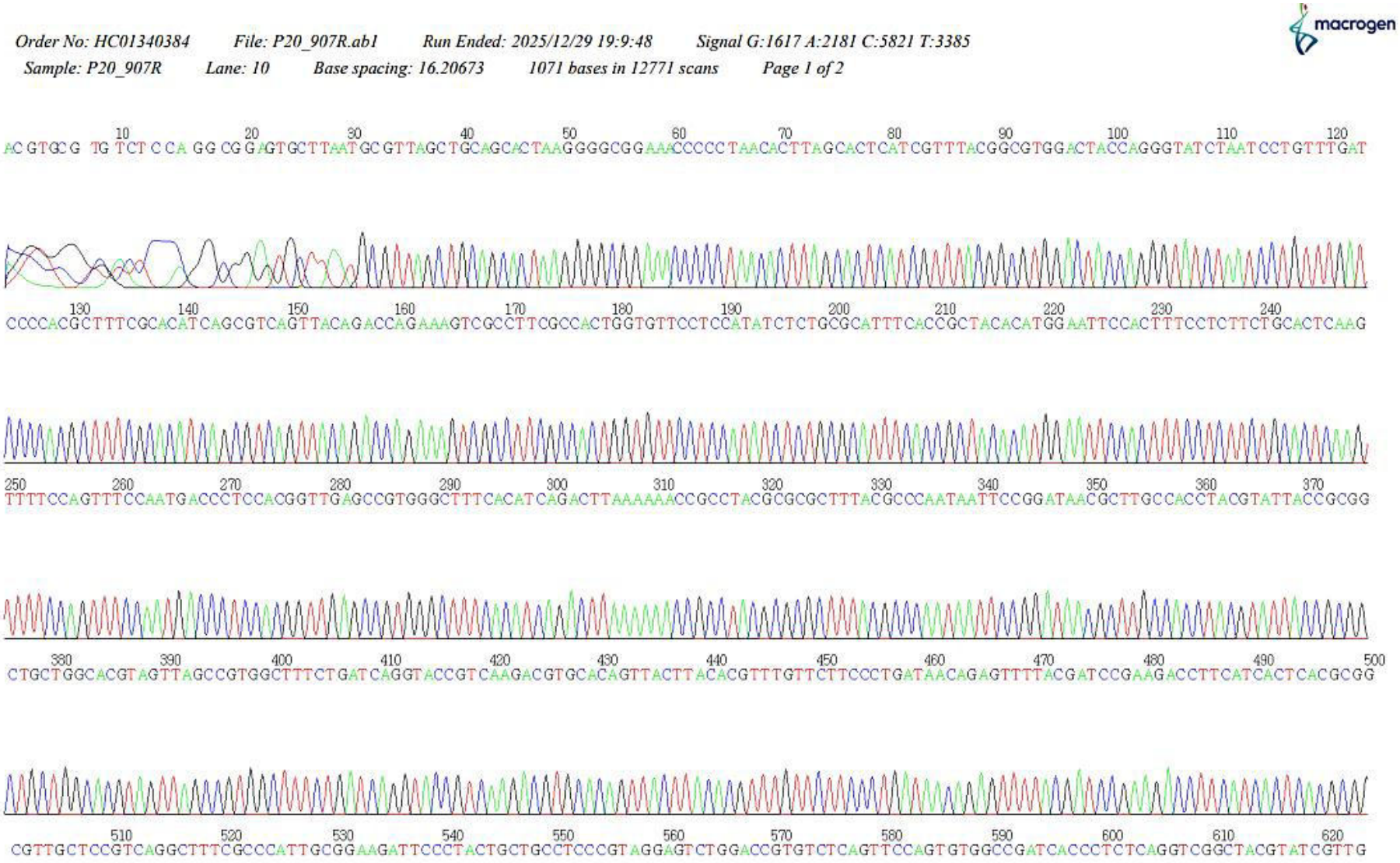
Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de ,050.

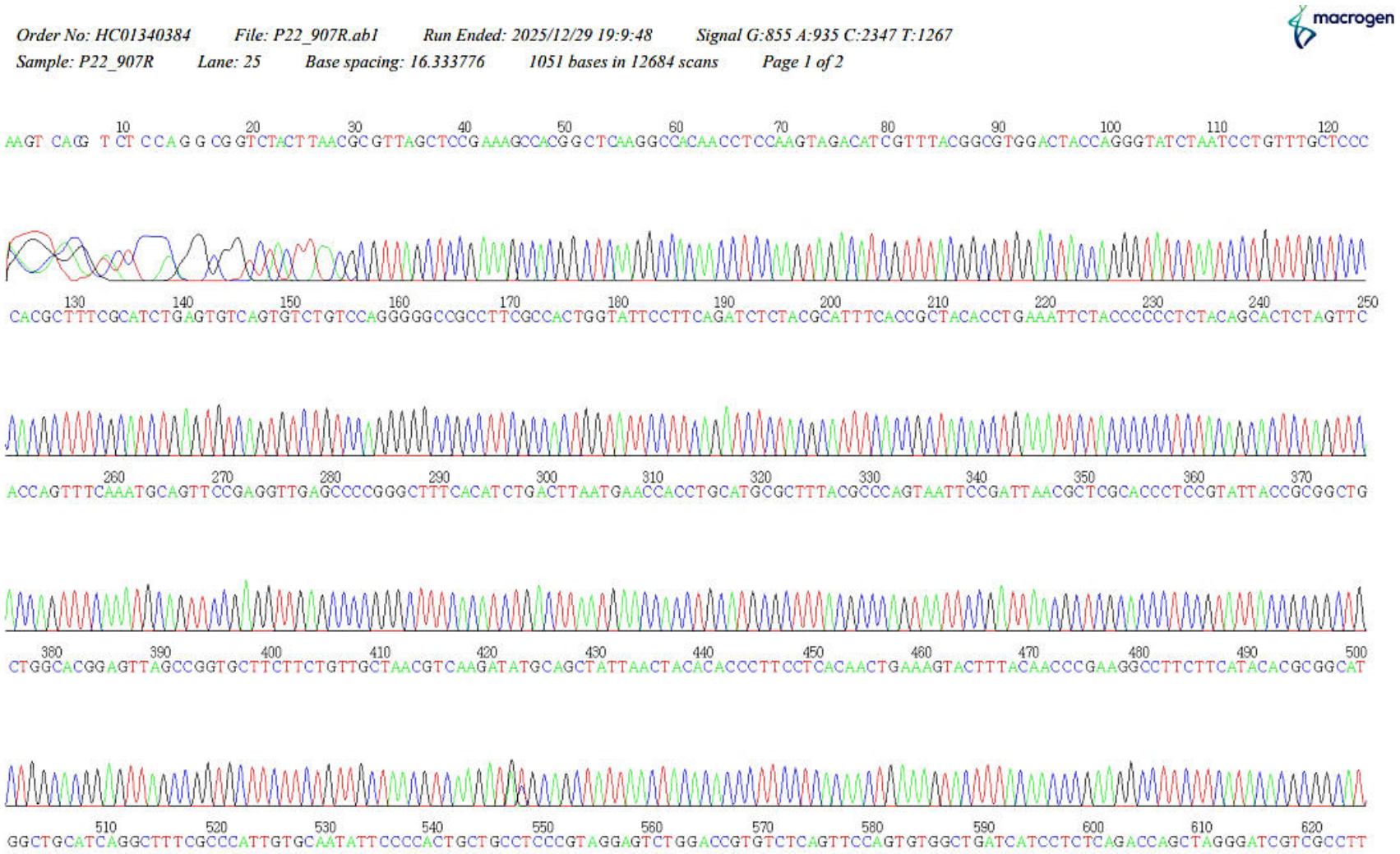
a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

