



UPSE

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

TEMA

DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS EN *Cherax Quadricarinatus* (RED CLAW)
PRESENTES EN EL EMBALSE DAULE PERIPA, PROVINCIA DE GUAYAS.

AUTOR

Ing. Danny Gerardo Zambrano Solorzano

TRABAJO DE TITULACIÓN
Previo a la obtención del grado académico en
MAGÍSTER EN ACUICULTURA

TUTOR

Acui. Sonnya Mendoza Lombana., Ph.D.

Santa Elena, Ecuador

Año 2026



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos calificadores aprueban el presente trabajo de titulación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por el Instituto de Postgrado de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

**PhD. Roxana Álvarez Acosta
COORDINADORA DEL
PROGRAMA**

**PhD. Sonnya Mendoza Lombana
TUTORA**

**PhD. Jorge Osiris García Regalado
ESPECIALISTA 1**

**PhD. César Augusto Molina Poveda
ESPECIALISTA 2**

**Ab. María Rivera González. Mgtr.
SECRETARIA GENERAL
UPSE**



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN:

Certifico que luego de haber dirigido científica y técnicamente el desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por el cual apruebo en todas sus partes el presente trabajo de titulación que fue realizado en su totalidad por Danny Gerardo Zambrano Solorzano, como requerimiento para la obtención del título de Magíster en Acuicultura.

Atentamente,

Acui. Sonnya Mendoza Lombana., Ph.D.
TUTORA



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Danny Gerardo Zambrano Solorzano

DECLARO QUE:

El trabajo de Titulación, **Determinación de patógenos en *Cherax quadricarinatus* (Red claw) presentes en el embalse Daule Peripa, Provincia de Guayas** previo a la obtención del título en Magíster en Acuicultura, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Santa Elena, a los 31 días del mes de marzo del año 2026

Ing. Danny Gerardo Zambrano Solorzano
AUTOR



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

AUTORIZACIÓN

Yo, Danny Gerardo Zambrano Solorzano

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Estatal Península de Santa Elena, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de, **Determinación de patógenos en *Cherax quadricarinatus* (Red claw) presentes en el embalse Daule Peripa, Provincia de Guayas** con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de esta investigación dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Santa Elena, a los 31 días del mes de marzo del año 2026

Ing. Danny Gerardo Zambrano Solorzano
AUTOR



UPSE

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA
DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
INSTITUTO DE POSTGRADO**

CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO

Certifico que después de revisar el documento final del trabajo de titulación denominado **Determinación de patógenos en *Cherax quadricarinatus* (Red claw) presentes en el embalse Daule Peripa, Provincia de Guayas**, presentado por el estudiante, Danny Gerardo Zambrano Solorzano fue enviado al Sistema Antiplagio COMPILATIO, presentando un porcentaje de similitud correspondiente al 6%, por lo que se aprueba el trabajo para que continúe con el proceso de titulación.

 INFORME DE ANÁLISIS
magister

TESIS FINAL Danny Zambrano

6%
Textos sospechosos

- 2% Similitudes
0% similitudes entre comillas
0% entre las fuentes mencionadas
- 4% Idiomas no reconocidos
- 1% Textos potencialmente generados por la IA

Nombre del documento: TESIS FINAL Danny Zambrano.docx	Depositante: SONNYA PATRICIA MENDOZA LOMBANA	Número de palabras: 10.780
ID del documento: f7b63968d59acab39983aa51263c0668c51e275c	Fecha de depósito: 18/2/2026	Número de caracteres: 71.242
Tamaño del documento original: 101,19 kB	Tipo de carga: interface	
	fecha de fin de análisis: 18/2/2026	

Acui. Sonnya Mendoza Lombana., Ph.D.
TUTORA

AGRADECIMIENTO.

Agradezco a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por facilitar sus instalaciones, equipos e infraestructura con el fin de poder realizar esta investigación de la manera más profesional y exacta posible.

A la Ing. Narcisa Cabello Ormaza por el apoyo técnico y colaboración brindada en el laboratorio durante el desarrollo de mi investigación.

A mi tutora Acui. Sonnya Mendoza Lombana., Ph.D. por su orientación, apoyo y valiosa guía durante el desarrollo de la investigación, obteniendo grandes enseñanzas en el ámbito profesional.

DEDICATORIA.

Sin lugar a duda a Dios, porque siempre ha
sido el pilar fundamental en mi vida.

A mis padres, Gerardo Zambrano y Freya Solorzano
porque sus brazos nunca han dejado de sostener mis sueños.

Por ser un ejemplo a seguir y demostrar que siempre es
posible si la meta es clara.

ÍNDICE GENERAL.

TEMA	I
CERTIFICACIÓN:	III
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	IV
AUTORIZACIÓN.....	V
CERTIFICACIÓN DE ANTIPLAGIO	VI
AGRADECIMIENTO.....	VII
DEDICATORIA.	VIII
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	4
4. OBJETIVOS.	5
4.1. OBJETIVO GENERAL.	5
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	5
5. HIPÓTESIS.....	6
5.1. HO:	6
5.2. HA:	6
6. MARCO TEÓRICO.....	7
6.1. Langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> (Red claw).....	7
6.2. Taxonomía y clasificación biológica.	7
6.3. Morfología y característica del <i>Cherax quadricarinatus</i>	8
6.4. Ciclo de vida y reproducción.....	8
6.5. Hábitad y requerimiento ambiental.	8
6.6. Patología en crustáceos de agua dulce.....	9
6.7. Factores causales a la aparición de patógenos.....	10
6.8. Respuesta inmune e indicadores fisiológicos de infección.	10
6.9. Signos y lesiones externas en el <i>Cherax quadricarinatus</i>	11
6.10. Patógenos bacterianos asociados al <i>Cherax</i>	11
6.11. Género vibrios.	12
6.12. Patógenos bacterianos reportados en el <i>Cherax quadricarinatus</i>	12
6.13. Métodos microbiológicos para determinar bacterias.....	13
6.13.1. Medios diferenciales y selectivos.....	13
6.14. Aislamiento y cultivo bacteriano.....	14
6.15. Conteo de colonias.....	14
6.16. Identificación de bacterias.....	14
6.17. Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana.	15
6.17.1. Prueba de Ureasa.	15

6.17.2.	Prueba de amilasa.....	15
6.17.3.	Prueba de catalasa.....	15
6.17.4.	Prueba de oxidasa.....	15
6.17.5.	Prueba de indol.....	16
6.17.6.	Prueba de Tinción Gram.....	16
6.18.	Método histopatológico.....	16
7.	METODOLOGÍA.....	18
7.1.	Tipo de estudio.....	18
7.2.	Área de estudio.....	18
7.3.	Recolección de muestras para el examen clínico patológico del <i>Cherax quadricarinatus</i>	18
7.4.	Análisis en fresco.....	19
7.4.1.	Análisis externo.....	19
7.4.2.	Análisis interno.....	19
7.4.2.1.	Hepatopáncreas.....	19
7.4.2.2.	Branquias.....	20
7.4.2.3.	Contenido intestinal.....	20
7.4.3.	Observación.....	21
7.5.	Análisis microbiológico.....	21
7.5.1.	Colecta de muestras.....	21
7.5.2.	Preparación de medios de cultivo.....	22
7.5.2.1.	Preparación de TCBS.....	22
7.5.2.2.	Preparación de Macconkey.....	22
7.5.2.3.	Preparación Agar Nutriente + Manitol.....	23
7.5.3.	Técnica de siembra.....	23
7.5.4.	Conteo de colonias.....	24
7.6.	Caracterización morfológica de las bacterias.....	24
7.7.	Identificación bioquímica de los microorganismos.....	25
7.7.1.	Prueba de ureasa.....	25
7.7.2.	Prueba de catalasa.....	26
7.7.3.	Prueba de oxidasa.....	26
7.7.4.	Prueba de amilasa.....	26
7.7.5.	Prueba de indol.....	26
7.7.6.	Prueba de Tinción Gram.....	27
7.8.	Análisis histopatológico.....	27
7.8.1.	Diseño muestral.....	27
7.8.2.	Fijación y conservación del organismo.....	27
7.8.3.	Deshidratación, embebido y corte.....	28
7.8.4.	Tinción con Hematoxilina-Eosina.....	28
7.9.	Análisis estadístico.....	28

7.9.1.	Past.	28
7.9.2.	Prueba de normalidad, Shapiro-Wilk.	28
7.9.3.	Correlación de los datos, Spearman's.	29
7.9.4.	Excel – Sistematización de variables.	29
8.	RESULTADOS.	30
8.1.	Análisis en fresco.	30
8.1.1.	Características externas.	30
8.1.2.	Características Internas.	30
8.2.	Cuantificación de unidades formadoras de colonias.	33
8.2.1.	Correlación de la salud a nivel de hepatopáncreas de <i>Cherax quadricarinatus</i> con patógenos.	34
8.2.2.	Correlación de la salud a nivel de branquias de <i>Cherax quadricarinatus</i> con patógenos.	36
8.3.	Caracterización de las bacterias.	36
8.3.1.	Pruebas Bioquímicas - Sistematización de variables.	40
8.4.	Histopatología.	41
9.	DISCUSIÓN.	45
10.	CONCLUSIONES.	47
11.	RECOMENDACIONES.	48
12.	BIBLIOGRAFÍA.	49
13.	ANEXOS.	54

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1:	Universidad Tecnica Estatal de Quevedo y embalse Daule peripa.	18
Figura 2:	Análisis de montaje en fresco del <i>Cherax quadricarinatus</i> .	21
Figura 3:	Preparación del Agar TCBS.	22
Figura 4:	Preparación del agar Macconkey y agar nutriente más manitol.	23
Figura 5:	Método de siembra en los medios de cultivo.	24
Figura 6:	Caracterización morfológica de las bacterias.	25
Figura 7.	Matriz de correlación entre unidades formadoras de colonias de 3 tipos de agar y patología a nivel de la hepatopáncreas.	35
Figura 8.	Matriz de correlación de patología a nivel branquial con el crecimiento bacteriano en varios tipos de agar.	36
Figura 9.	Corte histopatológico de branquias del <i>C. quadricarinatus</i> , con 50x.	42
Figura 10.	Corte histopatológico de branquias del <i>C. quadricarinatus</i> , con 50X.	42
Figura 11.	Corte histopatológico de hepatopáncreas, vibriosis suave, con 50X.	43
Figura 12.	Corte histopatológico del hepatopáncreas, deformación de túbulos, con 50X.	43
Figura 13.	Corte histopatológico del hepatopáncreas, con 50X.	44
Figura 14.	Corte histopatológico de branquias, presencia de virus WSSV, con 50X.	44

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.....	34
Tabla 2: Pruebas bioquímicas sistematizadas mediante una tabla con formato condicional donde (0) ausencia y (1) presencia de dicha enzima.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Características externas de las anomalías o lesiones presentes en <i>C. quadricarinatus</i> ...	30
Gráfico 2. Anomalías y lesiones en branquias del <i>C. quadricarinatus</i> expresados como grados de severidad de las lesiones o anomalías en branquias, con presencia de deformación, epicomensales, opacidad y detritus.	31
Gráfico 3. Anomalías y lesiones en el hepatopáncreas del <i>C. quadricarinatus</i> expresados como grados de severidad en hepatopáncreas, con presencia de deformación tubular, melanización, túbulos vacíos y túbulos estrangulados.	32
Gráfico 4. Estado de alimentación y dinámica digestiva del contenido intestinal en <i>C. quadricarinatus</i> , presencia de algas y detritus.	33
Gráfico 5. Crecimiento de unidades formadoras de colonias UFC/ml de manera semanal clasificadas por el tipo de agar.	34
Gráfico 6. Características fenotípicas del color de las bacterias en los 3 medios de cultivo, TCBS, Macconkey y Agar nutriente + Manitol.	37
Gráfico 7. Caracterización morfológica de colonias bacterianas cultivadas en medios selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.....	38
Gráfico 8. Caracterización de colonias bacterianas según la morfología de sus bordes, cultivada en medios selectivos: TCBS, Macconkey, Agar nutriente + manitol.	39
Gráfico 9. Caracterización de la elevación de las colonias bacterianas cultivadas en medio selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.....	39
Gráfico 10. Caracterización del tamaño de las colonias bacterianas cultivadas en medios selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.....	40

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1: <i>Cherax quadricarinatus</i>	54
Anexo 2: Peso del <i>Cherax quadricarinatus</i>	54
Anexo 3: Observación al microscopio.....	54
Anexo 4: Observación interna de branquias en el microscopio.....	55
Anexo 5: Observación interna del hepatopáncreas en el microscopio.....	55
Anexo 6: Observación del contenido intestinal del <i>Cherax quadricarinatus</i>	55
Anexo 7: Siembra de la muestra en el cultivo agar.	56
Anexo 8: Conteo de colonias.	56
Anexo 9: Presencia de vibrios en agar TCBS.....	56
Anexo 10: Presencia de <i>E. Coli</i> en agar Macconkey.	57
Anexo 11: Presencia de <i>Pseudomonas</i> en agar nutriente + manitol.	57
Anexo 12: Descripción morfológica de las bacterias presentes en el <i>C. quadricarinatus</i>	57
Anexo 13: Tinción Gram.	58
Anexo 14: Selección de muestras, branquias y hepatopáncreas para análisis histopatológico.....	58
Anexo 15: Tabla de análisis en fresco del <i>C. quadricarinatus</i>	59

DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS EN *Cherax quadricarinatus* (RED CLAW)
PRESENTES EN EL EMBALSE DAULE PERIPA, PROVINCIA DE GUAYAS.

RESUMEN.

En la acuicultura del *Cherax quadricarinatus* en Ecuador fue introducido en 1994 y se ha establecido en diversos medios incluyendo el embalse de Daule, al ser una especie de gran adaptabilidad por ende ha ganado relevancia a nivel potencial de comercialización, sin embargo, factores como la falta de conocimiento del manejo a nivel intensivo compromete la salud del crustáceo, vulnerándolo a enfermedades patógenas que afecta a su productividad. El objetivo principal de es la determinación de patógenos mediante análisis clínicos patológicos, pruebas bioquímicas, análisis en fresco de 10 animales por 12 semanas y microbiológicos. Para la identificación de bacterias se utilizó medios de cultivo como agar Macconkey (*E. Coli*), Nutriente + manitol (pseudomonas) y TCBS (vibrio), en las pruebas bioquímicas se identificó la presencia de enzimas como la amilasa, se caracterizó de manera morfológica visual 150 cepas bacterias. Se realizó un análisis estadístico para datos no paramétricos utilizando el software Past. La evaluación patológica a nivel externo se registró afectaciones a gran frecuencia en las antenas de los 120 ejemplares muestreados 49 presentaron alteraciones, la textura se mantuvo normal en todas las muestras, a nivel interno, las branquias presentaron melanización de un total de 48 muestras en grado 3, sin embargo, no presento presencia de epicomensales. Durante las 12 semanas de muestreo los picos más altos de crecimiento bacteriano se dieron en la semana 8 y 10 en los agares MacConkey de 1,05E+06 UFC/ml (*E. Coli*) y nutriente + manitol (Pseudomonas) 1,3E+06 UFC/ml, sin embargo, en el agar TCBS el crecimiento más relevante se dio en la semana 1 con 1,6E+05 UFC/ml. Se correlacionó el crecimiento bacteriano (UFC) con el análisis patológico de hepatopáncreas y branquias. El coeficiente de correlación del crecimiento bacteriano con las afectaciones en el hepatopáncreas en los agares Macconkey y nutriente + manitol es positivo con un valor de $p= 0,92$. En el agar TCBS presenta una correlación negativa $p= 0,70$ mostrando que el género *Vibrios* no es el causante de las lesiones presentadas en el hepatopáncreas. En el análisis histopatológico se observó la presencia de protozoarios, necrosis en branquias, en el hepatopáncreas se observó pérdida parcial de la delimitación normal del epitelio, túbulos deformes, ensanchamiento del lumen tubular, acumulación celular, detritos, presencia de lesiones asociados a infección por WSSV.

Palabras claves: Patología, Red claw, Protozoarios, Histología.

DETERMINATION OF PATHÓGENS IN *Cherax quadricarinatus* (RED CLAW)
PRESENT IN THE DAULE PERIPA RESERVOIR, GUAYAS PROVINCIE.

ABSTRACT.

In Ecuador, the *Cherax quadricarinatus* was introduced into aquaculture in 1994 and has become established in various environments, including the Daule reservoir. Its high adaptability has led to increased commercial potential. However, factors such as a lack of knowledge regarding intensive management compromise the crustacean's health, making it vulnerable to pathogenic diseases that affect its productivity. The main objective of this study is to determine pathogens through clinical and pathological analyses, biochemical tests, fresh sample analysis of 10 animals over 12 weeks, and microbiological tests. For bacterial identification, culture media such as Macconkey agar (*E. coli*), Nutrient + mannitol agar (*Pseudomonas*), and TCBS agar (*Vibrio*) were used. Biochemical tests identified the presence of enzymes such as amylase, and 150 bacterial strains were visually characterized morphologically. A statistical analysis of non-parametric data was performed using PAST software. External pathological evaluation revealed frequent alterations in the antennae of 49 out of the 120 sampled specimens. The texture remained normal in all samples. Internally, the gills showed grade 3 melanization in 48 samples; however, no epicommensals were present. During the 12 weeks of sampling, the highest peaks of bacterial growth occurred in weeks 8 and 10 on Macconkey agar ($1.05E+06$ CFU/ml for *E. coli*) and nutrient + mannitol agar ($1.3E+06$ CFU/ml for *Pseudomonas*). However, on TCBS agar, the most significant growth occurred in week 1 ($1.6E+05$ CFU/ml). Bacterial growth (CFU) was correlated with the pathological analysis of the hepatopancreas and gills. The correlation coefficient between bacterial growth and hepatopancreatic lesions on MacConkey and nutrient + mannitol agars was positive, with a p-value of 0.92. On TCBS agar, a negative correlation was observed ($p = 0.70$), indicating that *Vibrio* is not the causative agent of the lesions observed in the hepatopancreas. Histopathological analysis revealed the presence of protozoa, gill necrosis, partial loss of normal epithelial demarcation, deformed tubules, widening of the tubular lumen, cellular accumulation, debris, and lesions associated with WSSV infection.

Keywords: Pathology, Red Claw, Protozoa, Histology.

1. INTRODUCCIÓN.

El *Cherax quadricarinatus* es una especie nativa del norte de Australia y el sur de Nueva Guinea, crustáceo con alto potencial como producto de consumo. Su cultivo puede desarrollarse mediante los sistemas intensivos, siendo la producción de juveniles la clave importante para alcanzar tamaños comerciales. El desempeño productivo en esta depende principalmente de la supervivencia y el crecimiento, los cuales están relacionados con la alimentación adecuada, (Setiadi & Adibrata, 2024).