Anexo 6. Resultados de identificación molecular de cepas bacterianas aisladas de larvas moribundas

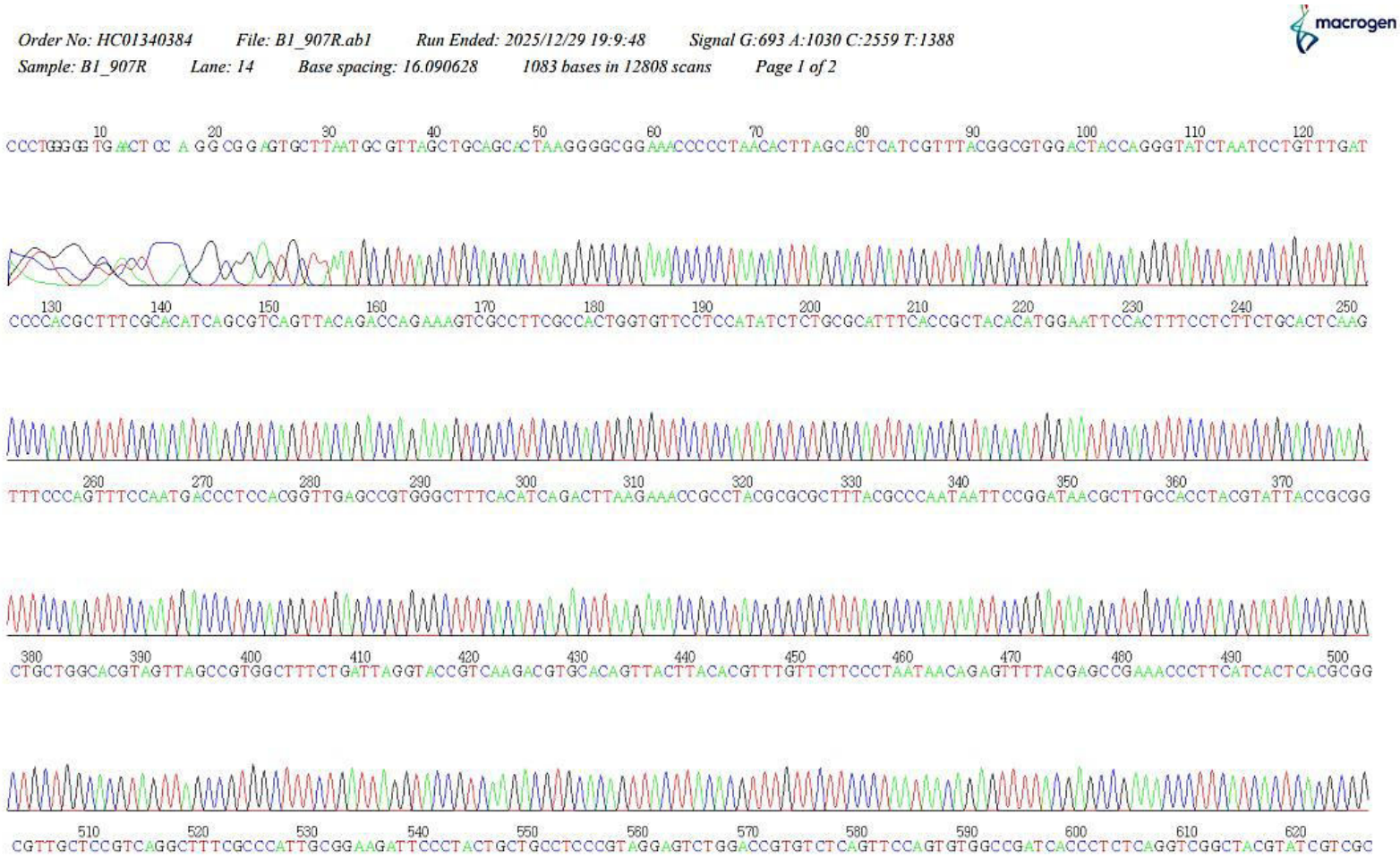



Order No: HC01340384 File: P4_907R.ab1 Run Ended: 2025/12/29 19:9:48 Signal G:196 A:277 C:673 T:411
Sample: P4_907R Lane: 1 Base spacing: 16.512327 1068 bases in 12751 scans Page 1 of 2
macroge

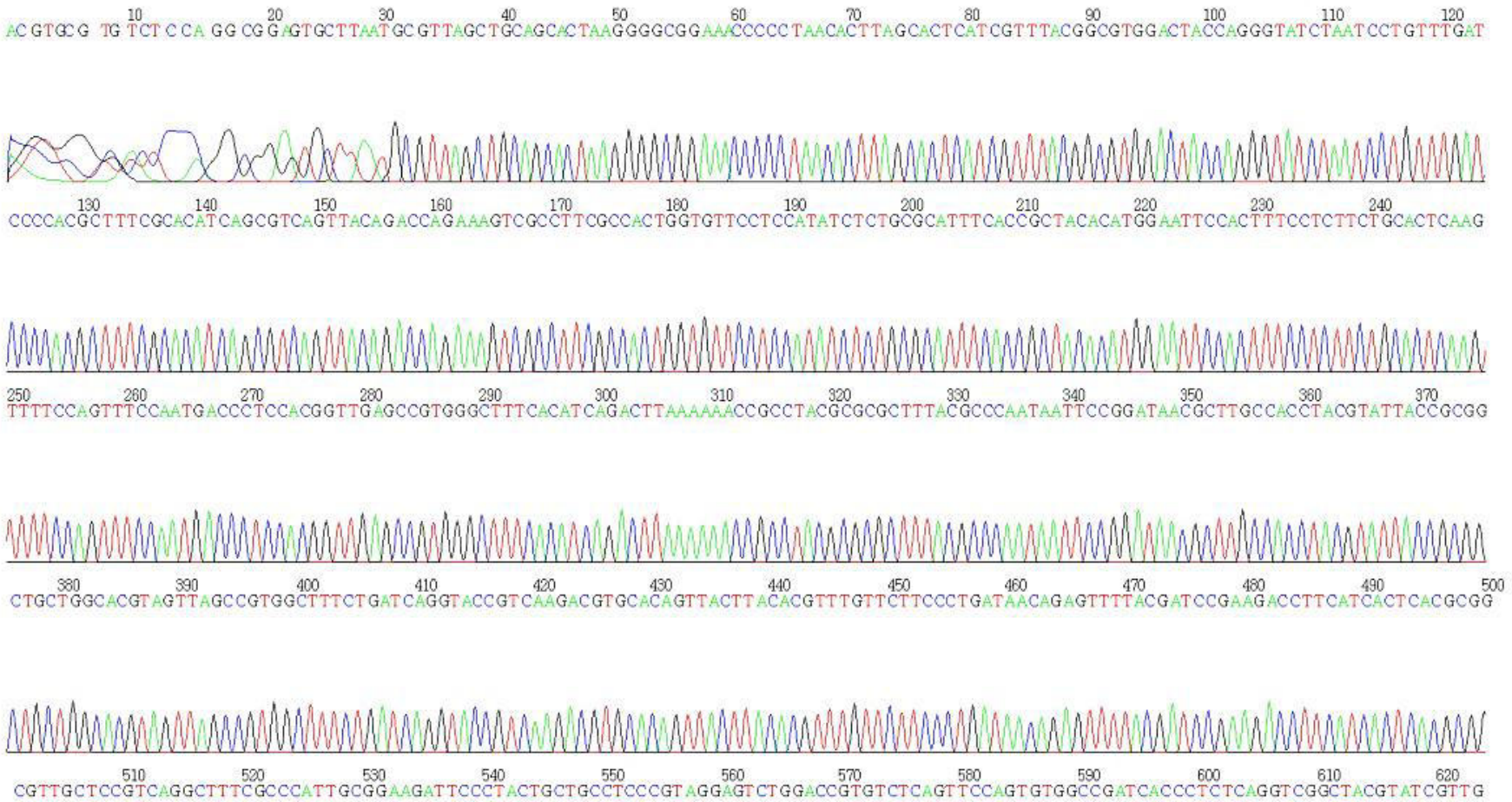

Order No: HC01340384 File: P20_907R.ab1 Run Ended: 2025/12/29 19:9:48 Signal G:1617 A:2181 C:5821 T:3385
Sample: P20_907R Lane: 10 Base spacing: 16.20673 1071 bases in 12771 scans Page 1 of 2
macrogen
AC GTGC G TG TCT C CA GG CG GAGTGCTTAATGC GTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGAT
CCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTGCGCATTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAG
TTTTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTACGCGCGCTTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGG
CTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGATCAGGTACCGTCAAGACGTGCACAGTTACTTACACGTTTGTTCTTCCCTGATAACAGAGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCACGCGG
CGTTGCTCCGTCAGGCTTTCGCCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCCGATCACCCTCTCAGGTCGGCTACGTATCGTTG


Order No: HC01340384 File: P22_907R.ab1 Run Ended: 2025/12/29 19:9:48 Signal G:855 A:935 C:2347 T:1267
Sample: P22_907R Lane: 25 Base spacing: 16.333776 1051 bases in 12684 scans Page 1 of 2
macrogen
AAGT CAGG T CT CCA G G CG GTCTACT TAACGC GTTAGCTCCG AAAGCCACGG CTCAAGGCCACAACCTCCAAGTAGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCC
CACGCTTTCGCATCTGAGTGTCAGTGTCTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACTGGTATTCCTTCAGATCTCTACGCATTTCACCGCTACACCTGAAATTCTACCCCCCTCTACAGCACTCTAGTTC
ACCAGTTTCAAATGCAGTTCCGAGGTTGAGCCCCGGGCTTTCACATCTGACTTAATGAACCACCTGCATGCGCTTTACGCCCAGTAATTCCGATTAACGCTCGCACCCTCCGTATTACCGCGGCTG
CTGGCACGGAGTTAGCCGGTGCTTCTTCTGTTGCTAACGTCAAGATATGCAGCTATTAACTACACACCCTTCCTCACAACTGAAAGTACTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCATACACGCGGCAT
GGCTGCATCAGGCTTTCGCCCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGATCATCCTCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTT