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), esta especie ocupa actualmente el segundo lugar entre los cangrejos de río más cultivados y explotados, con una producción anual de estimada alrededor de 150 toneladas, (Yao, Hong, Weiguo, & Zhu, 2024). Tienen un rápido crecimiento y se puede cosechar en 6 a 9 meses en un entorno de crecimiento adecuado, (Gong, Pan, Zhou, & Zhu, 2023). En 1994 se introdujo al Ecuador la especie *C. quadricarinatus*, durante el periodo del síndrome de taura, donde se creía que el cultivo de la especie podría ser posible, invirtiendo una gran cantidad de dinero en la construcción de criaderos, sin embargo, en junio del 2001 gran parte de estos criaderos fueron abandonados, actualmente en parte de la provincia del Guayas estas infraestructuras abandonadas son utilizadas para granjas de cangrejos, (Menéndez Castro, 2023).

Las enfermedades asociadas al *C. quadricarinatus* han sido escasamente investigadas y, hasta el momento no se han reportado patógenos de alta relevancia comercial para un cultivo, o para el cultivo de diferentes especies. La presencia de bacterias como *Vibrios cholerae* y *Vibrios parahaemolyticus*, protozoarios y hongos que han sido reportados en estanques con problemas de calidad de agua, (Villarreal & Naranjo, 2008). Las infecciones bacterianas de los cangrejos de río son comunes, y muchas de estas bacterias son patógenos oportunistas. El estrés ambiental podría ser un determinante para la infección de patógenos microbianos y la disminución de la resistencia a los mismos, (Chen et al., 2021).

El registro de patógenos se realiza mediante la aplicación de técnicas de análisis clínico patológico en fresco en distintas partes de los organismos como el exoesqueleto, las branquias, el hepatopáncreas, el intestino y el músculo. A través de estos análisis se puede evidenciar presencia de cianobacterias en el interior del intestino, así como del género

Anabaena en branquias. La presencia de epibiontes ciliados como *Epistylis* en la parte interna de las branquias y en la parte externa del exoesqueleto, (Mena & Luis, 2013).

A pesar de la importancia que tiene el *C. quadricarinatus*, tolerante a una amplia variedad de hábitat y a la contaminación que se presentan en cada una de ellas. Este estudio tiene como objetivo determinar las patologías que están presentes y que afecten al *C. quadricarinatus*, en el embalse Daule peripa, Provincia del Guayas, mediante técnicas en fresco, microbiológicas e histopatológicas.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

A nivel del Ecuador el cultivo de *C. quadricarinatus* surgió 1994, al ser un cultivo relativamente nuevo la información técnica era escasa y la metodología aplicada fue adaptada del cultivo de otras especies, las primeras corridas se obtuvo resultados negativos con un 80% de mortalidad inicialmente atribuidas por altas densidad de cultivo y presencia de problemas patológicos, (Mendoza, 2023).

La falta de una estructura técnica como protocolos sanitarios y diagnósticos para la detección de patógenos limitan su potencial comercial y productivo. En consecuencia, se plantea la necesidad de determinar los agentes patógenos, identificándolos como los puntos críticos que restringen la viabilidad y rentabilidad de un cultivo.

Los patógenos principales que presentan el *C. quadricarinatus* son los *Vibrios parahaemolyticus*, presencia de *Aeromonas* y pequeños *Staphylococcus aureus*, (Huang, Lu, Shi, Huang, & Lu, 2024). La aparición de infecciones oportunistas en la acuicultura, incluida la vibriosis, depende de la interacción entre los patógenos, el huésped y el medio ambiente, (Bass, Wang, & Kostella, 2019). Típicamente, las bacterias aisladas a las langostas de río incluyen representantes de los géneros *Acinetobacter*, familia de los *Bacillus*, el género *Flavobacterium*, genero *Micrococcus*, familia de los *Staphylococcus*, familia de las aeromonas y pseudomonas, genero vibrios, en ciertos casos, las infecciones bacterianas de las langostas de río conducen a la mortalidad tanto en animales de cultivo como en estado salvaje, (Longshaw, 2011).

La continua expansión de la escala de la acuicultura y el rápido desarrollo de la tecnología de cultivo intensivo de *C. quadricarinatus*, los problemas ambientales y de salud en el cultivo de *C. quadricarinatus* han provocado el brote de enfermedades infecciosas, (Lu, Zheng, Zhang, & Li, 2023). Las langostas de río infectados con patogenos presentan pérdida de apetito, anorexia, alimentación reducida o suspendida, letargo y leucoplasia cutánea del exoesqueleto como síntomas clínicos, (Zhou, Gong, Zhuang, & Zhu, 2022).

3. JUSTIFICACIÓN.

A pesar del aumento productivo de este sector, el principal desafío para el desarrollo y la gestión de la acuicultura de agua dulce en términos de bioseguridad sigue siendo la salud de los organismos y la prevención de enfermedades.

El discreto ingreso de la langosta de río *C. quadricarinatus*, de manera simultánea con la tilapia, puede considerarse como el proceso más relevante de diversificación de la acuicultura en la región costera del Ecuador. Este proceso coincidió con la aparición de problemas que redujeron la productividad y rentabilidad de una parte del sector camaronero por el síndrome de taura y las bacterias intracelulares, así como a limitaciones de aspectos financieros y de costos, (Chunga & Figueroa, 2002).

El registro de los patógenos encontrados en los organismos puede ser posible aplicando técnicas de montajes y análisis en fresco de la parte externa e interna como (exoesqueleto, branquias, hepatopáncreas, contenido intestinal y músculo), mediante análisis microbiológicos e histopatológicos. Por lo tanto, la caracterización de patógenos potencialmente es una de las estrategias más importantes para controlar los brotes de enfermedades, (Hernandez, Soderhall, Sirikharin, & Soderhall, 2021).

La langosta de río puede verse afectada por enfermedades causada por bacterias, virus, hongos y por pequeños protozoarios, siendo el análisis de montaje en fresco la herramienta básica de todo productor de especies acuícolas en el diagnóstico y detección de lesiones, anomalías o enfermedades, con el fin de aplicar un diagnóstico pertinente y así evitar serias pérdidas durante todo el ciclo de cultivo, (Ziwei, Zheng, ke, Dandan, & Chi, 2024). El siguiente estudio se realiza para determinar la presencia de diversas patologías que se encuentran en el *C. quadricarinatus* en el embalse Daule peripa, Provincia del Guayas.

4. OBJETIVOS.

4.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la presencia de bacterias que afecten a la langosta de río *C. quadricarinatus* (Red Claw) en el embalse Daule Peripa, Provincia del Guayas, por medio de técnicas de diagnóstico en fresco, microbiológicos e histopatológicos.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar exámenes clínicos patológicos en *C. quadricarinatus* para la identificación preliminar de signos y lesiones asociadas a patología.
- Analizar las bacterias presentes en el hepatopáncreas del *C. quadricarinatus* mediante cultivos microbiológicos.
- Caracterizar morfológicamente las bacterias detectadas en el hepatopáncreas del *C. quadricarinatus*.
- Determinar patógenos mediante metodología histopatológica en el hepatopáncreas y branquias del *C. quadricarinatus* como indicadores del estado sanitario.

5. HIPÓTESIS.

5.1. HO:

Los métodos clínico-patológicos, microbiológicos e histopatológicos no permiten determinar la presencia ni las características de los agentes patógenos que afecten al hepatopáncreas y branquias de *C. quadricarinatus* (red Claw) del embalse Daule peripa, como indicadores de su estado sanitario.

5.2. HA:

Los métodos clínico-patológicos, microbiológicos e histopatológicos permiten determinar la presencia ni las características de los agentes patógenos que afecten al hepatopáncreas y branquias de *C. quadricarinatus* (red Claw) del embalse Daule peripa, como indicadores de su estado sanitario.

6. MARCO TEÓRICO.

6.1. Langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Red claw).

La langosta de agua dulce *C. quadricarinatus* conocida como langosta australiana, es endémica del norte de Australia y del sureste de Nueva Guinea. Se ha diseminado por el mundo gracias a su textura y el sabor de su carne, sin olvidar que es una especie propicia para la acuicultura y de fácil reproducción, es resistente y tiene un ciclo de vida corto (7 meses), donde se pueden obtener tallas comerciales (40-60 g y 60-90 g), con una capacidad de reproducción de 3 a 5 veces por año, (Fumero, Rodriguez, & Olivares, 2023).

6.2. Taxonomía y clasificación biológica.

C. quadricarinatus, conocido comúnmente como langosta de agua dulce australiana o “Red Claw”, corresponde a filo *Arthropoda*, subfilo *Crustáceo*, orden *Decápoda*, familia *Parastacidae* y género *Cherax*. Esta especie, originalmente descrita por von martens en 1868, se distingue por su amplia distribución geográfica y adaptabilidad ecológica, lo que la convierte en una de las especies más estudiadas dentro de los crustáceos de agua dulce. La correcta delimitación taxonómica de *C. quadricarinatus* ha permitido realizar comparaciones filogenéticas con otros decápodos de importancia acuícola, contribuyendo a comprender su biología evolutiva y su relación con patógenos acuáticos emergentes, (Ziwei et al., 2024).

Desde un punto de vista filogenético, *C. quadricarinatus* se ha ubicado dentro de un claro basal de los parastacidae, grupo caracterizado por su capacidad de adaptación a sistemas lénticos y lóticos tropicales. Los estudios genómicos recientes han permitido establecer relaciones evolutivas basadas en marcadores mitocondriales y nucleares, evidenciando divergencias adaptativas asociadas a tolerancia térmica y resistencia inmunológica, (Ziwei, Zheng, ke, Dandan, & Chi, 2024). La clasificación taxonómica precisa de esta especie no solo facilita su manejo en acuicultura, sino que también contribuye a la comprensión de la dinámica de patógenos emergentes en ecosistemas dulceacuícolas, al permitir comparaciones filogenéticas con otros decápodos de interés sanitario, (Fernandez, 2009).

6.3. Morfología y característica del *Cherax quadricarinatus*.

La morfología de *C. quadricarinatus* se distingue por la presencia de un exoesqueleto quitinoso de coloración azul verdosa con tonalidades rojizas en las pinzas de los machos adultos. Posee un cefalotórax robusto que alberga los principales órganos sensoriales y de alimentación, mientras que el abdomen segmentado facilita la locomoción y la natación. En su anatomía interna, destaca el hepatopáncreas como órgano fundamental para la digestión y el metabolismo, siendo además un tejido clave para la identificación de infecciones bacterianas o virales. Estas características anatómicas reflejan una adaptación evolutiva eficiente al ambiente bentónico y a la vida en aguas dulces, (Huang, Lu, Shi, Huang, & Lu, 2024).

6.4. Ciclo de vida y reproducción.

El ciclo de vida de *C. quadricarinatus* comprende varias etapas bien definidas que incluyen el desarrollo embrionario, las fases larvales y el crecimiento postlarval hasta alcanzar la madurez sexual. Esta especie presenta reproducción sexual con fertilización interna, y las hembras incuban los huevos adheridos a los pleópodos durante un período de 6 a 8 semanas, dependiendo de la temperatura del agua. La eclosión da lugar a juveniles bentónicos completamente formados, lo que diferencia a *C. Quadricarinatus* de otros crustáceos que poseen fases larvales planctónicas, (Saud, Yta, & Ghanau, 2023).

La capacidad reproductiva se logra alcanzar entre los 6 y 12 meses de vida, el impacto de los factores ambientales que afectan como por el ejemplo: la temperatura, el fotoperiodo y la disponibilidad de alimento. Las anomalías sexuales se manifiestan por la medida de las quelas, el color y la presencia de espinas en la base de los apéndices del segundo par de pereiópodos. Los machos tienden a presentar un aumento más rápido y una mayor agresividad durante la etapa reproductiva. En condiciones del manejo de cultivo, se observan que las hembras pueden desovar de 2 a 3 veces al año, lo que aumenta la eficiencia productiva en los sistemas controlados, (Setiadi & Adibrata, 2024).

6.5. Hábitad y requerimiento ambiental.

C. quadricarinatus es una especie nativa del norte de Australia y sur de Papúa Nueva Guinea, donde habita principalmente cuerpos de agua dulce como ríos, lagunas, embalses y pantanos con fondos arenosos o arcillosos. Se adapta con facilidad a una amplia gama de condiciones ambientales, tolerando temperaturas entre 22 y 32 °C y niveles de oxígeno disuelto por encima de 5 mg/L. Su preferencia por ambientes tropicales y subtropicales le permite prosperar tanto en sistemas naturales como en estanques de cultivo, siempre que se mantenga una adecuada calidad de agua, (Fernandez, 2009).

En su entorno natural, esta especie ocupa zonas con abundante vegetación acuática, la cual proporciona refugio y alimento, además de estabilizar los parámetros fisicoquímicos del agua. La calidad del hábitat influye directamente en su crecimiento, supervivencia y resistencia a enfermedades, por lo que el monitoreo de parámetros como pH, amonio, nitritos y dureza del agua resulta esencial. Estudios realizados en Asia y América Latina evidencian que la exposición prolongada a contaminantes o fluctuaciones de oxígeno puede alterar su metabolismo hepático e incrementar la susceptibilidad a patógenos bacterianos y virales, (Lu, Zheng, Zhang, & Li, 2023).

El *C. quadricarinatus* muestra plasticidad ecológica que le permite sobrevivir a etapas de sequía mediante la excavación de madrigueras húmedas o la migración hacia zonas con mayor disponibilidad hídrica. Esta conducta, junto con su transigencia a variaciones térmicas y salinas moderadas, ha favorecido su expansión fuera de su área de distribución original, convirtiéndola en una especie invasora en varias regiones. Tales características mejoran la importancia de un manejo ecológico formal en programas de cultivo y repoblamiento, (Yao, Hong, Weiguo, & Zhu, 2024).

6.6. Patología en crustáceos de agua dulce.

La patología en crustáceos de agua dulce describe a las alteraciones estructurales y funcionales causadas por agentes biológicos, químicos o físicos que pueden afectar la salud y el rendimiento de las poblaciones naturales o cultivadas. Las enfermedades pueden clasificarse en infecciosas y no infecciosas; las primeras son producidas por virus, bacterias, hongos o parásitos, mientras que las segundas derivan de condiciones ambientales adversas, deficiencias nutricionales o estrés fisiológico. En acuicultura, esta diferenciación es esencial

para la implementación de estrategias de diagnóstico y control específicas que eviten pérdidas económicas y ecológicas, (Longshaw, 2011).

Las enfermedades infecciosas suelen presentar una dinámica epidemiológica compleja, influenciada por factores ambientales, la densidad poblacional y la interacción entre hospedador y patógeno. Esta visión ecológica permite considerar la patología no solo como la acción de un agente aislado, sino como el resultado de desequilibrios en el ecosistema microbiano y del sistema inmunológico del crustáceo, (Villarreal & Naranjo, 2008).

6.7. Factores causales a la aparición de patógenos.

La aparición de patógenos en los sistemas acuáticos está relacionada por múltiples factores biológicos y ambientales. Entre los más importantes se encuentran las variaciones de temperatura, calidad del agua, la sobrepoblación y el mal manejo de residuos orgánicos. Estas condiciones provocan alteraciones en los crustáceos, facilitando la colonización y proliferación de microorganismos oportunistas. En ambientes tropicales, las fluctuaciones bruscas de temperatura y oxígeno disuelto se relacionan directamente con el incremento de enfermedades bacterianas en especies como *C. quadricarinatus*, (Lu, Zheng, Zhang, & Li, 2023).

A nivel de manejo, la densidad de cultivo, el transporte prolongado, la manipulación inadecuada y la deficiente calidad del alimento también se consideran factores predisponentes. Estudios recientes en sistemas tropicales han demostrado que el estrés oxidativo y la disbiosis intestinal están directamente relacionados con la activación de patógenos oportunistas, especialmente en el hepatopáncreas, órgano clave en la respuesta inmunitaria (Lu et al., 2023). Por tanto, el control de los factores ambientales y nutricionales constituye una herramienta preventiva fundamental para mantener la salud de las poblaciones de *C. quadricarinatus* en ambientes naturales y de cultivo.

6.8. Respuesta inmune e indicadores fisiológicos de infección.

Los crustáceos poseen un sistema inmunológico innato que constituye su principal defensa contra agentes infecciosos. Este sistema incluye la actividad de hemocitos, la fagocitosis, la

producción de melanina mediante el sistema de la profenoloxidasa y la liberación de péptidos antimicrobianos. La detección de variaciones en la concentración de hemocitos, enzimas lisosomales o niveles de proteínas plasmáticas puede emplearse como indicador fisiológico de infección. En el *C. quadricarinatus*, se ha evidenciado que la modulación de genes inmunitarios se activa ante la presencia de bacterias del género vibrios, (Chen et al., 2021).

Los indicadores fisiológicos de infección incluyen la reducción en la actividad de enzimas antioxidantes, cambios en la composición hemolinfática y alteraciones morfológicas en el hepatopáncreas. Estas respuestas pueden cuantificarse mediante biomarcadores como el superóxido dismutasa, catalasa o malondialdehído, que reflejan el grado de estrés oxidativo y daño celular, (Sehna, 2021).

6.9. Signos y lesiones externas en el *Cherax quadricarinatus*.

La manifestación clínica de las enfermedades en *C. quadricarinatus* varían según el agente etiológico, pero normalmente incluyen letargo, pérdida de equilibrio, anorexia, variación en la coloración del exoesqueleto y lesiones visibles en branquias o el hepatopáncreas. En las infecciones bacterianas, las lesiones macroscópicas pueden presentarse como zonas blanquecinas o necróticas en los músculos abdominales, mientras que los virus suelen generar signos de opacidad, deformación y atrofia de tejidos blandos, (Gong, Pan, Zhou, & Zhu, 2023).

En ciertos casos, se observan hemorragia subcuticular y melanización, producto de la activación del sistema profenoloxidasa, mecanismo que intenta contener la infección. Las alteraciones en el hepatopáncreas son de particular interés patológico, dado que es un órgano que refleja de manera anticipada los efectos de los patógenos sobre los procesos metabólicos. Por ello, el examen histopatológico del hepatopáncreas se ha consolidado como una herramienta de suma importancia que diagnóstica la identificación de infecciones bacterianas o virales en *C. quadricarinatus* (Lu et al., 2023).

6.10. Patógenos bacterianos asociados al *Cherax*.

Las infecciones bacterianas constituyen una de las principales causas de mortalidad en

crustáceos de agua dulce, especialmente en sistemas de cultivo intensivo donde el estrés ambiental y la alta densidad poblacional favorecen la proliferación de microorganismos oportunistas. Los géneros vibrios, aeromonas, pseudomonas y flavobacterium son los más comúnmente implicados en brotes infecciosos, ocasionando septicemia, necrosis y daño tisular en órganos vitales como el hepatopáncreas y las branquias. Estas bacterias pueden ingresar al hospedador a través de heridas en el exoesqueleto, el tracto digestivo o las branquias, aprovechando condiciones ambientales desfavorables para el crustáceo, (Yao et al., 2024).