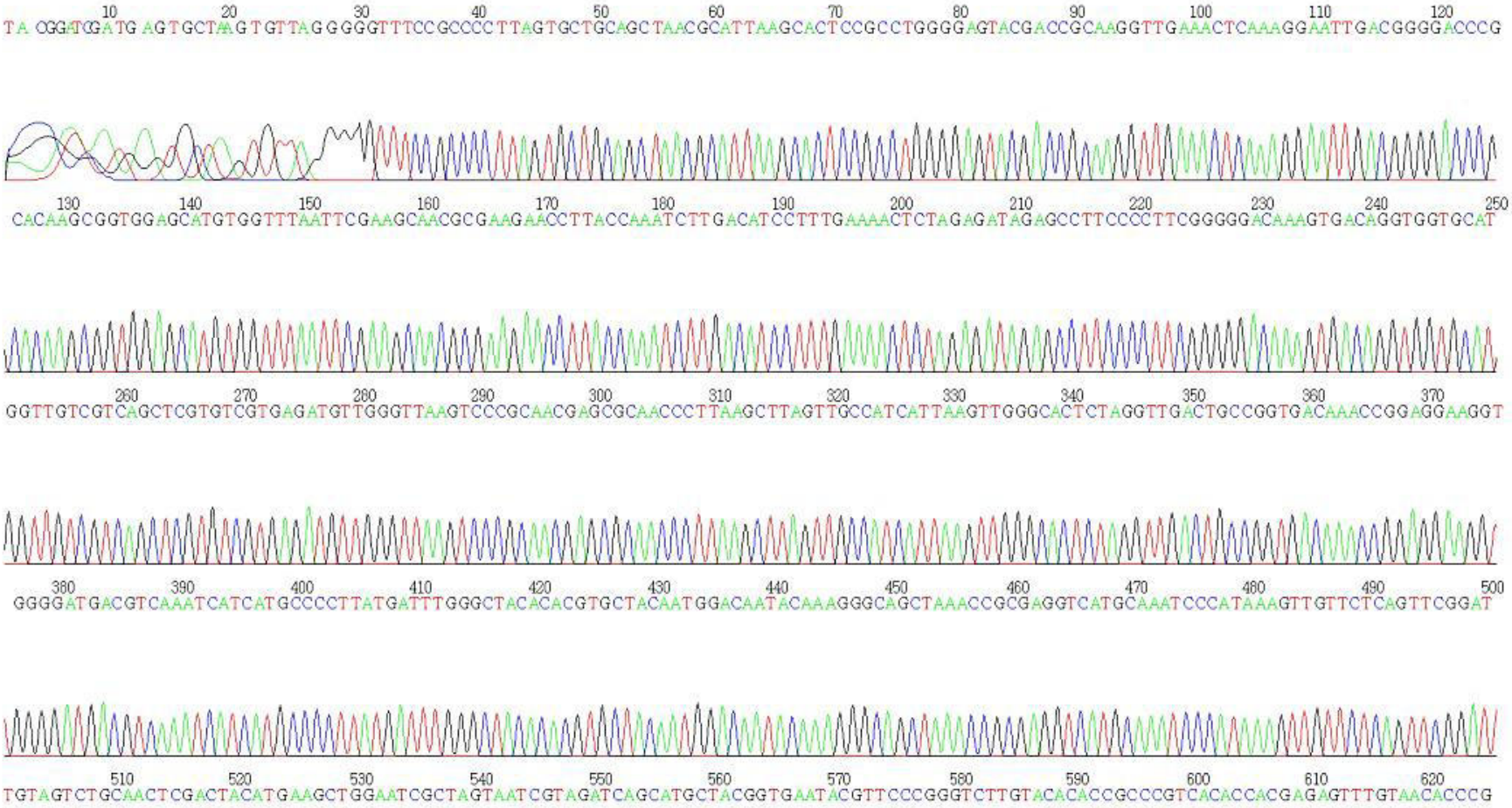
Anexo 7. Resultados de identificación molecular de cepas bacterianas aisladas de larvas sanas



Order No: HC01340384 *File: B3_907R.ab1* *Run Ended: 2025/12/29 19:9:48* *Signal G:1617 A:2181 C:5821 T:3385*
Sample: B3_907R *Lane: 10* *Base spacing: 16.20673* *1071 bases in 12771 scans* *Page 1 of 2*

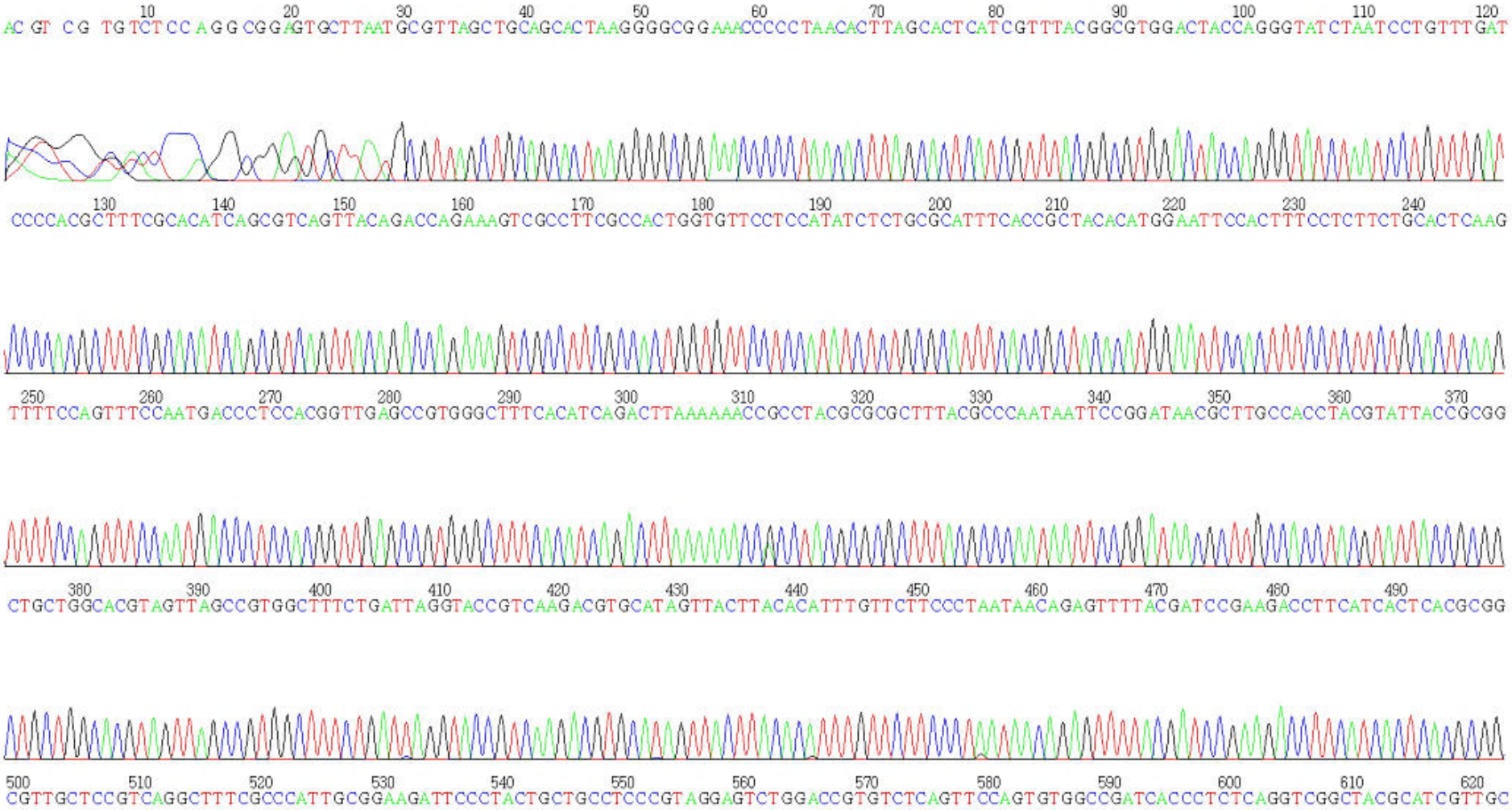


Order No: HC01340384 *File: B5_785F.ab1* *Run Ended: 2025/12/29 19:9:48* *Signal G:1466 A:2026 C:3303 T:2054*
Sample: B5_785F *Lane: 8* *Base spacing: 15.927618* *1090 bases in 12824 scans* *Page 1 of 2*



Order No: HC01340384 *File: B9_907R.ab1* *Run Ended: 2025/12/29 19:9:48* *Signal G:1521 A:2301 C:5908 T:3609*

Sample: B9_907R *Lane: 2* *Base spacing: 16.687294* *1077 bases in 12805 scans* *Page 1 of 2*



Anexo 8. Permiso para ejecución de tesis en institución

PERÚ Ministerio de la Producción

IMARPE
INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"
"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

OPINIÓN TÉCNICA

Proyecto de tesis "Efecto antagonista de bacterias probióticas sobre bacterias patógenas asociadas a mortalidad larvaria en *Aulacomya atra* (choro)"

I. ANTECEDENTES

Mediante MEMORÁNDUM N° 0471-2025-IMARPE/PE-LCILO, el Coordinador del Laboratorio Costero de Ilo solicita revisión y autorización para la ejecución del proyecto de tesis "Efecto antagonista de bacterias probióticas sobre bacterias patógenas asociadas a mortalidad larvaria en *Aulacomya atra* (choro)" presentado por la bachiller Giuliana Judith Gómez Chino de la Facultad de Ingeniería Pesquera, en el Laboratorio Costero de Ilo (LCIlo) bajo la asesoría de la Bióloga Sheyla Zevallos Feria.

II. ANÁLISIS

Uno de los principales obstáculos en el cultivo de *Aulacomya atra*, es su alta mortalidad larvaria por la acción de bacterias patógenas. Es por ello, que la importancia de esta investigación, radica en el empleo de bacterias probióticas como agentes antagonistas, lo que constituye una alternativa biotecnológica sostenible, permitiendo principalmente, la reducción del uso de antibióticos y de esta manera minimizar el impacto ambiental, además de favorecer, prácticas acuícolas responsables.

La propuesta de investigación (tesis) se encuentra en el marco del Objetivo Estratégico Institucional OEI.04 "Fortalecer las investigaciones en tecnología de cultivos y biotecnología para el desarrollo acuícola en el Sector Pesca y Acuicultura", que para el caso del del LCIlo está orientado a la generación de tecnologías de cultivo de bivalvos de importancia comercial del sur del Perú, donde el Laboratorio de Investigación Acuícola - LIA viene desarrollando investigaciones financiadas a través del Programa Presupuestal 094 "Ordenamiento y Desarrollo de la Acuicultura".
Considerando que el recurso *Aulacomya atra* "choro", es de alto valor ecológico, económico y alimentario, se considera pertinente la realización de esta tesis, al ofrecer una solución innovadora y sostenible a un problema que afecta tanto la producción como el medio ambiente, haciendo que los probióticos se consoliden como aliados esenciales en el futuro de este recurso en nuestro país.

III. CONSIDERACIONES FINALES

En general, consideramos adecuado y pertinente el estudio, ya que propone el uso de bacterias probióticas para reducir la mortalidad larvaria en *Aulacomya atra*, ofreciendo una solución ecológica y sostenible frente a patógenos. Esta estrategia mejora la producción, protege el medio marino y fortalece la acuicultura responsable.

Callao, agosto de 2025

AFIA/.

Firmado digitalmente por: FLORES MEGO Jorge Alfredo FAU 20148138886 soft
Motivo: Coordinador AFIA
Fecha: 22/08/2025 09:57:39-0500

Firmado digitalmente por: VILLEGAS APAZA Piero Rafael FAU 20148138886 hard
Motivo: Director General de Investigaciones en Acuicultura
Fecha: 26/08/2025 20:11:22-0500

Ponle Punche y ganamos todo PERÚ

08

FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con la Ley N° 30035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y Resolución de Comisión Organizadora N° 041-2022-UNAM que aprueba el Reglamento que regula el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos : Giuliana Judith Gomez Chino
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N°: 73014484
Correo electrónico : giulianagome40@gmail.com
Teléfono/Celular : 922454635