Los factores determinantes como la aglomeración de materia orgánica, la mala calidad del agua y los cambios de temperatura potencian el crecimiento de patógenos bacterianos. Además, las bacterias patógenas pueden formar biopelículas resistentes a los tratamientos tradicionales, obstaculizando el control mediante antibióticos o desinfectantes. Por ello, la investigación actual enfatiza la necesidad de comprender las interacciones entre la calidad de agua y los patógenos en el ambiente, y así ayudar a la salud del crustáceo para establecer estrategias preventivas sostenibles, (Wang & Zhao, 2023).

6.11. Género vibrios.

El género vibrios incluye numerosas especies patógenas para crustáceos, entre ellas *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* y *V. vulnificus*. Estas bacterias son reconocidas por causar el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) y septicemias generalizadas, afectando tanto a especies marinas como a crustáceos de agua dulce. Los vibrios se caracterizan por su capacidad de producir toxinas extracelulares, hemolisinas y proteasas que dañan los tejidos del hospedador y alteran los procesos digestivos, (Tran & Nunan, 2022).

6.12. Patógenos bacterianos reportados en el *Cherax quadricarinatus*.

Las enfermedades que se presentan en el *C. quadricarinatus* (red claw) han sido escasamente analizadas, pero no se han aliados a padecimientos patógenas de gran importancia comercial para su cultivo, o similar al cultivo de otras especies.

Las bacterias (*Vibrio mimicus*, *Vibrios cholerae* y *Vibrios parahaemolyticus*), microsporidios, o pequeños protozoarios, presencia de virus, del mismo modo como los hongos que se presentan en el *C. quadricarinatus* (familia de Achyla sp y Allomyces sp.) han sido registrados en estanques de siembra con impedimentos de eficacia de agua, que afectan la calidad de los huevos de la langosta de río. Por otro lado, las investigaciones han mostrado un valor de oposición del *C. quadricarinatus* (redclaw) al virus de la mancha blanca (white spot). El Epistylis, es un pequeño protozoario, esta forma colonias en el exoesqueleto de la langosta cuando hay aumento de sustancia orgánica en el estanque, mientras que los gusanos (Temnocephala, Diceratocephala, Notodactylus), gusanos planos que se asemejan a una sanguijuela, (Villarreal & Naranjo, 2008).

Diversos estudios han documentado la presencia de patógenos bacterianos asociados a *C. quadricarinatus*, especialmente en ambientes de cultivo y cuerpos de agua dulce tropicales. Entre los géneros más frecuentes se encuentran aeromonas, vibrio, pseudomonas y bacillus. Estas bacterias pueden coexistir de forma comensal en el tracto digestivo o en el hepatopáncreas, pero bajo condiciones de estrés o mala calidad del agua se vuelven patógenas y desencadenan infecciones graves, (Zhang & Huang, 2018).

6.13. Métodos microbiológicos para determinar bacterias.

6.13.1. Medios diferenciales y selectivos.

Los medios selectivos y diferenciales facilitan la identificación preliminar de bacterias acuáticas mediante la observación de características de crecimiento y reacciones metabólicas. Entre los más empleados se encuentran el agar TCBS para vibrio, el agar Macconkey para enterobacterias y el agar nutriente para la detección de otros tipos de bacterias. La correcta elección del medio de cultivo depende del tipo de muestra y del patógeno sospechoso, optimizando la eficiencia del diagnóstico bacteriológico, (Varela, 2021).

El empleo combinado de medios generales (agar nutritivo, agar tripticosa soya) y específicos garantiza una recuperación más amplia de microorganismos presentes en los tejidos del crustáceo. La coloración, forma y morfología de las colonias son criterios iniciales esenciales para orientar el diagnóstico microbiológico, (Singh, Patel, & Joshi, 2019).

6.14. Aislamiento y cultivo bacteriano.

El aislamiento de bacterias patógenas en crustáceos se realiza a partir de tejidos como el hepatopáncreas, branquias o hemolinfa, bajo condiciones estériles. Las muestras se inoculan en medios de cultivo generales o selectivos y se incuban a temperaturas controladas para promover el crecimiento microbiano. Este procedimiento permite obtener colonias puras que posteriormente se someten a pruebas morfológicas y bioquímicas. El cultivo microbiológico constituye la base diagnóstica inicial en el estudio de patógenos acuáticos, (Pozo, 2022).

El uso de condiciones controladas de temperatura (28–30 °C) y tiempo de incubación de 24 – 48 h favorece el crecimiento de bacterias acuáticas. Posteriormente, las colonias son evaluadas mediante tinciones diferenciales y pruebas de movilidad para determinar su posible identidad taxonómica, (Bala, Das, & Saha, 2020).

6.15. Conteo de colonias.

Constituye un procedimiento que permite saber el número de microorganismos que están presentes en una muestra. Existen varios métodos para el conteo de microorganismos vivos, mediante el recuento de viables. También se clasifican en directos e indirectos. Es directo cuando se cuentan las células por observación directa al microscopio, e indirecto cuando se determina por el crecimiento o característica de los microorganismos, (Pascual, 2018).

6.16. Identificación de bacterias.

La clasificación de las bacterias se basa en el análisis morfológico y bioquímico. Su morfología puede variar dependiendo de su estructura (bacilos con una forma alargada y los cocos con una forma redondeada); sin embargo, existen también bacterias pleomórficas, que pueden variar de tamaño y forma con el transcurso de su ciclo de vida. En las bacterias aerobias, el oxígeno es el compuesto responsable de aceptar electrones mientras que, en bacterias anaerobias los aceptores son compuestos inorgánicos tales como: nitratos, carbonatos y manganeso oxidado, etc., (Zambrano, 2017).

6.17. Pruebas bioquímicas para identificación bacteriana.

Las pruebas bioquímicas constituyen una herramienta clásica para la identificación de bacterias patógenas, permitiendo caracterizar su metabolismo de carbohidratos, producción de enzimas y capacidad de reducción de compuestos nitrogenados. Entre las más comunes se incluyen la prueba de catalasa, prueba de indol, prueba de oxidasa, prueba de ureasa, y prueba de citrato, así como las pruebas fermentación de glucosa, fermentación de lactosa y la fermentación a través del manitol, (Arias, Soto, & Garcia, 2020).

6.17.1. Prueba de Ureasa.

Este medio se utiliza para descubrir la hidrólisis de la urea por otras enterobacterias menos fuertes formadores de ureasa como por ejemplo *Klebsiella*, *enterobacter*, ciertos micrococcos entre otros, la urea es hidrolizada por las enzimas de ureasa, creando el dióxido de carbono y amoníaco. Este facilita la reacción alcalina al medio, que puede confirmar por el viraje del amarillo al rojo púrpura del marcador de pH rojo fenol contenido en el medio, (Mdm, 2020).

6.17.2. Prueba de amilasa.

La amilasa es una enzima que descompone el almidón en dextrina y polímeros más pequeños compuestos de moléculas de glucosa, (Andrade, 2021).

6.17.3. Prueba de catalasa.

La catalasa una enzima catalizadora de la degradación del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Esta prueba se utiliza para verificar la presencia de la enzima catalasa que se localiza en su mayor parte en las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que implican el citocromo oxidasa, (Khatoon & Anokhe, 2022).

6.17.4. Prueba de oxidasa.

Esta prueba sirve para identificar la presencia de enzimas oxidasas. Esta respuesta oxidasa se debe a la existencia de un sistema citocromo oxidasa. Los citocromos al ser enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfirieran

electrones al oxígeno, con la utilización del agua, (Anokhe & Vinay, 2022).

6.17.5. Prueba de indol.

Esta prueba demuestra la habilidad de ciertas bacterias para deshacer el triptófano en indol que se expone en el medio. La prueba de indol es importante en el reconocimiento de enterobacterias, en esta prueba se crea un producto coloreado cuando el indol se mezcla con ciertos aldehídos. Especialmente, una vez teniendo el cultivo el indol se combina con el reactivo de Kovac (que comprende ácido clorhídrico y p-dimetilaminobenzaldehído en alcohol amílico), esta respuesta cambia de amarillo a rojo cereza (rojo violeta). Pertinente a que el alcohol amílico no es soluble en agua, la coloración roja se formará en una capa aceitosa en la parte superior del caldo, (Kumar, 2025).

6.17.6. Prueba de Tinción Gram.

El procedimiento de tinción es el más ampliamente recomendado en bacteriología, nos permite diferenciar a las bacterias en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas, según sea su modo de actuar frente a la tinción.

La tinción necesita cuatro soluciones, un colorante o tinte básico, un mordiente (sustancia que incrementa la afinidad entre la célula y el tinte), un decolorante (elimina el tinte de una célula teñida) y un segundo tinte o colorante de contraste (tinte de color diferente al del el inicial). Tras la tinción con el primer colorante (Cristal violeta) se realiza una decoloración con el etanol que llevara al colorante sólo en las Gram negativas, mientras que en las Gram positivas el colorante permanece retenido y las células se tornaran azules. Las células Gram negativas se teñirán después con el colorante de contraste (safranina) para que puedan observarse, (Casasola, 2022).

6.18. Método histopatológico.

La histopatología ciencia que estudia las alteraciones patológicas de las células y tejidos. En camarones, es la herramienta de diagnóstico más importante que permite determinar alteraciones a nivel celular en cortes de los tejidos que han sido sometidos a procedimientos

físicos y tinciones comunes o especiales. Esta técnica nos ayuda a descubrir factores de mortalidad, el bajo crecimiento, las alteraciones del comportamiento y otros aspectos durante el cultivo de la producción, para esto se sugiere que las láminas histológicas sean correctamente preparadas y examinadas bajo el microscopio, (Reyes, 2021).

Por otro lado, la tinción o coloración más frecuente para las muestras del tejido, es el de la Hematoxilina/Eosina (H&E) debido a que estas señalan y define bien el núcleo, el citoplasma y la membrana celular por similitud de electrones, resultado en la coloración azul oscuro del núcleo y la pared de las membranas por consecuencia de la hematoxilina y, el citoplasma de color rosado por el producto de la eosina, (Cuéllar-Anjel, 2014).

7. METODOLOGÍA.

7.1. Tipo de estudio.

La investigación es de enfoque cuantitativo y experimental. El componente cuantitativo se fundamenta por el análisis estadístico de datos numéricos recopilados durante el período de estudio de 12 semanas. El diseño experimental por la aplicación de métodos de determinación de patógenos presentes mediante medios de cultivos, análisis patológicos y pruebas bioquímicas.

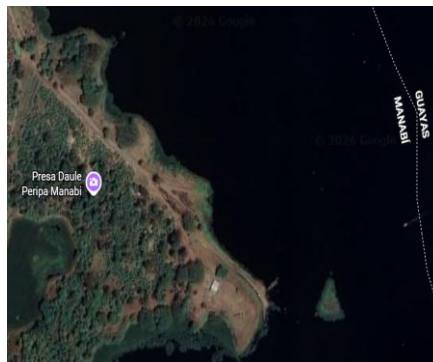
7.2. Área de estudio.

Este estudio se procedió a realizar en el laboratorio de microbiología localizado en la Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológicas de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (Figura 1). Las muestras se obtuvieron del embalse Daule Peripa en Latitud 2°09'32"S y una longitud de 14 km aproximadamente (Figura 1).

Figura 1: Universidad Técnica Estatal de Quevedo y embalse Daule peripa.



Nota: Google Earth, 2025.



Nota: Google Earth, 2025.

7.3. Recolección de muestras para el examen clínico patológico del *Cherax quadricarinatus*.

Para realizar el análisis en fresco al *C. quadricarinatus* se obtienen un total de 120 muestras del embalse con pesos similares entre 25 y 70 gramos originarios del embalse Daule peripa.

Para la captura de los animales se lo realiza con el método habitual del sitio de muestreo, incluyendo el uso de redes, encierre en malla, entre otros. Se colocan en un tanque para su transporte. Las muestras son ubicadas en tanques hasta el respectivo análisis en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

7.4. Análisis en fresco.

El análisis en fresco nos ayuda a evaluar el estado sanitario general del *C. quadricarinatus* (red claw) sin necesidad de esperar resultados de un laboratorio.

7.4.1. Análisis externo.

Para el análisis en fresco de la parte externa del *C. quadricarinatus* (red claw), se consideraron las siguientes observaciones macroscópicas:

- La coloración general del cuerpo del animal, incluyendo las branquias (amarillas o negras), y apéndices de tonalidad rojiza.
- Evaluación de la superficie del caparazón, rostro y anténulas.
- Presencia de decoloraciones en las diversas regiones corporales.
- Textura del exoesqueleto, determinada como duro o blando.
- Tono y consistencia del abdomen, clasificado como firme o flácido, (Varela, 2022).

7.4.2. Análisis interno.

Las principales estructuras del *C. quadricarinatus* seleccionadas para su análisis microscópico fueron: el hepatopáncreas, las branquias y contenido intestinal, (figura 2).

7.4.2.1. Hepatopáncreas.

- Se realizó un corte con tijera para la extracción de la muestra de hepatopáncreas, utilizando una pinza para su manipulación.

- La muestra se colocó sobre un portaobjeto, y con la ayuda de un gotero, se añadió 1 gota de agua destilada; posteriormente, se coloca el cubreobjetos, ejerciendo una ligera presión.
- La observación microscópica se efectuó a 10x, 40x, evaluándose la coloración del hepatopáncreas, la calidad de los lípidos y presencia de anomalías estructurales, (Varela A. , 2022).

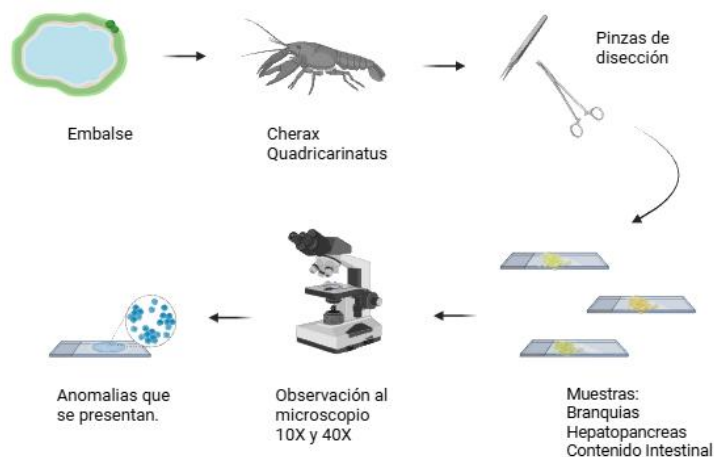
7.4.2.2. Branquias.

- Se realizó un corte para la extracción de la muestra de branquias, utilizando una pinza para su manipulación.
- La muestra se colocó sobre un portaobjeto y posteriormente, se agrega una gota de agua destilada.
- La observación microscópica se lleva a cabo a 10x, 40x, evaluándose la presencia de pequeños protozoarios, así como lesiones asociadas a epicomensales, (Varela, 2022).

7.4.2.3. Contenido intestinal.

- La muestra de heces fue extraída cuidadosamente mediante el uso de pinzas, observándose en algunos casos la presencia hilo fecal.
- La muestra se colocó en el portaobjeto y se añadió una gota de agua destilada y se cubre con un cubreobjetos.
- La observación microscópica se realizó a 10x, 40x, evaluándose si en el contenido se encontraba lleno o vacío, así como la presencia de detritus o algas, (Varela, 2022).

Figura 2: Análisis de montaje en fresco del *Cherax quadricarinatus*.



Nota: Diagrama para el procedimiento del análisis clínico patológico en *C. quadricarinatus* (Red Claw).

7.4.3. Observación.

Para asignar un valor característico del grado de severidad de las infecciones, infestaciones y síndromes, las observaciones que se puedan encontrar se indican de acuerdo con lo descrito por (Cuéllar-Anjel, 2014). Esta información fue inscrita en hojas de cálculo teniendo en cuenta:

- Para branquias: para la suciedad por efecto de detritus o materia orgánica, necrosis de lamelas, presencia de protozoarios, presencia de bacterias filamentosas y la presencia de hongos, (Duran, 2016).
- Para el hepatopáncreas: el porcentaje que tienen en lípidos y coloración, presencia de cuerpos de integración viral como el *Baculovirus penaei*, presencia del aumento de conductos necróticos o melanizados y la presencia de túbulos deformes o con descamación, (Duran, 2016).
- Intestino y contenido fecal: la presencia de nematodos y gregarinas, (Duran, 2016).

7.5. Análisis microbiológico.

7.5.1. Colecta de muestras.

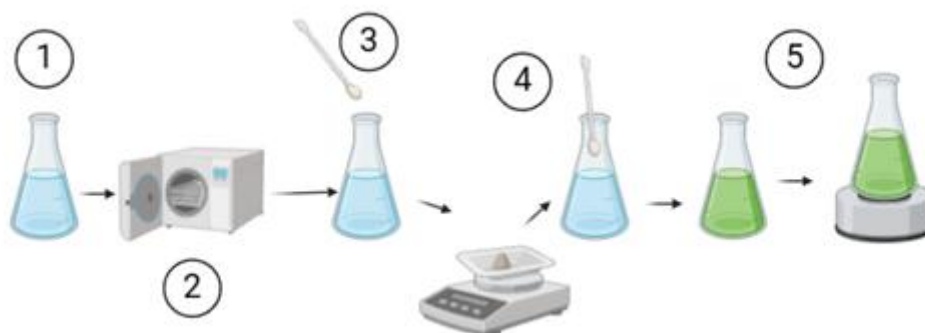
Para el análisis microbiológico, se utilizaron 1 gr de muestra de hepatopáncreas los cuales se homogenizaron con 9 ml de agua destilada mediante maceración. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas con el fin de obtener concentraciones menores que facilitarían el recuento microbiológico, empleándose la dilución final de 10^{-3} .

7.5.2. Preparación de medios de cultivo.

7.5.2.1. Preparación de TCBS.

Este medio por ser selectivo para el aislamiento de diferentes especies del género vibrio. Su preparación consiste en disolver 89 g del medio en polvo en 1 litro de agua destilada, calentando la mezcla con agitación frecuente hasta llevarla a ebullición. Finalmente, se deja enfriar y se distribuye en placas petri estériles, (Tomalá, 2025).

Figura 3: Preparación del Agar TCBS.



Nota: Procedimiento para la preparación del medio Agar TCBS, (Ortega G. , 2024).

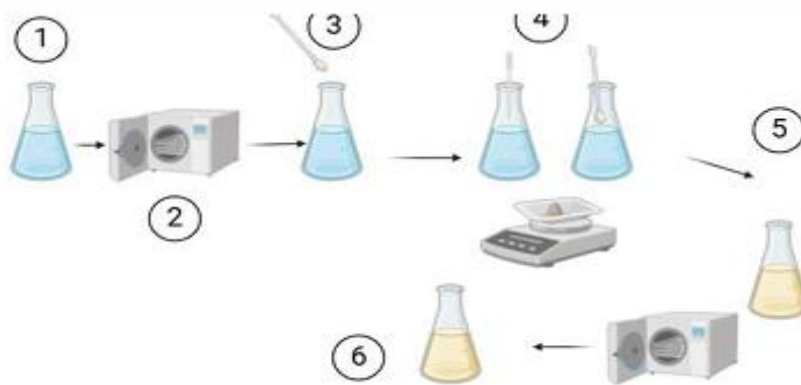
7.5.2.2. Preparación de Macconkey.

Es un medio selectivo que permite el crecimiento de bacterianas (*E. Coli*), es recomendado para el aislamiento y purificación de colonias bacterianas previa a su identificación. Su preparación consiste en disolver 40 gramos en un litro de agua destilada, elevando la concentración de NaCl y del agar al 2%, se esteriliza durante 15 minutos a 121°C y 15 libras de presión (figura 4), (Varela, 2021).

7.5.2.3. Preparación Agar Nutriente + Manitol.

Medio selectivo que permite el crecimiento de pseudomonas. Su preparación consiste en disolver 30 gramos de agar nutriente en un litro de agua destilada, luego agregar 20 gramos de manitol, homogenizar llevar a esterilizar durante 15 minutos a 120° C y 15 libras de presión (figura 4), (Varela, 2021).

Figura 4: Preparación del agar Macconkey y agar nutriente más manitol.

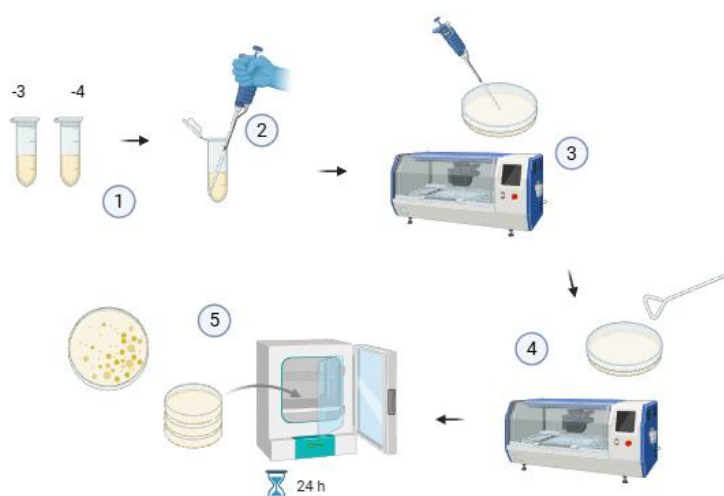


Nota: Procedimiento para la preparación de los dos medios de cultivo agar Macconkey y agar nutriente más manitol, (Ortega G. , 2024).

7.5.3. Técnica de siembra.

- Se empleó la dilución seriada 10^{-3} como muestra.
- Se extrajo 0,1ml de la dilución seriada 10^{-3} con una micropipeta y se depositaron sobre la superficie de los tres tipos de agar (TCBS, Macconkey, Agar nutriente + manitol) previamente separados.
- La muestra se distribuyó uniforme sobre la superficie de cada agar utilizando un asa de vidrio para siembra.
- Las placas se rotularon y se incubaron en una incubadora durante un periodo de 24 a 48 horas, (Vega et al., 2023).

Figura 5: Método de siembra en los medios de cultivo.



Nota: Técnica de siembra de la muestra en los diferentes medios de cultivo agar (TCBS, Macconkey y agar nutriente más manitol).

7.5.4. Conteo de colonias.

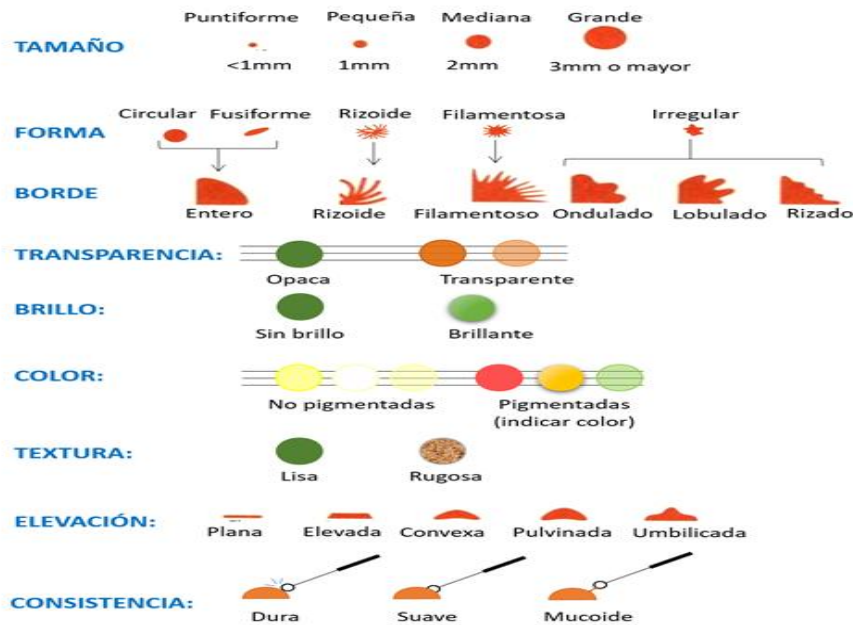
La cuantificación de las placas de los diferentes agares se cuantificó siguiendo el estándar de 30 a 300 colonias por placa. Se registraron todas las colonias presentes, después se dividieron los mililitros que se colocaron en la caja y se multiplicó por la dilución, lo que resultó en el número de unidades que forman colonias por mililitro (UFC). De esta manera, se determinó la cantidad de unidades que forman colonias por mililitro, (Jimenez, Alejandre, & Lagunas, 2025). El recuento final se calculó como UFC/mL usando la formula $UFC/mL = N/V(mL) \times \text{dilución}$, (Arana, Orruño, & Barcina, 2022).

7.6. Caracterización morfológica de las bacterias.

La caracterización de las bacterias se llevó a cabo mediante el análisis de varias características morfológicas de las colonias en el medio de cultivo. Al momento de analizar un cultivo bacteriano, es importante fijarse en cómo lucen las colonias que han crecido. Se toma en cuenta su color, tamaño, forma, la textura de su superficie, los bordes y la manera en que se elevan sobre el medio, (figura 6). Estos detalles, aunque parezcan simples, son clave para poder identificar con precisión qué tipo de bacterias están presentes. Observar

estas características nos dió información muy útil para describirlas, clasificarlas y entender mejor su comportamiento, (Pozo, 2022).

Figura 6: Caracterización morfológica de las bacterias.



Nota: Características que se reportar al momento de describir la morfología de una colonia bacteriana, (Gonzalez, 2025).

7.7. Identificación bioquímica de los microorganismos.

7.7.1. Prueba de ureasa.

El procedimiento se disuelve los ingredientes en 100 ml de agua destilada y esterilice por filtración (tamaño de poro de 0,45 mm). Suspender el agar en 900 ml de agua destilada, hervir hasta disolver completamente. Autoclave a 120 grados C y 15 psi durante 15 minutos. Enfriar el agar a 50 a 55 grados C. Agregue asépticamente 100 ml de base de urea esterilizada por filtración a la solución de agar enfriada y mezcle bien. Se debe repartir de cuatro a cinco mililitros por cada tubo estéril de (13 x 100 mm) e inclinar los tubos hasta el enfriamiento y se endurezcan. Raye la superficie de un sustrato inclinado de agar urea con una porción de una colonia bien aislada e incube el tubo a 35°-37°C durante 24 a 48 horas, (Aryal, 2022). Los microorganismos que llegan a hidrolizar la urea: este medio de cultivo se torna de color rosado-rojizo. Microorganismos que no llegan a hidrolizar la urea: el medio de cultivo no

cambia en absoluto, permanece de color amarillo, (Jimbo, 2018).

7.7.2. Prueba de catalasa.

El procedimiento se determinó en base a (Olmos & Garcia, 2017). se usa peróxido de hidrogeno al 3%, permitiendo que la enzima catalasa realice la descomposición del peróxido de hidrogeno en oxígeno y agua. Se tomó un poco de muestra de las bacterias de interés y se hizo un frotis en un portaobjetos previamente lavado y esterilizado con alcohol. Se añadió unas gotas del peróxido de hidrógeno encima del frotis y se esperó entre 15 y 20 segundos. Si en el frotis se observa presencia de burbujas, el resultado de prueba de catalasa es positivo.

7.7.3. Prueba de oxidasa.

Se tomó una colonia con el asa de inoculación y se deposita en una tira de oxidasa, aparece en 5 -10 segundos el cambio de blanco a morado es indicación de reacción positiva y la ausencia de coloración es una reacción negativa, (Anokhe & Vinay, 2022).

7.7.4. Prueba de amilasa.

Para el procedimiento se realiza en matraces de 250 mL de capacidad se cargaron 100 mL de caldo nutritivo con 1% almidón soluble y ajustado a un pH de 5.5, llevar a autoclave a 120°C y 15 psi. Distribuir en los tubos de 4 a 5 ml e inclinar los tubos estériles durante el enfriamiento hasta que se endurezca. Raye la superficie de un sustrato inclinado con una porción de una colonia bien aislada e incube el tubo a 35°-37°C durante 24 horas. Posteriormente con el fin de confirmar la capacidad de la bacteria para degradar almidón, (Silva, 2020).

7.7.5. Prueba de indol.

El procedimiento se determinó en base a (Kumar, 2025). Se Inocula las bacterias en caldo triptona e incubar a 37°C durante 24 horas. Agregar el reactivo de Kovacs (5 gotas) después de la incubación y observar si hay un color rojo en la capa superior. Positivo (anillo rojo en la parte superior) y negativo (sin cambio de color).

7.7.6. Prueba de Tinción Gram.

Se procedió a colocar una gota en el portaobjetos limpio, con la ayuda del asa de siembra previamente flameada en el mechero se procede a tomar una muestra de las colonias y se extiende por el portaobjetos, se procede a fijar la muestra con el fuego; procedemos a colocar 1 gota de cristal violeta por un minuto y se procede a lavar con agua destilada, luego colocamos 1 gota de lugol por un minuto y nuevamente se lava con agua destilada; colocamos alcohol cetona por 30 segundos y lavamos, finalmente se coloca una gota de safranina por un minuto y procedemos a lavar, dejamos reposar la muestra hasta que esté totalmente seca; colocamos una gota de aceite de inmersión y procedemos a tomar lectura en el microscopio, (Casasola, 2022).

7.8. Análisis histopatológico.

7.8.1. Diseño muestral.

Para llevar a cabo la prueba de histopatología se debió de utilizar únicamente animales vivos o que muestren signos de alguna infección (por ejemplo, letardía o altas tasas de mortalidad, etc.). Posteriormente deben ser colocados dentro de un recipiente con agua limpia y bien oxigenada y transportados al laboratorio o el lugar donde serán fijados, (Lightner & Pantoja).

7.8.2. Fijación y conservación del organismo.

Para su aplicación se recomendó inyectarlo en animales vivos, iniciando en hepatopáncreas, ya que, por su fragilidad y su contenido enzimático, es un órgano con gran velocidad de deterioro. Una vez realizado esto, se hacen cortes en la cutícula para facilitar el ingreso del fijador y se sumerge en Davidson, con una proporción de al menos 10:1 fijador: muestra. El tiempo de permanencia en esta solución es de 12 a 24 horas. Una vez pasado este tiempo, las muestras son transferidas a etanol al 70%, hasta su procesamiento, (Mejías, 2023).

7.8.3. Deshidratación, embebido y corte.

Las muestras deben estar libres de contenido de agua, por lo que se realizó la deshidratación progresiva de los tejidos, proceso que se realizó en forma gradual con el fin de no someter los tejidos a alteraciones por cambios osmóticos bruscos, (Bell & Lightner, 1988). En la etapa de embebido de las muestras, se reemplaza el etanol absoluto por un agente clarificante, por lo general xileno, y posteriormente se embebe en parafina fundida, con la finalidad de proveer soporte físico a los tejidos para la realización de los cortes en un micrótomo sin alterar su morfología, (Bell & Lightner, 1988) (Morales-Covarrubias & Gomez-Gil, 2014). Los tejidos embebidos son sumergidos en moldes con parafina fundida que, al enfriar con lentitud, solidifica en bloques que contienen los tejidos seleccionados en los que se realizarán los cortes en un micrótomo a un espesor de 4 o 5 μm , (Mejías, 2023).

7.8.4. Tinción con Hematoxilina-Eosina.

Las muestras se tiñeron con hematoxilina y eosina (E&H) y se observaron al microscopio (Nikon Eclipse E200) con lentes de 4, 10 y 40 x, (Pingni, Ma, & Shi, 2025).

7.9. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico se utilizaron los programas Past y Excel.

7.9.1. Past.

Se evaluó la distribución de los datos biológicos mediante el programa especializado PAST, para confirmar su normalidad y genuinamente obtener la correlación mediante una matriz de correlación.

7.9.2. Prueba de normalidad, Shapiro-Wilk.

La prueba estadística de Shapiro-Wilk comprueba que una distribución es normal mediante la formulación de hipótesis, la hipótesis nula (H_0) menciona que la muestra es de

distribución normal y la alternativa (H1) sostiene que la muestra es una distribución anormal, dados por un nivel de confianza del 95% ($p = 0,05$), si el valor de muestra es superior al coeficiente se acepta la hipótesis nula y se rechaza la alterna, sin embargo si el valor del coeficiente es menor se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la nula, (Barrios, Guerrero, & Ponce, 2022).

H₀: El valor de p es mayor o igual a 0,05 la distribución es normal.

H₁: El valor de p es menor que 0,05 la distribución es anormal.

7.9.3. Correlación de los datos, Spearman's.

Se aplicó la correlación de Spearman's para analizar a medidas que son en escala de grados o rangos. Al ser una prueba no paramétrica mide la relación de las variables manera monótona, identificando que si una variable aumenta o disminuyen dependiente de la otra. El coeficiente resultante esta entre +1 y -1, donde los valores cercanos a cada uno de los extremos indica la intensidad de la relación.

7.9.4. Excel – Sistematización de variables.

Se aplicó la plataforma de Microsoft Excel para la representación de una Matriz binaria destinada para la clasificación de los datos obtenidos de las pruebas bioquímicas. Se codificaron los resultados donde se asignó el valor "1" con la presencia positiva y el valor "0" como la ausencia negativa. Adicional se aplicó formato condicional de colores para mejor interpretación de los resultados.

8. RESULTADOS.

8.1. Análisis en fresco.

Durante el periodo experimental se realizó el examen en fresco de muestras del *Cherax quadricarinatus*. Se evaluaron de 10 animales por semana durante un periodo de 12 semanas, obteniéndose un total de 120 muestras analizadas.

8.1.1. Características externas.

Durante el análisis externo del *C. quadricarinatus* en fresco estos mostraron el mayor porcentaje de anomalías y lesiones en el abdomen y el cefalotórax, y un menor porcentaje en las quelas (32,5%), pleópodos (11,7%) y pereiópodos (29,2%), siendo la parte del rostro, antenas y telson las partes que no presentaron ninguna afección.

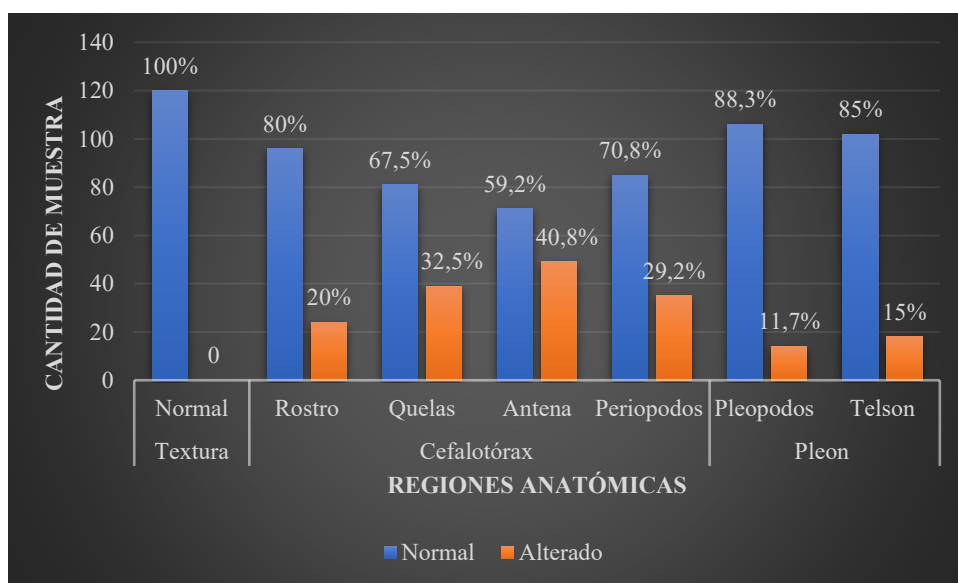


Gráfico 1. Características externas de las anomalías o lesiones presentes en *C. quadricarinatus*.

8.1.2. Características Internas.

Para el análisis interno del *C. quadricarinatus* se utilizó la calificación en escalas que oscilan entre grado (G0), en el caso de ausencia de lesiones o patógenos y grado 4, en el orden de baja a alta afección.

La distribución del grado de severidad de las principales alteraciones observadas en las branquias del *C. quadricarinatus* durante el análisis interno, considerando deformación, presencia de opacidad con detritus y epicomensales. La alteración se observó prevalentemente en los grados 1, 2 y 3, con una **mayor** frecuencia en el grado de severidad grado 2, lo que aproxima que la **mayoría** de las muestras o los organismos examinados presentaron deformaciones estructurales leves a estructuras moderadas. La baja relación de las muestras catalogadas como grado 0 sugiere que un número escaso de langostas conservó una morfología branquial normal. No se asentaron casos semejantes al grado 4, lo que demuestra la carencia de daños severos.

En cuanto a la presencia de opacidad y detritus, se observó una mayor concentración de muestras en los grados 2 y 3, siendo este último el de **mayor** frecuencia. Respecto a la presencia de epicomensales, la mayoría de las muestras se concentró en el grado 0, indicando una ausencia o presencia mínima de estos organismos en las branquias.