2. GRADO, TITULO O ESPECIALIZACIÓN (Marque con una X)

Bachiller	Título Profesional	Magister	Doctor	Segunda Especialidad
	x			

3. TIPO DE PUBLICACIÓN (Marque con una X)

a) Articulo ( )
b) Tesis de pregrado (x)
c) Tesis de Maestría ( )
d) Tesis de Doctorado ( )
e) Monografía ( )
f) Reporte de caso científico o hallazgos ( )
g) Libro ( )
h) Parte de un libro ( )
i) Revisión ( )
j) Conferencia ( )
k) Presentación ( )
l) Artículo preliminar ( )
m) Articulo antes de ser publicado ( )
n) Artículo de prensa ( )
o) Documentos internos ( )
p) Imagen ( )
q) Documentos técnicos ( )
r) Ponencias presentadas en eventos científicos (Jornada, Congreso, Simposio Conferencias, etc.) ( )
s) Informes de suficiencia profesional ( )
t) Patentes producidas por académicos/as ( )

07

4. TIPO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (Marque con una X)

a) Tesis **(x)**
b) Trabajo de Investigación **( )**
c) Trabajo de suficiencia profesional **( )**
d) Trabajo académico **( )**

5. DATOS DE LA PUBLICACION

a) Título: EFECTO ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS ASOCIADAS A MORTALIDAD LARVARIA EN *Aulacomya atra* (CHORO)
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra: https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : **4.01.03**
c) Fecha de publicación: 28- 05 -2026

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : Alejandro Marcelo Gonzales Vargas
b) DNI/Pasaporte/Cédula : 04647877
c) ORCID : 0000-0002-3256-907X

d) Nombres y Apellidos : Sheyla Amanda Zevallos Feria
e) DNI/Pasaporte/Cédula : 40029787
f) ORCID : 0000-0001-9258-2770

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 73014484
NOMBRES Y APELLIDOS : Giuliana Judith Gomez Chino

LICENCIAS

Licencia Estándar

Bajo los siguientes términos, autorizo el depósito de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

Con la autorización de depósito da mi trabajo de investigación, otorgo a la Universidad Nacional de Moquegua, una Licencia No Exclusiva para reproducir. distribuir, comunicar al público, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público mi trabajo de investigación (incluido el resumen), en formato físico o digital, en cualquier medio, conocido o por conocerse, a través de los diversos servicios provistos por la Universidad, creados o por crearse, tales como el Repositorio Institucional Digital de la UNAM, Colección de Tesis, entre otros, en el Perú y en el extranjero, por el tiempo y veces que considere necesarias, y libre de remuneraciones.

En virtud de dicha Licencia, la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, podrá reproducir mi trabajo de investigación en cualquier tipo de soporte y en más de un ejemplar, sin modificar su contenido, solo con los propósitos de seguridad, respaldo y preservación.

Declaro que el trabajo de investigación es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, o coautoría con titularidad compartida, y me encuentro facultado a conceder la presente licencia y, asimismo, garantizo que dicho trabajo de investigación no infringe derechos de autor de terceras personas.

La UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA consignara el nombre del/los autor/es del trabajo de investigación, y no le hará ninguna modificación más de la permitida en la presente licencia.

Autorizo el depósito (marque con una X).

(x) **SI autorizo que se deposite inmediatamente.**

FIRMA : .....



DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 73014484
NOMBRES Y APELLIDOS : Giuliana Judith Gomez Chino
FECHA : 23/06/2026

ANEXO VIII

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN / TESIS / TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

g) Yo, Giuliana Judith Gomez Chino, bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Pesquera, de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº 73014484, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional denominado: EFECTO ANTAGONISTA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS ASOCIADAS A MORTALIDAD LARVARIA EN *Aulacomya atra* (CHORO).

Declaro bajo juramento que:

1. El trabajo de investigación es auténtico, siendo resultado de mi trabajo personal, que no se ha copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. Por tanto, el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
2. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiada, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
3. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán aporte a la realidad investigada.

Soy consciente de que, el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en el trabajo de investigación, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Moquegua, Ilo 23/06/2026



Nombres y Apellidos: Giuliana Judith Gomez Chino

DNI: 73014484

Alejandro Marcelo GONZALES VARGAS

INFORME FINAL DE TÉSIS BACTERIAS_LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES GIULIANA 06.03.26.docx

Informe Final de Tesis Giuliana Gomez Chino

INFORME FINAL DE TESIS 2026

Universidad Nacional de Moquegua

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::1:3499261228

Fecha de entrega
6 mar 2026, 2:01 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
6 mar 2026, 2:08 a.m. GMT-5

Nombre del archivo
INFORME_FINAL_DE_TÉSIS_BACTERIAS_LEVANTAMIENTO_DE_OBSERVACIONES_GIULIANA_06.03.....docx

Tamaño del archivo
17.1 MB

111 páginas

20.025 palabras

115.757 caracteres

11% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)
- Trabajos entregados

Fuentes principales

11% Fuentes de Internet
5% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Caracteres reemplazados
35 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Texto oculto
24 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

11% Fuentes de Internet
5% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	repositorio.unam.edu.pe 1%
2	Internet	repositorio.ucv.edu.pe <1%
3	Internet	repositorio.uns.edu.pe <1%
4	Internet	hdl.handle.net <1%
5	Internet	repositorio.untumbes.edu.pe <1%
6	Internet	repositorio.unah.edu.pe <1%
7	Internet	cybertesis.unmsm.edu.pe <1%
8	Internet	repositorio.unan.edu.ni <1%
9	Internet	repositorio.continental.edu.pe <1%
10	Internet	doczz.es <1%
11	Internet	ruja.ujaen.es <1%

12	Internet	
www.researchgate.net		<1%
13	Internet	
apirepositorio.unh.edu.pe		<1%
14	Internet	
dspace.unitru.edu.pe		<1%
15	Internet	
academic.oup.com		<1%
16	Internet	
www.dspace.uce.edu.ec		<1%
17	Internet	
eprints.uanl.mx		<1%
18	Internet	
repositorio.unap.edu.pe		<1%
19	Internet	
www.coursehero.com		<1%
20	Internet	
dspace.ucuenca.edu.ec		<1%
21	Internet	
pdfs.semanticscholar.org		<1%
22	Internet	
qspace.library.queensu.ca		<1%
23	Internet	
revistas.utm.edu.ec		<1%
24	Internet	
repositorio.unfv.edu.pe		<1%
25	Internet	
unl.edu.ec		<1%