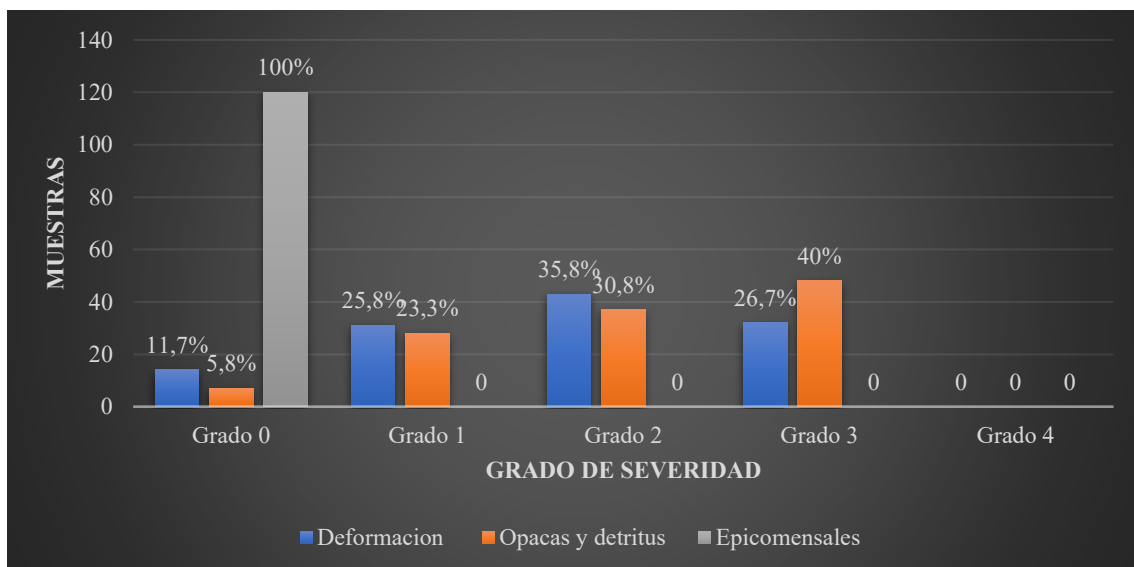


Gráfico 2. Anomalías y lesiones en branquias del *C. quadricarinatus* expresados como grados de severidad de las lesiones o anomalías en branquias, con presencia de deformación, epicomensales, opacidad y detritus.

La distribución del grado de severidad de las alteraciones observadas en el hepatopáncreas del *C. quadricarinatus* durante el análisis interno, presento de grado 0 a 1 alteraciones leves, el grado uno se caracterizó por una alta presencia de túbulos vacíos. En el grado 2, se observó un incremento simultáneo de la deformación tubular, melanización y estrangulamiento de túbulos, indicando un daño moderado del hepatopáncreas.

Se evidenciaron un deterioro en el hepatopáncreas, destacando que en el grado 3 la melanización intensa, en lo cual se considerada un indicador de respuesta inmunitaria activa frente a procesos infecciosos o estrés crónico. En el grado 4, la melanización disminuyó, se mantuvieron valores elevados de deformación tubular y túbulos estrangulados, lo que refleja un daño estructural severo y persistente en el hepatopáncreas.

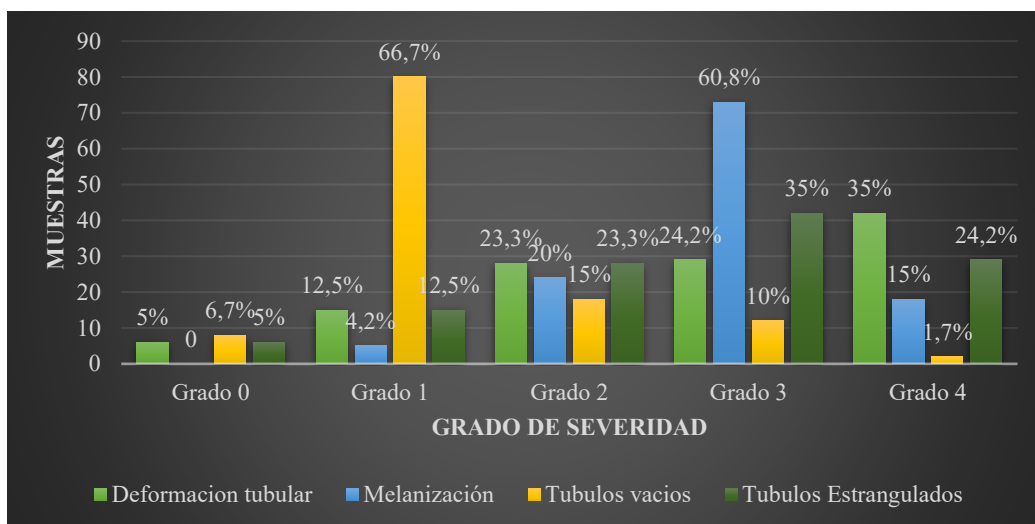


Gráfico 3. Anomalías y lesiones en el hepatopáncreas del *C. quadricarinatus* expresados como grados de severidad en hepatopáncreas, con presencia de deformación tubular, melanización, túbulos vacíos y túbulos estrangulados.

En el examen en fresco del contenido intestinal del *C. quadricarinatus* existió una diferencia en el tipo y cantidad del contenido, lo que manifiesta diferencias en la fase de la alimentación y en el procedimiento digestivo de los especímenes muestreados. La mayor aglomeración correspondió a los intestinos con existencia de algas (54 muestras), lo que indica que la mayor parte de las muestras del *C. quadricarinatus* estuvo alimentándose activamente del material vegetal y microalgas presentes en el embalse.

En menor proporción, se observaron intestinos con contenido de detritus (21 muestras), lo cual evidencia el consumo de materia orgánica, puede estar asociado a la resuspensión de sedimentos o acumulación de residuos orgánicos. Intestinos llenos (19 muestras) y semillenos (15 muestras) indican que una parte de la población presentó un estado digestivo activo, mientras que intestinos vacíos (11 muestras), se sugiere que solo una fracción

reducida de la población muestreada no había ingerido alimento al momento del muestreo.

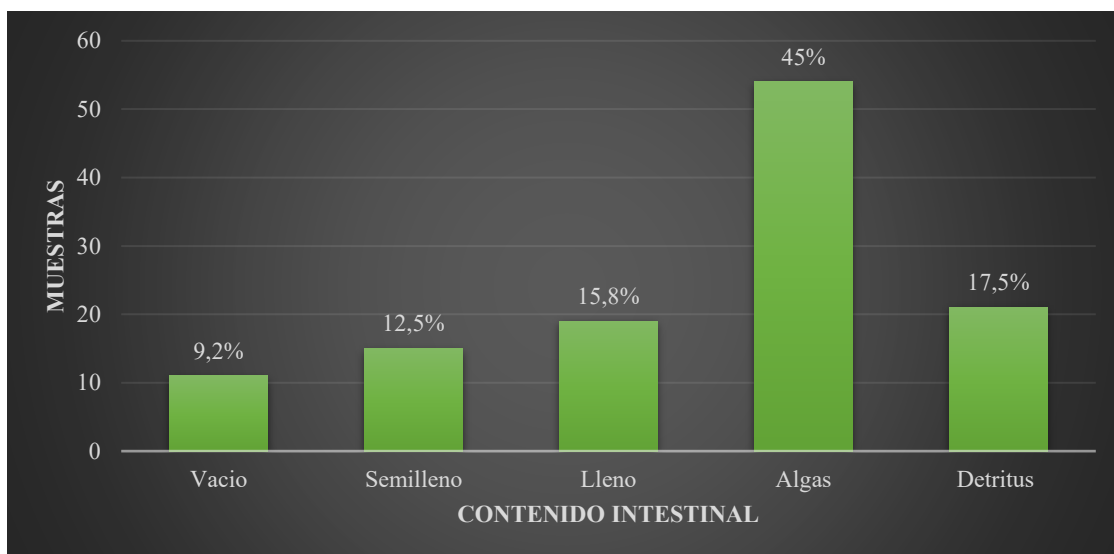


Gráfico 4. Estado de alimentación y dinámica digestiva del contenido intestinal en *C. quadricarinatus*, presencia de algas y detritus.

8.2. Cuantificación de unidades formadoras de colonias.

Se observa el crecimiento bacteriano promedio por semana en la ilustración 5, registrando un menor crecimiento de vibrios de 1.1×10^4 UFC/ml, mientras que en todas las semanas hubo presencia de *E. Coli* y pseudomonas con una mayor carga bacteriana de 6.1×10^5 UFC/ml en *E. Coli* y 6×10^6 UFC/ml para Pseudomonas.

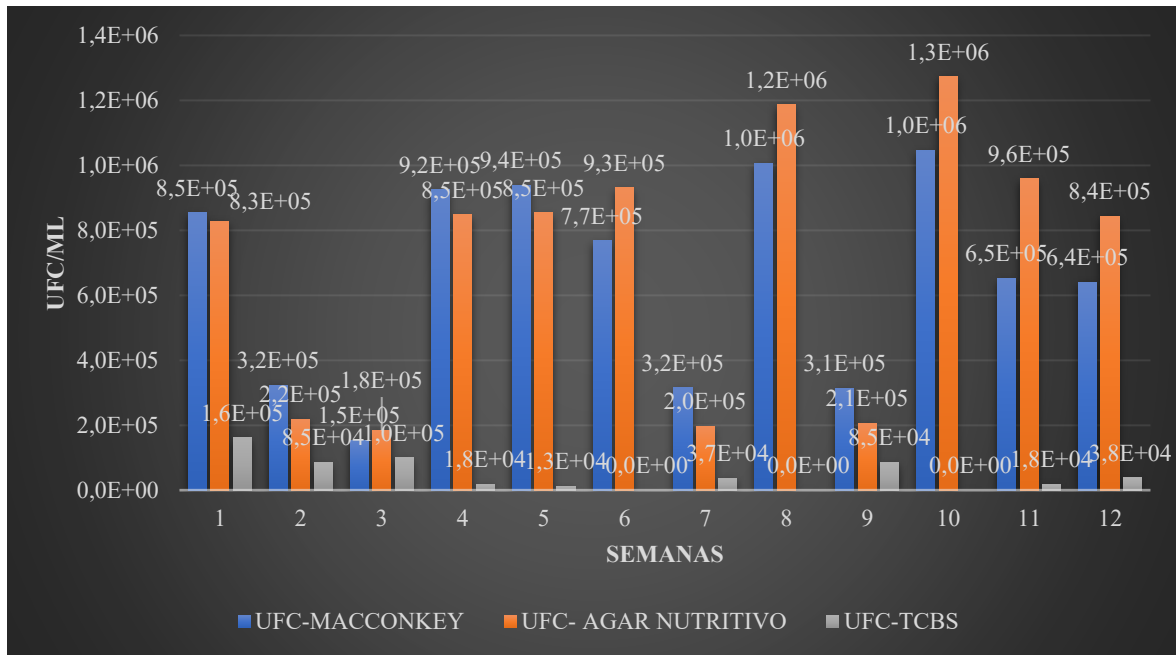


Gráfico 5. Crecimiento de unidades formadoras de colonias UFC/ml de manera semanal clasificadas por el tipo de agar.

8.2.1. Correlación de la salud a nivel de hepatopáncreas de *Cherax quadricarinatus* con patógenos.

Se realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk de las variables de unidades formadoras de colonia (UFC) y grados de afectación al nivel de hepatopáncreas. El análisis de los valores p reveló que, de las 5 variables evaluadas solo una es de distribución normal donde el valor de p es mayor que 0,05. Al ser que gran parte de las variables son de distribución anormal que el valor de p es menor a 0,05 se determina el uso de una correlación estadística para datos no paramétricos.

Tabla 1: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

	A. Macconkey	A. Nutriente + M	A. TCBS	D. Tub	Melanización
Shapiro-Wilk W	0.9022	0.841	0.8473	0.8183	0.3269
p(normal)	0.1693	0.02845	0.03403	0.01526	1,21E-03

Debido que las variables son de datos no paramétricos se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman's determinando la relación de carga bacteriana (UFC) y la alteración patológica a nivel de la hepatopáncreas.

Se determina una correlación positiva muy fuerte entre el crecimiento bacteriano del Agar Macconkey y Agar nutriente + Manitol en respecto al daño tubular, con un coeficiente de $p= 0,92$ en los ambos casos, demostrando que el incremento de bacterias Gramnegativas y fermentadoras de manitol están asociadas directamente al grado de severidad de daño a la hepatopáncreas. Por lo contrario, a nivel de melanización existe una correlación positiva débil de $p= 0,22$.

Por lo contrario, en el Agar TCBS la correlación es negativa en ambas variables daño tubular con valor de $p= -0,70$ y melanización valor de $p= -0,40$, sugiriendo que el género vibrio no es parte principal como agente patógeno, considerando de tal manera que los patógenos responsables directos son las bacterias gramnegativas no halófilas adaptadas a ambientes dulceacuícolas, figura 7.

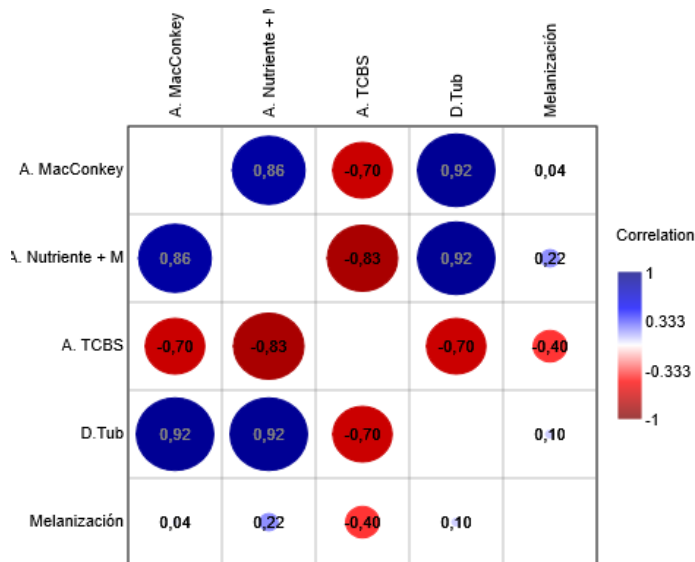


Figura 7. Matriz de correlación entre unidades formadoras de colonias de 3 tipos de agar y patología a nivel de la hepatopáncreas.

8.2.2. Correlación de la salud a nivel de branquias de *Cherax quadricarinatus* con patógenos.

Se aplicó el coeficiente de Spearman debido a que las variables son no paramétricas, Se evaluó la carga bacteriana con las patologías branquiales como es deformación, opacidad y detritos.

La variable de branquias opacas presenta una correlación positiva moderada $p=0,50$ específicamente con el Agar TCBS, asociando que las branquias están en contacto directo con el agua, el género vibrios coloniza superficies ricas en quitina y tejidos expuesto de tal manera que se asocia con la opacidad de las branquias presentes del organismo, figura 8.

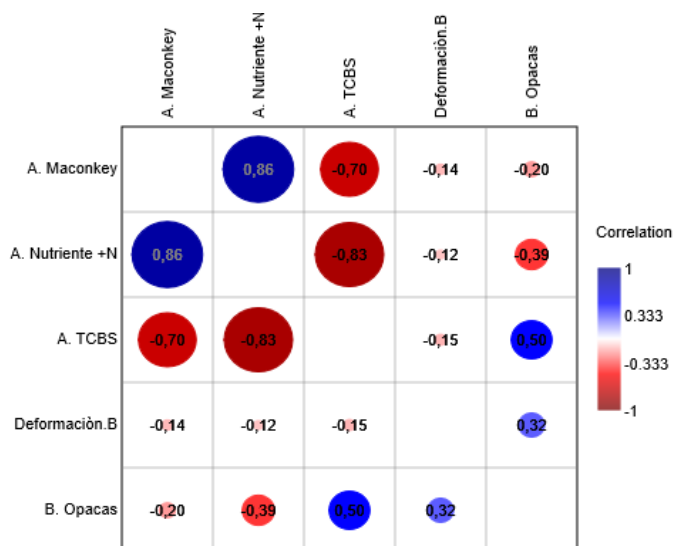


Figura 8. Matriz de correlación de patología a nivel branquial con el crecimiento bacteriano en varios tipos de agar.

8.3. Caracterización de las bacterias.

Se realizó una caracterización de un total de 150 cepas bacterianas, las cuales se seleccionaron en función del medio de cultivo empleado. Del agar TCBS 30 colonias, en el agar Macconkey se obtuvieron 60 y en el medio Agar nutriente + Manitol se seleccionaron 60 colonias bacterianas.

En la caracterización bacteriana realizada en el agar TCBS predominó el crecimiento de bacterias amarillas con un total de 18 colonias, en el Macconkey se encontró un total de 43 colonias rosadas y en el medio de cultivo Agar nutriente + manitol predominó el crecimiento de bacterias crema, gráfico 6.

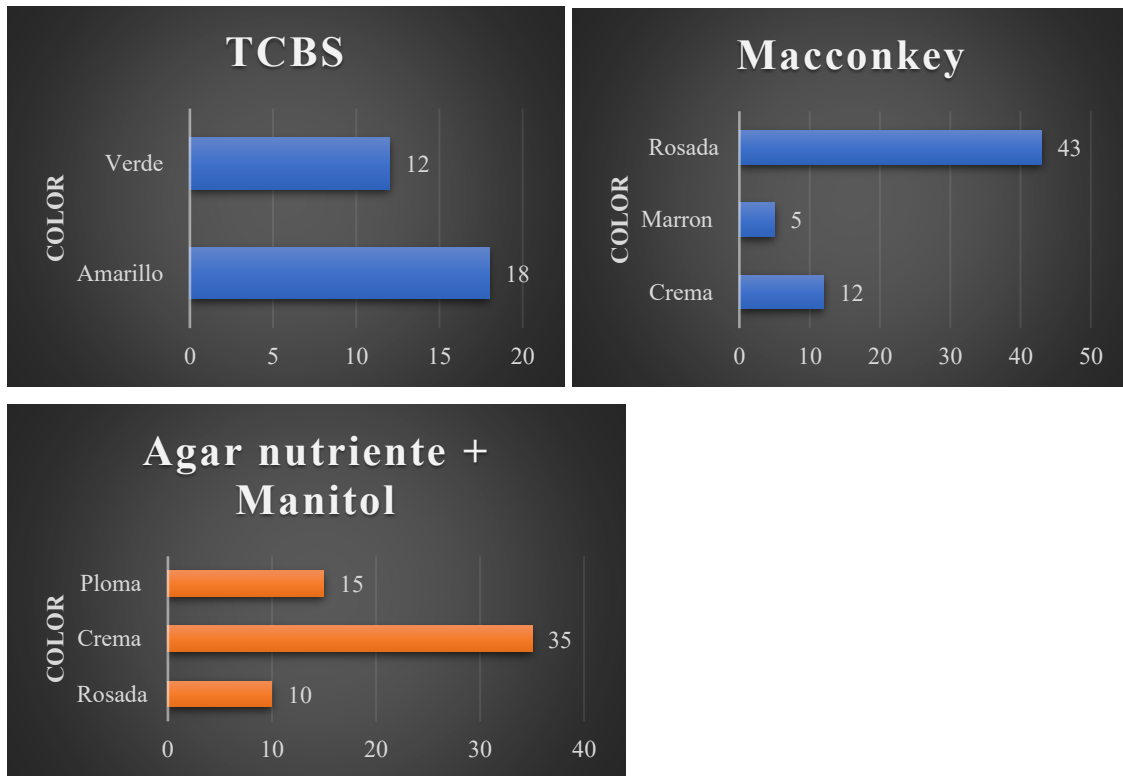


Gráfico 6. Características fenotípicas del color de las bacterias en los 3 medios de cultivo, TCBS, Macconkey y Agar nutriente + Manitol.

Durante la caracterización de bacterias, se identificaron 3 tipos principales de formas coloniales: circular, irregular y fusiforme. En el agar TCBS predominó la forma circular, con un total de 27 colonias; en el agar Macconkey predominó la forma circular; finalmente en el medio Agar nutriente + manitol, la forma circular fue la más frecuente con un total de 47 colonias, gráfico 7.

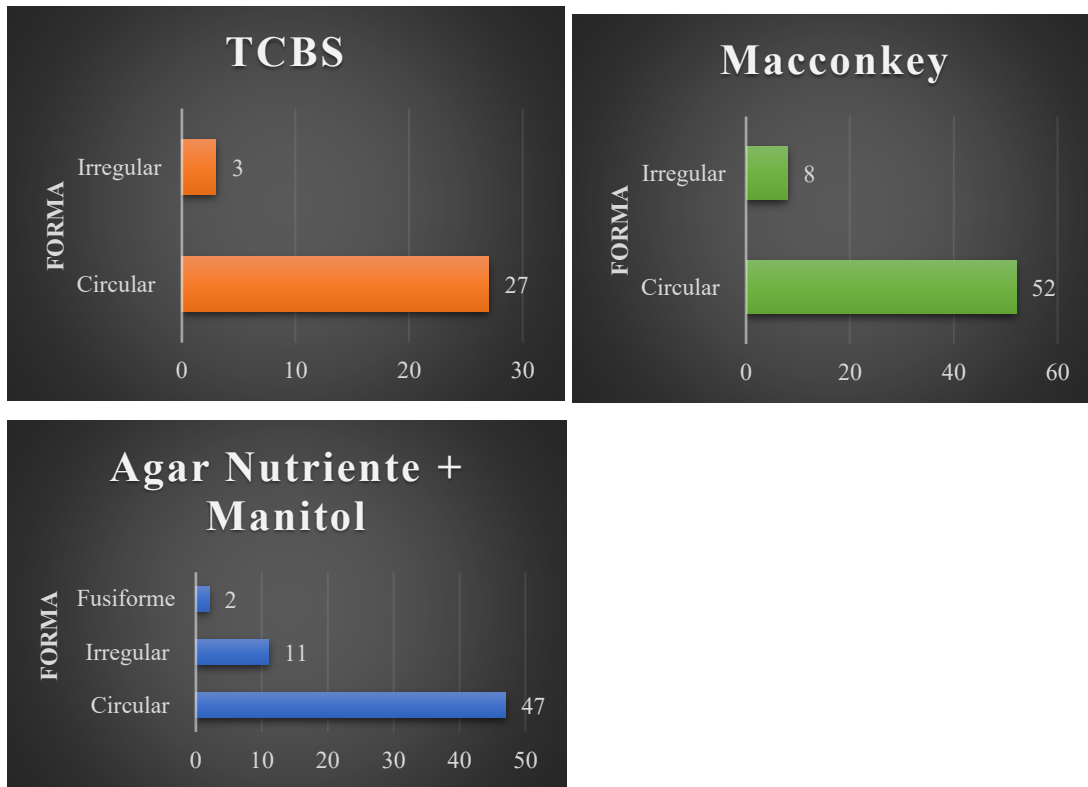


Gráfico 7. Caracterización morfológica de colonias bacterianas cultivadas en medios selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.

Se identificaron predominante en el medio de cultivo dos tipos principales de borde: entero y ondulado. La caracterización del borde TCBS fue entero, con un total de 26 colonias. En el agar Macconkey se identificaron 54 colonias con un borde entero, mientras que el medio Agar nutriente+ manitol se encontraron 47 colonias con las mismas características de borde entero, gráfico 8.

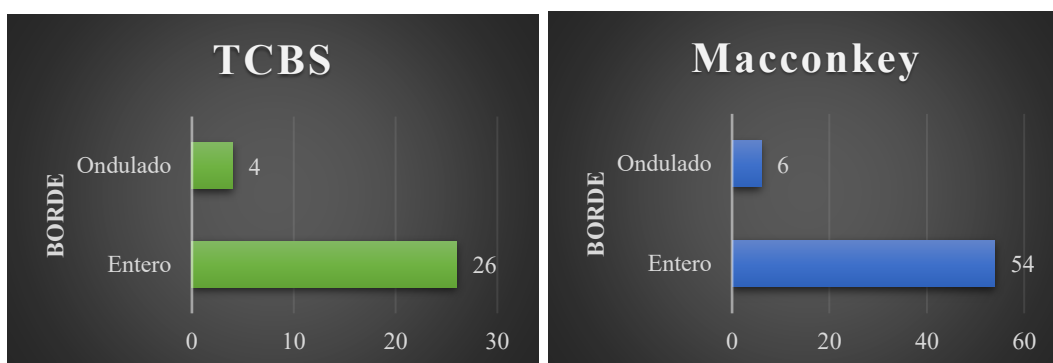




Gráfico 8. Caracterización de colonias bacterianas según la morfología de sus bordes, cultivada en medios selectivos: TCBS, Macconkey, Agar nutriente + manitol.

Se encontraron 2 tipos de elevación: convexa y elevada. En cuanto a la característica de elevación, en el medio TCBS predominó la forma convexa, con un total de 13 colonias. En el agar Macconkey se registraron 22 colonias con elevación convexa, mientras que en el medio Agar nutriente + manitol la forma convexa fue la más frecuente con un total de 27, gráfico 9.

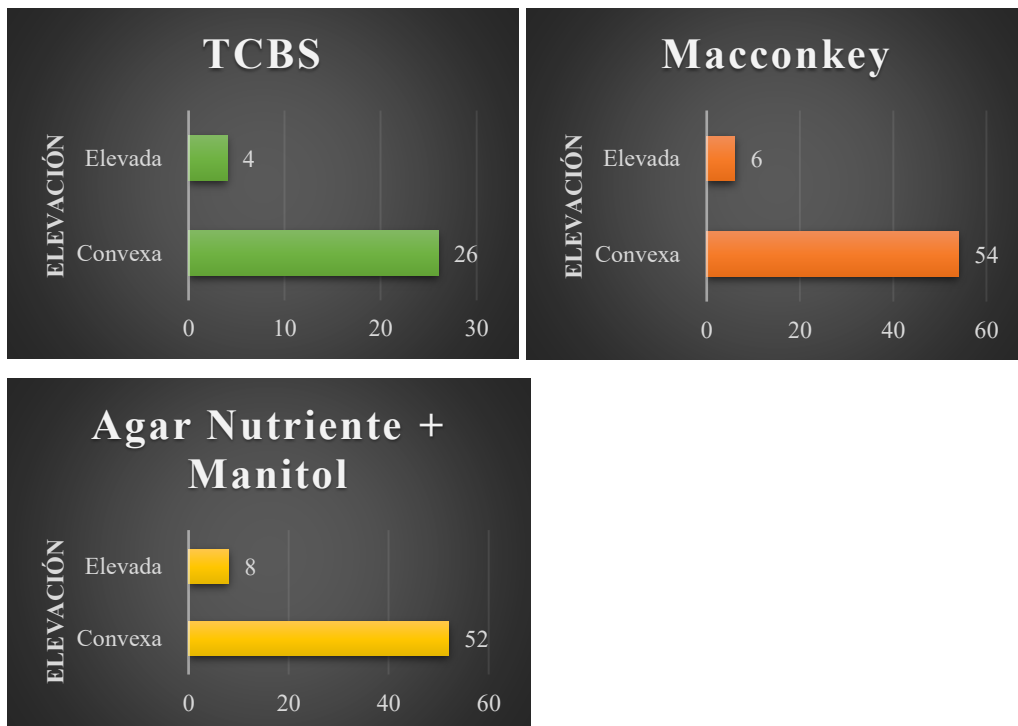


Gráfico 9. Caracterización de la elevación de las colonias bacterianas cultivadas en medio selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.

Se observaron diámetros que oscilaron entre aproximadamente 2mm y 7mm. En el agar TCBS, el tamaño predominante de las colonias fue de 2mm, con un total de 17 colonias. Por otro lado, en el agar Macconkey se identificaron 35 colonias con un tamaño de 2 mm, mientras que en medio Agar nutriente + manitol el tamaño más frecuente fue de 2 mm en total de 26 colonias, gráfico 10.

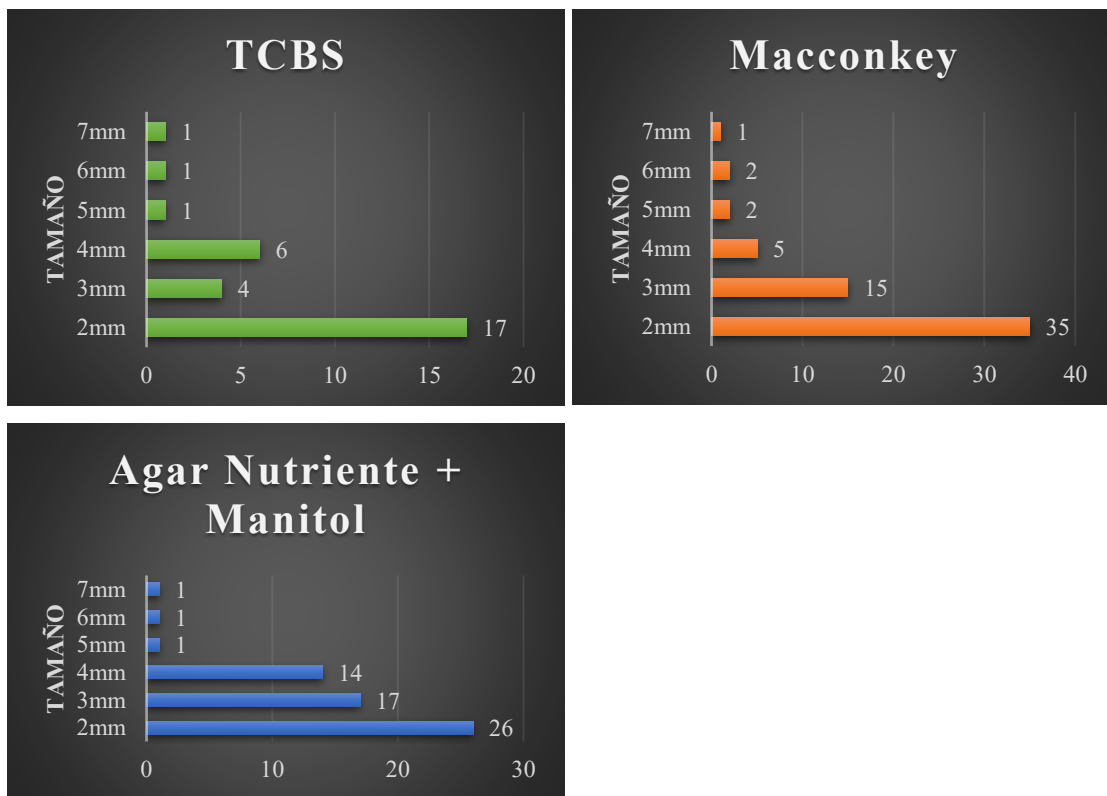


Gráfico 10. Caracterización del tamaño de las colonias bacterianas cultivadas en medios selectivos: TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol.

8.3.1. Pruebas Bioquímicas - Sistematización de variables.

El resultante de las pruebas bioquímicas, son sintetizados en la Tabla 2, revelando la presencia o ausencia de enzimas identificadas en los medios de cultivo como amilasa, ureasa, catalasa, tinción de gran, oxidasa e indol.

Se observa que la enzima amilasa estuvo ausente (0) en todos los géneros, indicando que estos géneros no utilizan la hidrólisis de almidón como vía energética, en comparación con

la ureasa con presencia positiva (1) que se adapta a ambientes con carga orgánica alta su entorno mediante la degradación de urea.

La enzima catalasa estuvo ausente (0) en *V. parahaemolyticus* a la carencia de esta enzima se logra comprender de la limitación de invasión bacteriana con alta actividad metabólica como la hepatopáncreas. La presencia de oxidasa separa los géneros aeróbicos como los son las pseudomonas y *V. parahaemolyticus* (1) con los no aeróbicos como son *E. Coli* y *V. Cholerae* (0).

La aplicación de una tabla de formato condicional por colores nos permite identificar por colores como rojo de presencia (1) y verde de ausencia (0), en donde se compare que *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* comparten el mismo medio de cultivo poseen perfiles enzimáticos completamente diferentes.

Tabla 2: Pruebas bioquímicas sistematizadas mediante una tabla con formato condicional donde (0) ausencia y (1) presencia de dicha enzima.

	<i>E. Coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrios.</i> <i>cholerae</i>	<i>Vibrios.</i> <i>parahaemolyticus</i>
Amilasa	0	0	0	0
Ureasa	1	1	1	1
Catalasa	1	1	1	0
T. Gram	0	0	1	0
Oxidasa	0	1	0	1
Indol	1	0	1	1

8.4. Histopatología.

En el periodo que se tomó la fase experimental se llevó a cabo un muestreo periódico de los tejidos (branquias, hepatopáncreas), con el fin de estimar la evolución de las alteraciones histopatológicas. Se tomaron muestras de branquias y hepatopáncreas cada dos semanas, con un periodo total de 12 semanas, obteniendo un total de resultados 6 muestreos.

La evaluación de los daños se llevó a cabo de forma similar entre las diferentes semanas de muestreos, facilitando analizar el progreso temporal de los cambios en la histopatológica y su conexión con la situación sanitaria de los organismos. Presencia de protozoarios unidos a la cutícula del epitelio branquial, identificables por su morfología esférica u ovalada, con sus sistemas internos basófilos notoriamente diferenciados (Fig. 9). Estos organismos se observaron de manera focal, sin división homogénea en todo el tejido analizado. De acuerdo con variaciones presentes, es clasificado con un grado de severidad leve, lo cual indica una infestación protozoaria incipiente, Tinción de Hematoxilina – Eosina.

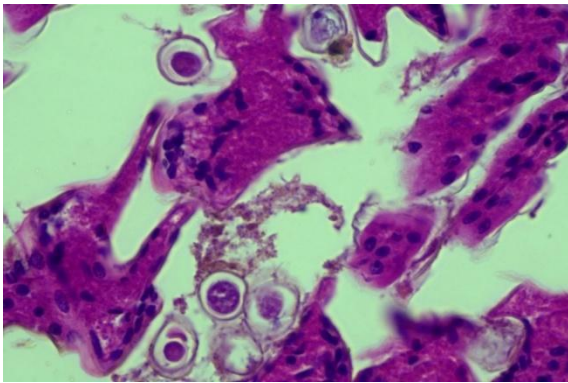


Figura 9. Corte histopatológico de branquias del *C. quadricarinatus*, con 50x.

La figura 10 muestra presencia de necrosis leve, caracterizada por pérdida parcial de la integridad celular, estas lesiones se presentaron de manera localizada, sin afectar de forma generalizada los filamentos branquiales. Se observaron protozoarios adheridos al epitelio branquial, este tipo de infestación suele relacionarse con condiciones ambientales subóptimas, tales como elevadas cargas orgánicas, deficiencia en la calidad de agua o estrés fisiológico del organismo.



Figura 10. Corte histopatológico de branquias del *C. quadricarinatus*, con 50X.

El corte histológico de la muestra hepatopáncreas en el *C. quadricarinatus*, túbulos digestivos desorganizado, con pérdida parcial de la delimitación normal del epitelio (Fig. 11). En varias áreas se identificó descamación del epitelio tubular, se evidenció una respuesta hemocítica moderada alrededor de los túbulos afectados, lo cual es compatible con el proceso infeccioso o inflamatorio activo. Este tipo de alteraciones son compatibles con un proceso infeccioso bacteriano, lo cual se asemeja a vibrios.

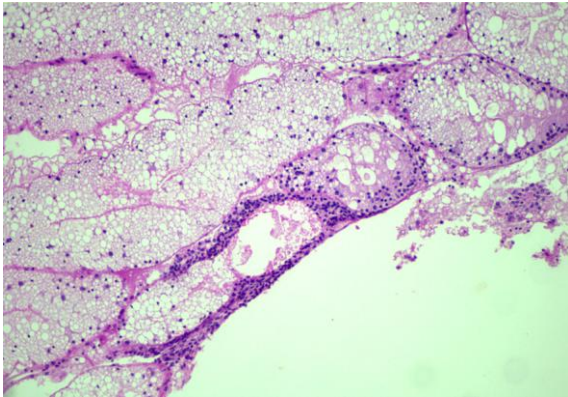


Figura 11. Corte histopatológico de hepatopáncreas, vibriosis suave, con 50X

El corte histológico por medio de la muestra del hepatopáncreas del *C. quadricarinatus*, con cambios en los tubulares leve (Fig. 12), identificada por los bordes irregulares y prudente disminución morfológica tubular normal, se distingue desorden celular focal.

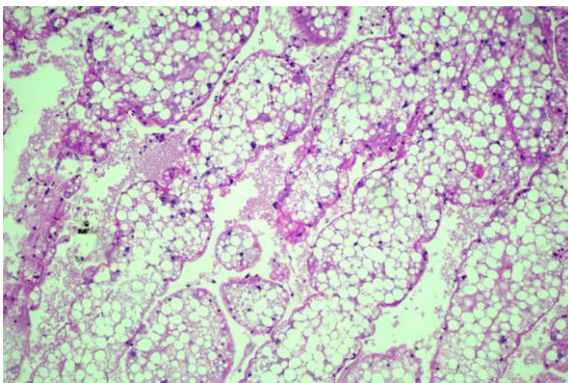


Figura 12. Corte histopatológico del hepatopáncreas, deformación de túbulos, con 50X.

Corte histológico a través de la muestra del órgano hepatopáncreas del *C. quadricarinatus*, ensanchamiento del lumen tubular y acumulación celular y detritos en su interior, lo que sugiere procesos de degeneración y descamación epitelial (Fig. 13). No se aprecia melanización extensas ni colapso de los túbulos. Es evidente también la presencia de

infección bacteriana suave, probablemente por especies oportunistas de vibrios.