26	Internet	
www.pcapainted.org		<1%
27	Publicación	
Paulina Hurtado-Arenas, Miguel R. Guevara, Víctor M. González-Chordá. "Compar...		<1%
28	Internet	
dergipark.org.tr		<1%
29	Internet	
alicia.concytec.gob.pe		<1%
30	Internet	
www.slideshare.net		<1%
31	Internet	
idoc.pub		<1%
32	Internet	
repositorio.unemi.edu.ec		<1%
33	Internet	
www.himedialabs.com		<1%
34	Internet	
1library.co		<1%
35	Internet	
aprenderly.com		<1%
36	Internet	
revistas.unat.edu.pe		<1%
37	Internet	
suaire.sua.ac.tz		<1%
38	Internet	
worldwidescience.org		<1%
39	Internet	
www.isamx.org		<1%

40 Internet
archive.org <1%

41 Internet
core.ac.uk <1%

42 Internet
dspace-uh-tmp.igniteonline.la <1%

43 Internet
www.scielo.cl <1%

44 Internet
pdffox.com <1%

45 Internet
repositorio.cientifica.edu.pe <1%

46 Internet
www.alliance-bio-expertise.com <1%

47 Internet
www.mdpi.com <1%

48 Internet
www.repositorio.ieo.es <1%

49 Internet
download.bibis.ir <1%

50 Internet
etd.aau.edu.et <1%

51 Internet
pt.scribd.com <1%

52 Internet
repositorio.uap.edu.pe <1%

53 Internet
www.iieta.org <1%

54 Publicación
Bustos Rodriguez, Fernando Javier. "Understanding Performance of Concrete Usi... <1%

55 Internet
renati.sunedu.gob.pe <1%

56 Internet
repositorio.uladech.edu.pe <1%

57 Internet
www.cnpab.embrapa.br <1%

58 Internet
d.docksci.com <1%

59 Internet
ijpsr.com <1%

60 Internet
www.dspace.espol.edu.ec <1%

61 Publicación
B.R. Zeeberg, R.E. Gibson, R.C. Reba. "Quantification of the dopamine D2 receptor... <1%

62 Publicación
M. R. Molina, O. A. Garro, M. A. Judis. " CALIDAD ALIMENTICIA Y ESTABILIDAD OXI... <1%

63 Publicación
Victor Ludeña-Meléndez, Jussara Malo-Castillo, Paula Ishikawa-Arias, Harold Jime... <1%

64 Internet
caelum.ucv.ve <1%

65 Internet
chinamcm.com <1%

66 Internet
es.slideshare.net <1%

67 Internet
bvs.sld.cu <1%

68 Internet
es.scribd.com <1%

69 Internet
repositorio.upse.edu.ec <1%

70 Publicación
Palomino Reyna, Luis Enrique. "Fabricacion y caracterizacion de materiales comp... <1%

71 Internet
digibuo.uniovi.es <1%

72 Internet
digitalcommons.cwu.edu <1%

73 Internet
hal.science <1%

74 Internet
idus.us.es <1%

75 Internet
oa.upm.es <1%

76 Internet
repositorio.utp.edu.pe <1%

77 Internet
repositorio.uwiener.edu.pe <1%

78 Internet
ri.uaemex.mx <1%

79 Internet
www.revistas.unitru.edu.pe <1%

80 Internet
3a8a7ee5-5d43-433f-96c0-5e9181af9642.filesusr.com <1%

81 Publicación
Coaquira Toro, Jhonny Rafael. "Uropatógenos y perfil de susceptibilidad antibacte... <1%

82	Publicación	
Diego Miguel Dasí Camaró. "Estudio del agua como fuente de entrada y dispersió...		<1%
83	Publicación	
Jose Carlos Zapata-Rojas, Alejandro Marcelo Gonzales Vargas, Sheyla Amanda Zev...		<1%
84	Internet	
cicese.repositorioinstitucional.mx		<1%
85	Internet	
de.scribd.com		<1%
86	Internet	
docplayer.es		<1%
87	Internet	
doczz.com.br		<1%
88	Internet	
espace.curtin.edu.au		<1%
89	Internet	
repositorio.unicach.mx		<1%
90	Internet	
repositorio.uniscjsa.edu.pe		<1%
91	Internet	
repositorio.unu.edu.pe		<1%
92	Internet	
repositorio.upn.edu.pe		<1%
93	Internet	
repositoriodigital.ipn.mx		<1%
94	Internet	
revistas.uas.edu.mx		<1%
95	Internet	
ri-ng.uaq.mx		<1%

96 Internet

sedici.unlp.edu.ar <1%

97 Internet

www.produccioncientificaluz.org <1%

RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO
N° 571-2026-CU

Moquegua, 26 de agosto de 2026

VISTOS:

La Resolución de Consejo de Facultad N° 411-2026-CF-FAIN-UNAM, emitida por la Decana de la Facultad de Ingenierías; el Informe N° D0452-2026-UNAM-R-FAIN, emitido por la Decana de la Facultad de Ingenierías, el Informe Técnico N° D0124-2026-SG-GT, emitido por la Especialista Administrativo II de Grados y Títulos; el Informe N° D0438-2026-UNAM-R-SG, emitido por el Secretario General de la UNAM; el Proveído N° 4233-2026-R, emitido por el señor Rector; el Acuerdo del Pleno del Consejo Universitario de Sesión Extraordinaria N° 35-2026-SE-CU-UNAM, de fecha 25 de agosto de 2026; y,

CONSIDERANDO:

Que, conforme al cuarto párrafo del artículo 18 de la Constitución Política del Perú, dispone que cada Universidad es autónoma en su régimen normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico. Y el artículo 8° de la Ley N° 30220-Ley Universitaria, establece que la referida autonomía inherente a las Universidades, se ejerce de conformidad con la Constitución y demás normativa aplicable. Concordante con el artículo 1, de la Ley N° 31520, Ley que restablece la autonomía y la institucionalidad de las universidades peruanas, así como la Ley N° 32141, Ley que modifica la Ley N° 30220-Ley Universitaria, a fin de fortalecer la institucionalidad de las Universidades Públicas licenciadas;