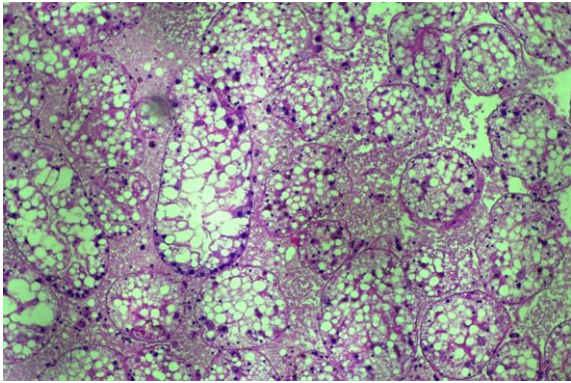


Figura 13. Corte histopatológico del hepatopáncreas, con 50X.

Corte histológico a través de las branquias del *C. quadricarinatus*, se observa la presencia de núcleos hipertrofiados, de forma redondeada a oval, con marginalización de la cromatina y cuerpos de inclusión intranucleares basofílicos, considerados lesiones de la infección por WSSV (Fig. 14). Se puede observar una abundancia (grado G3) de células afectadas, se distribuyen de manera focal a multifocal a lo largo de los filamentos branquiales, desorganización del epitelio y pérdida parcial de la disposición normal de los filamentos.

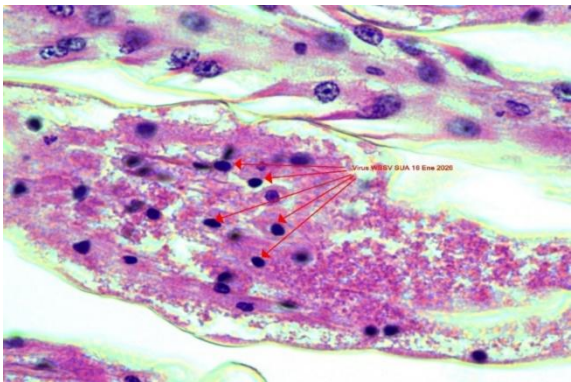


Figura 14. Corte histopatológico de branquias, presencia de virus WSSV, con 50X.

9. DISCUSIÓN.

Las manifestaciones clínicas de enfermedad en *C. quadricarinatus* varían según el agente etiológico, pero generalmente incluyen letargo, pérdida de equilibrio, anorexia, cambios en la coloración del exoesqueleto y lesiones visibles en las branquias o hepatopáncreas, (Gong, Pan, Zhou, & Zhu, 2023). La calificación de los resultados se realizó bajo metodologías estándares, en escalas que oscilan entre grado 0 (G0), en el caso de ausencia de lesiones o patógenos y grado 4 (G4) en orden de baja a alta afección, siguiendo la metodología de según (Lightner D. , 1996). Si embargo, en el presente estudio solo se encontró presencia de melanización y deformación tubular en hepatopáncreas con grado (G3) y deformación, lo cual indica (Varela A. , 2022) que el grado de hepatopáncreas del *C. quadricarinatus* presentó un valor máximo de (G2), sin valores elevados de afección, a pesar de que este órgano es frecuentemente afectado por múltiples patógenos y parásitos. Opacidad y detritus en branquias con un grado (G3). Según (kautsky & Ronnbacka, 2000) los brotes patológicos o su carencia, son el resultado de relaciones complejas entre el hospedador, el agente y el entorno.

En los crustáceos; en organismos aparentemente sanos, es común encontrar bacterias en órganos internos e incluso en la hemolinfa, si bien es cierto el tiempo de permanencia de las bacterias en el sistema circulatorio es de pocas horas e incluso minutos, es frecuente encontrar organismos sanos con cargas bacterianas variables, pero generalmente inferiores a 1×10^3 UFC/ml, (Ortega & Chong, 2026). Según (Anwar, 2020), en un monitoreo realizado cada 5 días, desde el día 5 hasta el día 60. La población de vibrios alcanzó niveles hasta $10^3 - 10^4$ UFC/ml, considerado como un umbral máximo permisible para bacterias del género vibrio en sistemas acuícolas. Sin tener mortalidad estos resultados son bajos con los del presente estudio teniendo en cuenta que se analizaron muestras de hepatopáncreas donde se presentó en las muestras con una carga de vibrios del 3.6×10^5 UFC/ml.

La existencia de *E. Coli* en crustáceos puede señalar la viabilidad de exposición de los consumidores a esta bacteria o a otros microorganismos patógenos que las presenten. Según (Custode, 2024) el promedio de *E. Coli* fue de 3×10^4 UFC/ml donde apuntaron a una dispersión considerable en los niveles de contaminación entre las muestras analizadas. Sin embargo; en este presente estudio hubo presencia de *E. Coli* con un promedio de 6.1×10^5

UFC/ml con una elevada carga bacteriana. Esta infección en explotaciones camaroneras puede proceder de diversos orígenes tales como, la contaminación antropogénica, los desechos de animales, los piensos para camarones y fuentes de agua, (Changkaew, Utrarachkij, & Siripanichgon, 2014). Si embargo, en el presente estudio se detectó presencia de pseudomonas con una carga bacteriana de 6×10^6 UFC/ml. Según (Villon & Duque, 2025) la patología de Pseudomonas evidenció una ligera coloración rosácea, junto con una musculatura opaca donde se registró con la dosis $1,5 \times 10^7$, y $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Las pruebas de histopatología se basan, como se mencionó, en la observación de los tejidos y en la detección de las lesiones o anomalías como diagnósticos de rutina; para ello es crucial que el procesamiento de la muestra sea idóneo, (Varela A. , 2022). Mediante los cortes histológicos realizados a los crustáceos se observaron diversos grados de daño cuticular, infiltración hemocítica y cambios degenerativos en los túbulos del hepatopáncreas a las 72 h, (Villon & Duque, 2025). El hepatopáncreas (HP) presentó festoneo tubular poco pronunciado en grados 1 y 2, baja a moderada presencia de bacterias, edemas, nódulos hemocíticos, algunos de ellos melanizados, se evidenció infiltración hemocítica y exfoliación de células epiteliales necróticas, (Peña & Varela, 2015). Se observó con frecuencia moderada, melanosis apical en las lámelas branquiales. La severidad de las lesiones observadas para estas estructuras fue moderada pero consistente, calificándose como G2, en algunos casos puntuales causan mionecrosis focal con bacterias detectables en los focos necróticos y también es posible observarlas dentro de las células afectadas, en el caso de agentes bacteriales intracelulares, (Morales-Covarruvias & Gomez-Gil, 2014).

10.CONCLUSIONES.

En el análisis en fresco se observó en la parte externa, anomalías y lesiones con un mayor porcentaje en el abdomen y el cefalotórax, siendo la parte del rostro, antenas y telson que no presentaron ninguna afección. En la parte interna de las branquias hubo deformación con un grado G2, opacas y detritus con un grado de severidad G3, mientras que el hepatopáncreas hubo presencia con mayor de melanización en grado G3 y un menor en los túbulos vacíos, mientras que en el contenido intestinal hubo mayor presencia de algas.

Los resultados conseguidos del análisis microbiológicos evidenciaron una alta carga bacteriana de *E. Coli*, con un valor promedio 6.1×10^5 UFC/ml, *Pseudomonas* con 6×10^6 UFC/ml, lo que indica una importante contaminación bacteriana en las muestras del hepatopáncreas. En contraste, los vibrios presentaron un menor recuento con un valor de 1.1×10^4 UFC/ml, estos resultados manifiestan una carga microbiológica significativa relacionada a los microorganismos patógenos.

En esta investigación se logró caracterizar un total de 150 aislamientos bacterianos, mediante la evaluación de características fenotípicas, basados en rangos morfológicos observables de las colonias tales como borde, forma, color, elevación y tamaño. Se realizaron pruebas bioquímicas como amilasa, catalasa, ureasa, oxidasa, prueba de indol y tinción gram, este esquema de identificación permitió una clasificación preliminar de los microorganismos aislados.

Los resultados de histopatología evidenciaron presencia de alteraciones tisulares relevantes en los organismos evaluados. En las branquias se observó la presencia de protozoarios, acompañada de lesiones compatibles por el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV), en el hepatopáncreas se identificó necrosis leve, deformación suave de los túbulos y vibriosis de baja severidad, indicando coexistencia de infecciones de origen bacteriano y viral, que aunque no presentaron un grado severo podrían afectar el estado del animal.

11.RECOMENDACIONES.

Se recomienda un control y monitoreo de los parámetros fisicoquímicos del agua del embalse Daule peripa, tales como temperatura, pH, nitritos, oxígeno disuelto, amonio, salinidad y alcalinidad, debido a que los cambios puedan producir estrés al *C. quadricarinatus* y provocar la aparición de signos clínicos y lesiones patológicas.

Se sugiere complementar los cultivos microbiológicos del hepatopáncreas del *C. quadricarinatus* con la ejecución de pruebas de sensibilidad antimicrobiana (antibiograma), con el fin de precisar el perfil de resistencia o vulnerabilidad de las bacterias aisladas.

Se recomienda que la caracterización morfológica se complemente con la aplicación de criterios estandarizados y bases de referencia, con el fin de perfeccionar la comparabilidad de los resultados entre distintos muestreos, la relación con las condiciones ambientales y colaborando a una mejor comprensión del papel de estas bacterias en la sanidad del *C. quadricarinatus*.

Se propone que los análisis histopatológico se los lleve a cabo en las diferentes etapas del ciclo de cultivo, se sugiere complementar con técnicas moleculares como PCR para lograr una validación más precisa y específica de los géneros bacterianos, lo que permitirá incrementar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

12. BIBLIOGRAFÍA.

- Andrade, J. (2021). Un estudio sobre la amilasa: Revision. *JBPAS*, 10(4), 333-334.
doi:<https://doi.org/10.31032/IJPAS/2021/10.4.1037>
- Anokhe, A., & Vinay, K. (2022). Prueba de oxidasa: un metodo bioquimico en identificacion bacteriana. *Agricos*, 03(01). Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/357604270_Oxidase_test_A_biochemical_method_in_bacterial_identification
- Anwar, H. (2020). Revisitando la vibriosis en la acuicultura del camarón. *Aqua Culture Asia Pacific*. Obtenido de <https://aquaasiapac.com/2020/09/29/revisiting-vibriosis-in>
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2022). Como abordar y resolver aspectos practicos de microbiologia. *Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología*. Obtenido de https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/51753/mod_resource/content/1/Bibliografia.pdf
- Arias, M., Soto, R., & Garcia, L. (2020). Identificación bioquímica de patógenos bacterianos acuáticos en sistemas de acuicultura. *Journal of Microbiological Methods*.
- Aryal, S. (2022). Prueba de ureasa: principio, medio, procedimiento y resultado. *Microbiology*. Obtenido de <https://microbiologyinfo.com/urease-test-principle-media-procedure-and-result/>
- Bala, R., Das, S., & Saha, D. (2020). Estudio comparativo sobre técnicas de aislamiento y cultivo bacteriano en organismos acuáticos. *Informes de Microbiología*, 12(6), 765–774.
- Barrios, Y., Guerrero, Z., & Ponce, H. (2022). Análisis estadístico cuando no se cumplen los supuestos de las pruebas paramétricas. *Universidad y sociedad*, 14(S1), 591-600. Obtenido de <https://n9.cl/d9git>
- Bass, D., Wang, H.-C., & Kostella, B. (2019). El patobioma en enfermedades animales y vegetales. *Tendencias ecologicas y evolucion*, 19, 996-1008.
- Bell, T., & Lightner, D. (1988). Manual de Histologia de Camarones Peneidos normales. *Sociedad mundial de Acuicultura. Baton Rouge*.
- Betancourt, I., Angeles, M., & Bajaña, L. (2017). Caracterización molecular de bacterias patógenas asociadas a enfermedades emergentes en camarones *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. *Espol.edu.ec*. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/56047/3/112435.pdf>
- Casasola, M. (2022). La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana. *Colegio de microbiologos y quimicos clinicos*, 27(2).
- Changkaew, K., Utrarachkij, F., & Siripanichgon, K. (2014). Caracterización de la resistencia a los antibióticos en *Escherichia coli* aislada de camarones y su entorno. 77(8), 1394–1401.
doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-510>
- Chen, D., leifeng, G., Yi, C., & Ru, Y. (Julio de 2021). El análisis del transcriptoma hepatopancreático y los ensayos de factores inmunitarios humorales en cangrejos de río rojos (*Cherax quadricarinatus*) brindan información sobre la inmunomodulación innata en la infección por *Vibrio parahaemolyticus*. *Ecotoxicología y seguridad ambiental*, 217.
- Chorong, L., Kyoon, S., Jin, H., & Lee, S. H. (2021). Detección del virus de la necrosis hematopoyética e hipodérmica infecciosa (IHNV, Penstylhamaparvovirus 1 decápodo) en cangrejos de río rojos (*Cherax quadricarinatus*) importados a Corea del Sur. *Enfermedades Microbianas de Organismos Marinos*, 9, 856.
- Chunga, C., & Figueroa, M. (2002). *Estudio Tecnico-Economico de la cria de langosta de agua dulce o red claw en la provincia del Guayas*. Ecuador: Escuela Superior Politecnica del Litoral (Espol). Obtenido de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/3507>
- Cuéllar-Anjel. (2014). Métodos de diagnósticos de enfermedades en camarones penaeidos. En: Morales V & J Cuéllar-Anjel (eds). Guía técnica. Patología e inmunología de camarones peneidos. *OIRSA*, 21-92. Obtenido de https://www.invemar.org.co/redcostera1/invemar/docs/RinconLiterario/2011/febrero/F_269.pdf
- Custode, M. (2024). *Identificación de Salmonella y cuantificación de Escherichia coli en muestras*

- de camarón procedente de piscinas camaroneras de la región costa del Ecuador*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Obtenido de <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/6109fd0f-e6d7-4685-b1c8-6e57ff8b8874/content>
- Dairawan, M., & Shetty, P. (2020). La evolución de los métodos de extracción de ADN. *Revista Americana de Ciencias Biomédicas e Investigación*, 8(1), 39-45. doi:<https://doi.org/10.34297/ajbsr.2020.08.001234>
- Duran, G. (2016). Evaluación patológica de *Litopenaeus vannamei* cultivados en granjas ubicadas en el estuario del río Chone (Ecuador). *AquaTIC*(44), 30-42.
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul*. Roma. Obtenido de <https://openknowledge.fao.org/items/92319005-6232-450f-8c75-4d4fcf24720d>
- Fernandez, X. (2009). Resultados y Lecciones en Cultivo de Langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*). *Fundacion para la Innovacio Agraria*, 6-38. Obtenido de https://opia.fia.cl/601/articles-75551_archivo_01.pdf
- Fumero, Y., Rodriguez, L., & Olivares, I. (2023). Indicadores de calidad de la langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*) de cultivo. *Revista Cubana de Invetigadores Pesqueros*, 40(2), 42-48. Obtenido de <http://hdl.handle.net/1834/43669>
- Gong, J., Pan, X., Zhou, X., & Zhu, F. (2023). La quercetina dietética protege a *Cherax quadricarinatus* contra la infección por el virus del síndrome de la mancha blanca. *Revista de Patologia de Invertebrados*, 198.
- Gonzalez, L., Guerrero, G., & Cortez, J. (2021). Efectos de diferentes proporciones de energía proteica en la dieta sobre el crecimiento, perfil de aminoácidos y ácidos grasos de la carcasa de machos y hembras de *Cherax quadricarinatus* (von Martens, 1868) preadultos. *Nutricion y Acuicultura*, 27, 2481-2496.
- González, N. (2025). *Detención de resistencia a antibioticos de bacterias asiladas en producción de Penaeus vannamei*. Santa Elena: Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/2c6cac2a-d6b9-4f31-acbd-d7ded1df59be>
- Green, M., & Sambrook, J. (2019). Reacción en cadena de la polimerasa. *Protocolos de Cold Spring Harbor*, 6, 436-456. doi:<https://doi.org/10.1101/pdb.top095109>
- Hernandez, A., Soderhall, K., Sirikharin, R., & Soderhall, I. (2021). *Vibrio areninigræ* como bacteria patógena en un crustáceo. *Revista de Patologia de Invertebrados*, 178.
- Huang, L., Lu, T., Shi, J., Huang, Y., & Lu, X. (2024). Comparación de la composición y función de la microbiota intestinal de cangrejos de río rojos (*Cherax quadricarinatus*) cultivados en estanques y campos de arroz. *Fishes*, 9, 9.
- Jimbo, F. (2018). *APLICACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS MICROBIOLÓGICAS A HONGOS LEVADURIFORMES, COMO APOYO EN EL DIAGNÓSTICO DE MICOSIS*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Obtenido de <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/ac45d3cd-5c4a-471b-8f5b-80bdcb04a93d>
- Jimenez, L., Alejandro, M., & Lagunas, V. (2025). Revisión de la literatura para el conteo de unidades formadoras de colonias en microorganismos mediante vision artificial. *Ingenio*, 9(1), 18-31. doi:<https://doi.org/10.18779/ingenio.v9i1.1117>
- Jones, J. B., Brosnahan, C., & Pande, A. (2024). Síndrome de necrosis en abanico de la cola en crustáceos decápodos. *Journal of Fish Diseases*, 47. doi:DOI: 10.1111/jfd.13920
- Kadri, K. (2020). Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Principio y Aplicaciones. *En Biología Sintética - Nueva Ciencia Interdisciplinaria*. doi:<https://doi.org/10.5772/intechopen.86491>
- kautsky, N., & Ronnbacka, P. (2000). Perspectivas ecosistémicas sobre el manejo de enfermedades en el cultivo de camarones en estanques. *Acuicultura 191*, 145-161.
- Khatoon, H., & Anokhe, A. (2022). Prueba de catalasa: un protocolo bioquímico para identificación bacteriana. *Agricos*, 3(1), 2582-7049. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/357604311_Catalase_Test_A_Biochemical_Protocol_for_Bacterial_Identification
- Kimura, T., Yamano, K., Nakano, H., & Momoyama, K. (1996). Detección del virus ADN penoideo

- en forma de bastón (PRDV) mediante PCR. *Pez Patología*, 31(2), 93-98.
- Kumar, A. (2025). Pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana. *Manual de bacteriología veterinaria, Virología y Micología ISBN No:- 978 - 93 - 342 -8626-7*, 74-96.
- Lightner, D. (1996). Manual de patología del camarón y procedimientos de diagnóstico para enfermedades de camarones peneidos de cultivo. *Baton Rouge, Luisiana, EE. UU.: Sociedad Mundial de Acuicultura*.
- Lightner, D. V., & Pantoja, C. (s.f.). Manual para el diagnóstico de enfermedades de camarón. *United States Department of Agriculture*, 92. Obtenido de <https://www.oirsa.org/contenido/biblioteca/DIAGNOSTICOENFCAMARONUSDA.pdf>
- Longshaw, M. (2011). Enfermedades del cangrejo de río: una revisión. *Revista de patología de Invertebrados*, 106(1), 54-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.09.013>
- Lu, Y.-P., Zheng, P., Zhang, Z.-L., & Li, J.-T. (2023). Alteraciones del transcriptoma del hepatopáncreas en cangrejos de río rojos (*Cherax quadricarinatus*) sometidos a estrés por microcistina-LR (MC-LR). *Informes de Acuicultura*, 29.
- Mdm. (2020). SERIES DE IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA (UREA, CITRATO, LISINA, SIM Y TSI). *MDM, medios de diagnóstico microbiológico*, 1-5. Obtenido de <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/03/IS-24-SERIES-DE-IDENTIFICACION-BIOQUIMICA.pdf>
- Mejías, A. V. (2023). Diagnóstico sanitario de camarones marinos mediante el uso de técnicas histológicas. *Ciencia Pesquera*, 31(2), 11. doi:<https://doi.org/10.64106/cienciapesquera.v31i2.59>
- Mena, J., & Luis, J. (2013). *Determinación de patógenos en Langosta australiana Cherax quadricarinatus (Von Martes) presentes en el Embalse Chongón, Prov. Guayas*. Guayas : Universidad de Guayaquil.
- Mendoza, A. (2023). *Repositorio UTEQ*. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/44ed22d3-b4a3-48bd-8fe2-0bf014c3deca/content>
- Menéndez Castro, M. M. (2023). *Repositorio UTEQ*. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/aadc3bde-3556-4eb1-a638-9aca0262bf4f/content>
- Morales-Covarrubias, M., & Gomez-Gil, B. (2014). Enfermedades bacterianas de camarones. En: V Morales, J Cuéllar-Anjel (eds.). 2014. Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. *Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria*, 167-196.
- Olmos, A., & Garcia, C. (2017). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de Microbiología. Obtenido de <https://seimc.org/wp-content/uploads/2025/06/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Ortega, G. (2024). *Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y fitoplancton en la salud de las larvas del Litopenaeus Vannamei*. La Libertad: Universidad Estatal Penninsula de Santa Elena. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/03ee1165-30ac-4f7e-8b42-441f25f345cf>
- Ortega, M., & Chong, M. V. (2026). VIBRIOS Y BACTERIAS COLIFORMES EN CAMARONES BLANCOS (*Litopenaeus vannamei*) CULTIVADOS EN ESTANQUE COMERCIAL. *Ciencia Agropecuaria*, 42, 62-87. Obtenido de <http://www.revistacienciaagropecuaria.ac.pa/index.php/ciencia-agropecuaria/article/view/693>
- Pascual, A. (2018). Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (31+/- 1 °C) revivificables. *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*, 13-15.
- Peña, N., & Varela, A. (2015). ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO EN *Litopenaeus vannamei* INFECTADO CON *Vibrio parahaemolyticus*. *Agromn Mesoam*, 26(1), 43-53. doi:doi 10.15517/am.v26i1.16892
- Pingni, Ma, Y., & Shi, B. (2025). Análisis histopatológico y proteómico del camarón *Litopenaeus vannamei* infectado con *Ecytonucleospora hepatopenaei*. *Microorganismos Acuáticos y su Aplicación en Acuicultura*, 13(2), 402. doi:<https://doi.org/10.3390/microorganismos13020402>

- Ponce, J., Arredondo, J., & Romero, X. (1999). Analisis del Cultivo comercial de la langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*): y su posible impacto en America Latina. *Laboratorio de Bioingenieria Acuicola*, 54-60. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Jose-Arredondo-Figueroa/publication/260901960_Analisis_del_cultivo_comercial_de_la_langosta_de_agua_dulce_Cherax_quadricarinatus_y_su_posible_impacto_en_America_Latina/links/00463532df8e2c1c33000000/Analisis-del-cultiv
- Pozo, Y. (2022). Analisis Microbiologicos y caracterizacion de poblaciones bacterianas en sistemas de engorde de camaron durante un ciclo de cultivo. *Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena*, 67. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/601819ff-1803-4cdb-b237-33e0c6acd085>
- Priyam, A., Woodcroft, B., & Rai, V. (2019). Sequenceserver: Una interfaz gráfica de usuario moderna para bases de datos BLAST personalizadas. *Biología molecular y evolución*, 36(12), 2922–2924. doi:<https://doi.org/10.1093/molbev/msz185>
- Quere, R., Commes, T., Marti, J., & Bonami, J. (2002). Diagnóstico simultáneo del virus del síndrome de la mancha blanca y del virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa mediante sistema miniarray con detección colorimétrica. *Revista de metodos Virologicos*, 105(2), 189-196. doi:[https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00106-4](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00106-4)
- Reyes, A. (2021). *Principales agentes infecciosos asociados al cultivo del camaron blanco *Penaeus vannamei* reportados en Ecuador durante en periodo 2010-2021*. Santa Elena: Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/4ea10401-b1be-4f91-b779-5159f66feac7>
- Sakuna. (2018). Un nuevo virus (orden Bunyavirales) proveniente de cangrejos de río rojos (*Cherax quadricarinatus*) estresados de granjas del norte de Australia. *Revista de Virus*. doi:DOI: 10.1016/j.virusres.2018.03.012
- Saud, I., Yta, A. G., & Ghanau, J. (2023). Una revisión de la biología nutricional y los requerimientos dietéticos del cangrejo de río *Cherax quadricarinatus* (von Martens 1868). *Aquaculture Nutrition*.
- Sehnal, L. (2021). Composición y función del microbioma en vertebrados acuáticos: pequeños organismos que generan un gran impacto en la salud de los animales acuáticos. *Elseiver*, 12. doi:doi: 10.3389/fmicb.2021.567408
- Setiadi, J., & Adibrata, S. (2024). Cambios en la dieta de los cangrejos de río de agua dulce juveniles (*Cherax quadricarinatus*): una revisión. *AAFL Bioflux*, 17(6), 2659-2672.
- Silva, A. (2020). *Estudio e Inmovilización de las α -Amilasas Producidas por *Bacillus licheniformis* lb04*. Mexico: Universidad Autonoma de nuevo León. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/24112/1/1080328433.pdf>
- Singh, R., Patel, A., & Joshi, D. (2019). Evaluación de medios selectivos para el aislamiento de patógenos acuáticos. *Journal of Aquatic Research*, 7(3), 215–225.
- Tomalá, E. (2025). *DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE PROBIÓTICOS ACTIVADOS Y SU UTILIZACIÓN EN EL CULTIVO DE LARVAS DE *Penaeus vannamei* EN EL LABORATORIO AQUAGEN S.A., SANTA ELENA*. Santa Elena: Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/items/1b65f980-3b8f-4abe-9f31-a0e1a0a2e8fc>
- Tran, L., & Nunan, L. (2022). Determinantes de virulencia de especies de *Vibrio* que afectan a la acuicultura de crustáceos. *Aquaculture*, 560.
- Varela. (2021). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones. *Diagnóstico y Sanidad Acuicola*, 33-3. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18165>
- Varela, A. (2022). Aproximación al uso de los análisis en fresco del camarón como indicador predictivo de su crecimiento en cultivo. *AquaTechnica*, 101-108. doi:DOI <https://doi.org/10.33936/at.v4i2.4602>
- Villarreal, H., & Naranjo, J. (2008). Cultivo de Langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Redclaw). *Centro de investigaciones biologicas del noroeste, S.C.*, 1-16.
- Villarreal, H., & Naranjo, J. (2008). Cultivo de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* (Redclaw). Una oportunidad para la diversificación de la industria acuícola. *Programa*, 3.

- Villon, B., & Duque, R. (2025). Efecto del método de infección de *Pseudomonas* sp. asociada a tanques de larvicultura del camarón blanco *Penaeus vannamei*. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 12(1). doi:<https://doi.org/10.26423/rctu.v12i1.872>
- Wang, S., & Zhao, J. (2023). Gestión sostenible de la salud y control de patógenos en la acuicultura de crustáceos de agua dulce. *Aquaculture Environment Interactions*, 15, 111-125.
- Yao, C., Hong, S., Weiguo, C., & Zhu, T. (2024). La multiómica revela los mecanismos de toxicidad que sustentan el nanoplástico en el cangrejo de río de pinzas rojas (*Cherax quadricarinatus*). *Ciencia del medio ambiental total*, 951.
- Zambrano, D. (2017). *Aislamiento de selección de cepas de microorganismos autoctonos degradadores de materia orgánica fibrosa*. Calceta: Espam. Obtenido de <https://biblioteca.esпам.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=3575>
- Zamora, H., Rivas, E., & Estrada, A. (2020). Incidencia de bacterias patógenas en muestras de camarón fresco extraído de la Laguna de Bluefields. *Revista Ciencia e Interculturalidad*, 13(2), 159-171. Obtenido de <https://orcid.org/0000-0002-7715-9322>
- Zhang, Q., & Huang, J. (2018). Presencia y diversidad de patógenos bacterianos en *Cherax quadricarinatus* de granjas de agua dulce. *Aquaculture Research*, 49(7), 2499–2508. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v87n1/1870-3453-rmbiodiv-87-01-00258.pdf>
- Zhou, X., Gong, J., Zhuang, Y., & Zhu, F. (Agosto de 2022). La cumarina protege al *Cherax quadricarinatus* (cangrejo de río de pinzas rojas) contra la infección por el virus del síndrome de la mancha blanca. *Inmunología de Pescados y Mariscos*, 127, 74-81.
- Ziwei, L., Zheng, J., ke, C. d., Dandan, Z., & Chi, M. (2024). El ensamblaje del genoma del cangrejo de río rojo (*Cherax quadricarinatus*) proporciona información sobre su adaptación inmunológica y su tolerancia a la hipoxia. *Genómica BMC*.

13.ANEXOS.

Anexo 1: Cherax quadricarinatus.



Anexo 2: Peso del Cherax quadricarinatus.



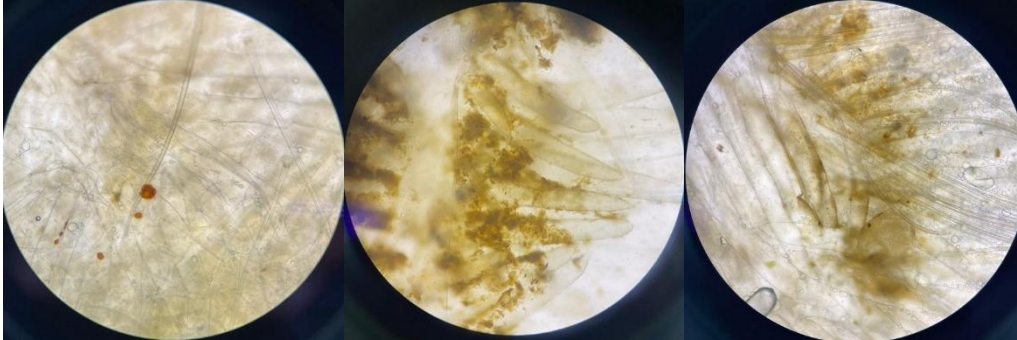
Nota: Diferentes pesos de muestra.

Anexo 3: Observación al microscopio.

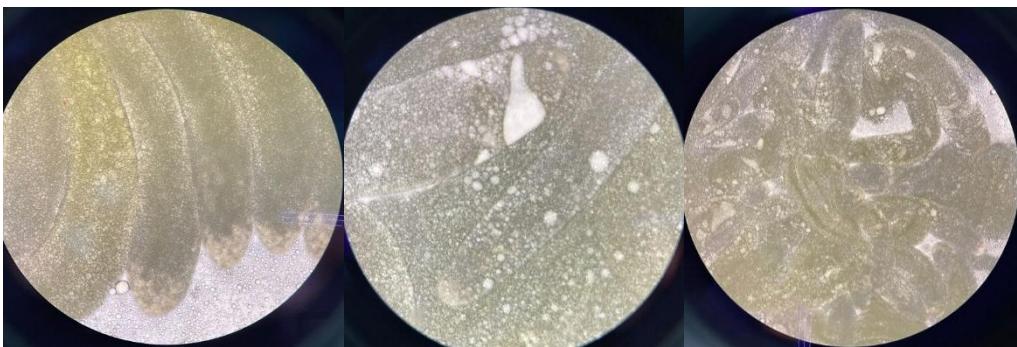


Nota: Observación de las características internas (branquias, hepatopáncreas, y contenido intestinal).

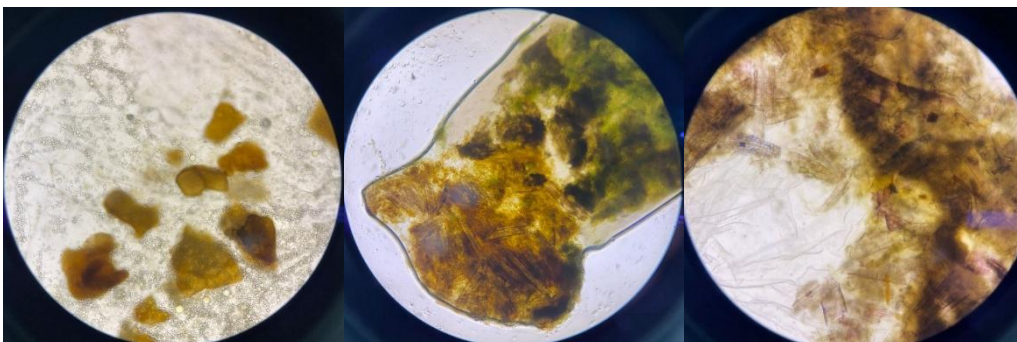
Anexo 4: Observación interna de branquias en el microscopio.



Anexo 5: Observación interna del hepatopáncreas en el microscopio.



Anexo 6: Observación del contenido intestinal del *Cherax quadricarinatus*.



Anexo 7: Siembra de la muestra en el cultivo agar.



Nota: Siembra de la muestra en los diferentes medios de cultivos (TCBS, Macconkey y Agar nutriente + manitol).

Anexo 8: Conteo de colonias.



Notas: Conteo de las unidades formadoras de colonias UFC/ml en los diferentes medios de cultivo agar.

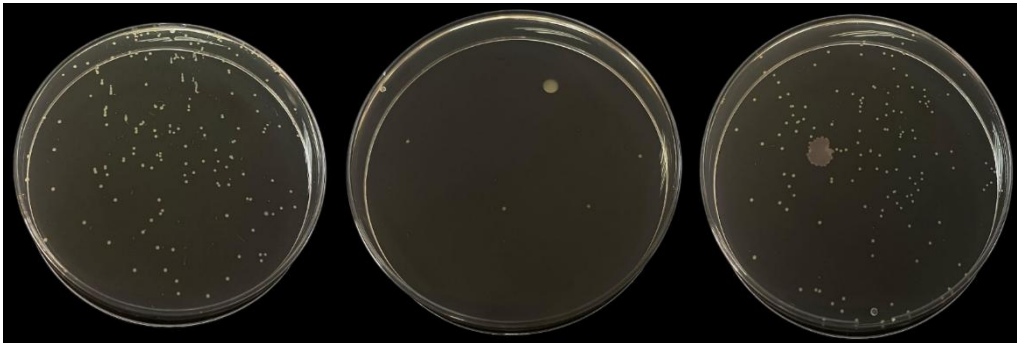
Anexo 9: Presencia de vibrios en agar TCBS.



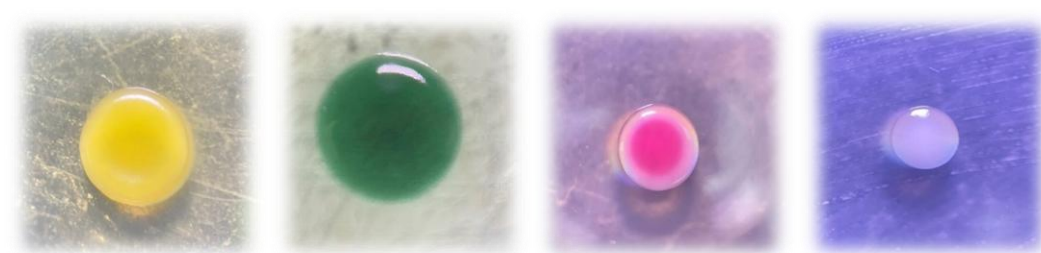
Anexo 10: Presencia de *E. Coli* en agar Macconkey.



Anexo 11: Presencia de Pseudomonas en agar nutriente + manitol.

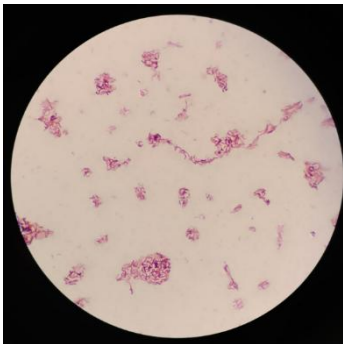


Anexo 12: Descripción morfológica de las bacterias presentes en el *C. quadricarinatus*.

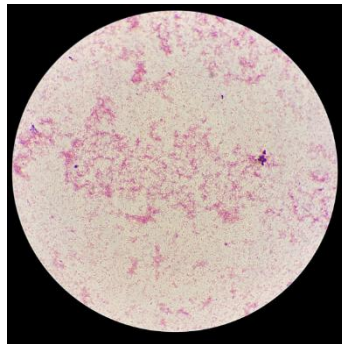


Nota: El color de las bacterias encontradas son: amarilla para *Vibrio cholerae*, verde para *Vibrio parahaemolyticus*, rosa para *E. Coli* y plomo para pseudomonas.

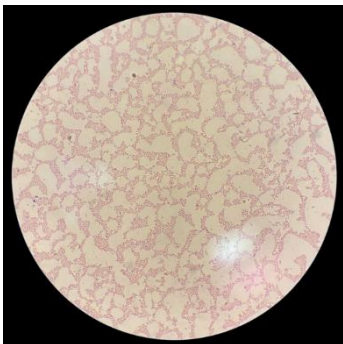
Anexo 13: Tinción Gram.



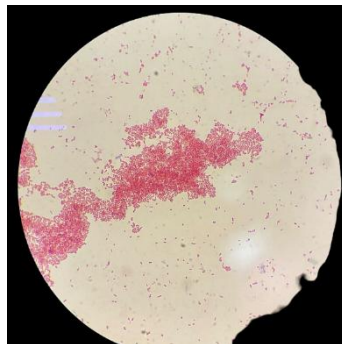
Vibrio Cholerae.



Vibrio Parahaemolyticus.



E. Coli.



Pseudomonas.

Nota: Tinción gram en las bacterias encontradas en el hepatopáncreas del *C. quadricarinatus*.

Anexo 14: Selección de muestras, branquias y hepatopáncreas para análisis histopatológico.



Anexo 15: Tabla de análisis en fresco del *C. quadricarinatus*.

		Normal	Alterado	Total, de muestras
Textura	Normal	120	0	120
	Rostro	96	24	120
Cefalotórax	Quelas	81	39	120
	Antena	71	49	120
	Pereiópodos	85	35	120
	Pleópodos	106	14	120
Pleon	Telson	102	18	120