Que, el artículo 58 de la Ley N° 30220-Ley Universitaria, establece que el Consejo Universitario es el máximo órgano de gestión, dirección y ejecución académica y administrativa de la Universidad. Concordante con el artículo 18° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado bajo Resolución de Asamblea Universitaria N° 015-2025-AU-UNAM;

Que, el artículo 59 de la Ley Universitaria-Ley N° 30220, establece las atribuciones del Consejo Universitario, y específicamente el numeral 59.9 establece; Conferir los grados académicos y los títulos profesionales aprobados por las Facultades y Escuela de Posgrado, así como otorgar distinciones honoríficas y reconocer y revalidar los estudios, grados y títulos de universidades extranjeras, cuando la universidad está autorizada por la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria. Concordante con el numeral 14, del artículo 20° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua;

Que, mediante Resolución de Asamblea Universitaria N° 006-2026-AU, de fecha 20 de abril de 2026, se aprobó la incorporación de la Disposición Transitoria N° 22 al Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, referida a la excepción para la emisión de los grados académicos de bachiller y títulos profesionales consignando la denominación de "Facultad de Ingeniería y Arquitectura";

Que, mediante la Resolución de Consejo de Facultad N° 411-2026-CF-FAIN-UNAM, de fecha 13 de agosto de 2026, el Consejo de Facultad de Ingenierías aprobó el otorgamiento del Título Profesional de Ingeniero Pesquero, por la modalidad de Tesis, a un (01) Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua, de acuerdo al siguiente detalle: GIULIANA JUDITH GOMEZ CHINO;

Que, mediante Informe N° D0452-2026-UNAM-R-FAIN, de fecha 17 de agosto de 2026, la Decana de la Facultad de Ingenierías, remite a Secretaría General la Resolución de Consejo de Facultad N° 411-2026-CF-FAIN-UNAM, de fecha 13 de agosto de 2026;

Que, mediante Informe Técnico N° D0124-2026-SG-GT de fecha 19 de agosto de 2026, e Informe N° D0438-2026-UNAM-R-SG de fecha 20 de agosto de 2026, el Secretario General de la UNAM, remite al Rectorado el expediente para el trámite de Título Profesional de Ingeniero Pesquero a favor de la Bachiller: GIULIANA JUDITH GOMEZ CHINO de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, quien se encuentra apta para la expedición del Título Profesional de Ingeniero Pesquero, al haber cumplido satisfactoriamente con los requisitos legales y reglamentarios, exigidos en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, razón por la cual, el señor Secretario General incluye dicho expediente como punto de agenda para ser tratado en Sesión Extraordinaria de Consejo Universitario de fecha 25 de agosto de 2026;

Que, el artículo 44° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria señala que las universidades otorgan los grados académicos de Bachiller, Maestro, Doctor y los Títulos Profesionales que correspondan, a nombre de la Nación (...). Asimismo, la Ley N° 31803, modifica el artículo en mención adicionando; La Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria (SUNEDU) determina los criterios, así como establece y supervisa el procedimiento administrativo para el reconocimiento de grados y títulos otorgados en el extranjero, en el marco de la normativa vigente;

Que, el numeral 45.2 del artículo 45° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria, precisa los requisitos mínimos para la obtención del título profesional, como son: el grado de Bachiller y la aprobación de una tesis o trabajo de suficiencia profesional. Asimismo, establece que el título profesional solo se puede obtener en la universidad en la cual se haya obtenido el grado de bachiller;

Domicilio Legal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe

RESOLUCIÓN DE CONSEJO UNIVERSITARIO

N° 571-2026-CU

Moquegua, 26 de agosto de 2026

Que, mediante Resolución de Comisión Organizadora N° 1153-2021-UNAM, se aprobó el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, el mismo que fue modificado a través de las Resoluciones de Comisión Organizadora N° 410; 453 y 890-2022, N° 880-2023-UNAM y N° 081, 484-2024-UNAM el cual establece los requisitos y norma los procedimientos para la obtención de los grados académicos y títulos profesionales conferidos por esta Casa Superior de Estudios;

Que, bajo el amparo de los considerandos precedentes, el Pleno del Consejo Universitario en Sesión Extraordinaria N° 35-2026-SE-CU-UNAM, de fecha 25 de agosto de 2026, emitió el siguiente acuerdo: POR UNANIMIDAD: CONFERIR, a nombre de la Nación el Título Profesional de Ingeniero Pesquero por la modalidad de Tesis a la Bachiller: GIULIANA JUDITH GOMEZ CHINO, de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua;

En uso de las facultades y atribuciones conferidas por el artículo 18 de la Constitución Política del Perú, la Ley N° 30220 Ley Universitaria, el Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, y a lo acordado por el pleno del Consejo Universitario;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO 1°: CONFERIR, A NOMBRE DE LA NACIÓN, a la Bachiller

- **GIULIANA JUDITH GOMEZ CHINO**

El **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO PESQUERO.**

Por la modalidad de TESIS, de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua.

ARTÍCULO 2°: ENCARGAR, al Secretario General de la UNAM, para que realice las acciones pertinentes relacionadas con la inscripción correspondiente en el Registro de Grados y Títulos de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria - SUNEDU.

ARTÍCULO 3°: DISPONER, el cumplimiento de la presente Resolución a todas las dependencias de la Universidad Nacional de Moquegua.

ARTÍCULO 4°: DISPONER la publicación de la presente resolución en el Portal Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua www.unam.edu.pe

REGÍSTRESE, PUBLÍQUESE Y CÚMPLASE;

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA SECRETARIA GENERAL

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA CONSEJO UNIVERSITARIO

MTRO. JOSE LUIS PACHECO CACERES
SECRETARIO GENERAL

DR. HUGO RUBEN MARCA MAQUERA
RECTOR
PRESIDENTE DEL CONSEJO UNIVERSITARIO

DISTRIBUCIÓN: VRA, VRI, FAIN, EPIP, GyT, DASA, OTI, *Interesada*, C.c. Arch.
SVR

Domicilio Legal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe