

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

“Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y
fitoplancton en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*”

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

Ortega Araque Gabriela Renata

DOCENTE TUTOR:

Acui. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D

LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

“Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y
fitoplancton en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*”

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

Ortega Araque Gabriela Renata

DOCENTE TUTOR:

Acui. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D

LA LIBERTAD – ECUADOR

2024

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y fitoplancton en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*”, elaborado por Ortega Araque Gabriela Renata, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que el trabajo ha sido acogido a las sugerencias de los docentes revisores especialistas, luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes.

Atentamente



Acui. Sonny Mendoza Lombana, Ph.D.

DOCENTE TUTOR

C.I. 0912802816

DECLARACIÓN DEL DOCENTE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista del Trabajo de Integración Curricular, “Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y fitoplancton en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*”, elaborado por Ortega Araque Gabriela Renata, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para sustentación.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carlos Andrade Ruiz', written over a horizontal line.

Blgo, Carlos Andrade Ruiz, M.Sc.

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0910798750

DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, GABRIELA RENATA ORTEGA ARAQUE

Declaro que:

Manifiesto que, la responsabilidad por las ideas, contenido y resultados plasmados en este Trabajo de Integración Curricular denominado “Caracterización de la incidencia del bacterioplancton y fitoplancton en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*”, pertenecen exclusivamente al autor, el patrimonio intelectual del mismo le corresponde a la Universidad Estatal Península de Santa Elena



Gabriela Renata Ortega Araque

C.I 1208187912

TRIBUNAL DE GRADO

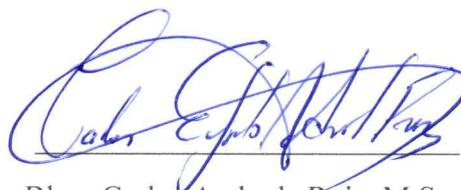
Trabajo de integración Curricular por **Gabriela Renata Ortega Araque** como requisito parcial para la obtención del grado de Bióloga de la Carrera de Biología, Facultad Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: Miércoles 17 de Julio del 2024



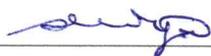
Ing, Jimmy Villón Moreno, M.Sc.

DIRECTOR DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blgo, Carlos Andrade Ruiz, M.Sc.

PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Acui, Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D.

DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo, Richard Duque Marín, M.Sc.

DOCENTE GUÍA DE LA UICC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo, Pascual Roca Silvestre, Mgtr.

SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a Dios por darme salud y bienestar para cumplir todas mis metas.

Quiero dedicar este trabajo a mis seres queridos, en especial a mi madre Margoth Araque, a mi hermana menor Micaela Paredes, por su amor y apoyo incondicional en todos los momentos al ser mi pilar fundamental para no redimirme y seguir adelante. Gracias por estar conmigo y darme las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mis dos padres, Luis Paredes que con su amor y cariño desde mis nueve años de edad estuvo allí apoyándome y bríndame su amor incondicional como su propia hija, a Ángel Ortega por su apoyo y amor incondicional a pesar de todo. Gracias por darme su amor.

De igual manera a mis abuelitos Julio Araque y Rosa Sánchez que al día de hoy no se encuentran presentes en vida, pero siempre estuvieron en mi corazón y mente. Tomando en cuenta también a mis tíos y primos en especial a mi primo Bryan Araque por estar conmigo y darme felicidad desde niños.

A mi pareja y compañero Alexander Vergara por estar presente con su apoyo incondicional siempre desde hace 7 años e iniciar juntos esta carrera, de igual manera a su familia, gracias por todo su amor y apoyo, a mis compañeros, en especial a Rebeca, Samantha, Ámbar, Santiago y Luis, gracias por brindarme su apoyo y su conocimiento.

Gracias por su apoyo y amor incondicional para poder finalizar este proyecto.

Con mucho amor, Gabriela Renata Ortega Araque

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradecer a Dios, por mantenerme con salud y vida ayudándome a cumplir todas mis metas.

En segundo lugar, agradezco a mi amada familia por siempre estar conmigo apoyándome en todos los momentos, principalmente mi madre con su apoyo económico y emocional de igual a mi padre.

A la empresa SEMACUA S.A, que me abrió las puertas de sus instalaciones para la elaboración de este proyecto principalmente al Biólogo Jorge Espinoza, al departamento cultivo de larvas y de Algas por su apoyo y amabilidad conmigo que me permitieron realizar el presente proyecto.

Finalmente agradezco a todos los docentes de la universidad los cuales fomentaron mi formación académica durante toda la carrera, de manera especial a acuicultura Sonnya Mendoza, quien fue mi tutora en el presente proyecto, por sus acotaciones profesionales y científicas que me orientaron en el todo el tiempo. Así de igual manera a la Universidad por acogerme en las instalaciones de la facultad Ciencias del Mar, permitiéndome formar mi experiencia académica.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| DEDICATORIA | 1 |
| AGRADECIMIENTO | 2 |
| RESUMEN | 10 |
| ABSTRACT | 11 |
| GLOSARIO | 12 |
| ABREVIATURAS | 14 |
| CAPÍTULO I | 15 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 15 |
| 2. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA..... | 17 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 18 |
| 4. OBJETIVOS | 19 |
| 4.1. OBJETIVO GENERAL | 19 |
| 4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS..... | 19 |
| 5. HIPOTESIS. | 20 |
| CAPÍTULO II..... | 21 |
| 6. MARCO TEÓRICO | 21 |
| 6.1. Larvicultura en el Ecuador..... | 21 |
| 6.2. Ciclo de vida de las larvas de camarón blanco | 21 |
| 6.3. Nutrición en larvas de camarón | 22 |
| 6.4. Cultivo de microalgas | 23 |

| | | |
|-------|---|----|
| 6.5. | Fitoplancton (microalgas) en larvicultura | 24 |
| 6.6. | Enfermedades en la larvicultura..... | 27 |
| 6.7. | Calidad de agua durante el cultivo | 31 |
| 6.8. | Parámetros físico – químicos | 31 |
| 6.9. | Bacterioplancton | 32 |
| 6.10. | Altas cargas bacterianas en cultivos..... | 33 |
| 6.11. | Bacteriología | 33 |
| 6.12. | Métodos para detección de vibrios..... | 33 |
| 6.13. | Metodologías de cultivo microbiológico | 34 |
| 6.14. | Interacción bacterioplancton – Fitoplancton..... | 35 |
| 7. | MATERIALES Y MÉTODOS | 36 |
| 7.1. | Tipo de estudio..... | 36 |
| 7.2. | Área de estudio..... | 36 |
| | Diseño Experimental | 37 |
| 7.3. | Técnica de muestreo..... | 37 |
| 7.4. | Preparación de medios de cultivo selectivos..... | 37 |
| 7.5. | Análisis microbiológicos – Cultivo de fitoplancton | 39 |
| 7.6. | Presencia de bacterioplancton y fitoplancton en cultivo de larvas ... | 40 |
| 7.7. | Análisis de microscópico en larvas | 41 |
| 7.8. | Análisis de salud de las larvas..... | 42 |
| 7.9. | Análisis microbiológicos en larvas | 43 |
| 7.10. | Análisis de parámetros físico químicos | 43 |

| | |
|---|----|
| 7.11. Análisis estadísticos | 44 |
| CAPITULO IV | 46 |
| 8. RESULTADOS | 46 |
| 8.1. Determinación la presencia de bacterioplancton en cultivos de fitoplancton. 46 | |
| 8.2. Correlación entre el parámetro físico con el crecimiento bacteriano en los tanques de larvas. | 51 |
| 8.3. Correlación entre los parámetros químicos y el crecimiento bacteriano. 52 | |
| 8.4. Correlación de parámetros físicos y parámetros químicos. | 52 |
| 8.5. Correlación entre bacterias y fitoplancton dentro de un medio controlado. 53 | |
| 8.6. Correlación de parámetros químicos con microalgas en el cultivo de larvas. 55 | |
| 8.7. Correlación entra alcalinidad y ufc/ml en los tanques de larvas..... | 56 |
| 8.8. Análisis de unidades formadoras de colonias por estadio..... | 57 |
| 8.9. Análisis de salud de las larvas..... | 58 |
| 8.10. Incidencia de la relación entre bacterioplancton y fitoplancton con la salud de larvas. | 61 |
| 9. CAPITULO IV | 63 |
| 10. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 63 |
| 10.1. DISCUSIÓN | 63 |

| | |
|-----------------------------|----|
| 10.2. CONCLUSIONES | 66 |
| 10.3. RECOMENDACIONES | 68 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA | 69 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 <i>Tetraselmis sp.</i> | 25 |
| Figura 2 <i>Thallossiosira</i> | 26 |
| Figura 3 <i>Síndrome de Bolitas</i> | 30 |
| Figura 4 <i>Laboratorio SEMACUA S.A.</i> | 36 |
| Figura 5 <i>Representación de la toma de muestras.</i> | 37 |
| Figura 6 <i>Preparación de agar TCBS</i> | 38 |
| Figura 7 <i>Descripción gráfica de la preparación del Agar.</i> | 39 |
| Figura 8 <i>Preparación para el análisis microbiológico de los masivos de fitoplancton</i> | 40 |
| Figura 9 <i>Reglilla de Neubauer de 9 mm²</i> | 41 |
| Figura 10 <i>Ilustración para la toma de muestras para el análisis microscópico.</i> | 42 |
| Figura 11 <i>HANNA INSTRUMENTS</i> | 43 |
| Figura 12 <i>Multiparámetros</i> | 44 |
| Figura 13 <i>Gráfico en barras de abundancia de microalgas cel/ml y bacterias presencia de bacterias ufc/ml, Primera ciclo de producción</i> | 46 |
| Figura 14 <i>Gráfico en barras múltiple de abundancia de microalgas cel/ml y bacterias ufc/ml, Segunda corrida</i> | 47 |
| Figura 15 <i>Medios de cultivo TCBS</i> | 48 |
| Figura 16 <i>Matriz de correlación entre ufc/ml y microalgas de C1.</i> | 49 |
| Figura 17 <i>Matriz de correlación entre ufc/ml y microalgas cl/ml de C2.</i> | 50 |
| Figura 18 <i>Matriz de correlación de Pearson en Past4.</i> | 51 |
| Figura 19 <i>Matriz de correlación entre ufc/ml, alcalinidad y pH.</i> | 52 |
| Figura 20 <i>Matriz de correlación de parámetros físicos y químicos.</i> | 53 |

| | |
|---|----|
| Figura 21 Matriz de correlación UFC y Microalgas en tanques de larvas. | 54 |
| Figura 22 <i>Matriz de correlación entre microalgas y alcalinidad en los cultivos de larvas.</i> | 56 |
| Figura 23 <i>Alcalinidad y ufc/ml en tanques de larvas.</i> | 57 |
| Figura 24 <i>Representación en barras de bacterias presentes en los tanques y larvas.</i> | 58 |
| Figura 25 <i>Patología en larvas, valoración microscópica.</i> | 59 |
| Figura 26 <i>Valoración patológica en larvas de camarón C1.</i> | 59 |
| Figura 27 <i>Valoración patológica de larvas de camarón C2.</i> | 60 |
| Figura 28 <i>Matriz de correlación de salud de larvas con ufc/ml de los organismos.</i> | 60 |
| Figura 29 <i>Correlación de patología de larvas, ufc/ml y microalgas.</i> | 62 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Descripción de estadios larvales <i>Litopenneus vannamei</i> | 22 |
| Tabla 2 Valores nutricionales <i>Tetraselmis s.p.</i> | 26 |
| Tabla 3 Valores nutricionales <i>Thalassiosira pseudanana</i> | 27 |
| Tabla 4 Bacterias gram positivas y bacterias gram negativa. | 28 |
| Tabla 5 Parámetros físicos – químicos del agua | 32 |
| Tabla 6 Tipos de medios de cultivo | 34 |
| Tabla 7 Tabla de valoración de salud de larvas mediante observación microscópica..... | 42 |
| Tabla 8 Correlación de Pearson de C1 entre ufc/ml y Microalgas. | 48 |
| Tabla 9 Correlación de Pearson de C2 entre ufc/ml y Microalgas. | 50 |
| Tabla 10 Correlación de Spearman..... | 55 |

RESUMEN

En Ecuador existen 250 laboratorios que enfrentan problemáticas como la presencia de patógenos. En la larvicultura las bacterias del género *Vibrio sp* y *Pseudomonas*, que afectan el cultivo, influyendo en su crecimiento y generando mortalidad total con pérdidas económicas. En un medio controlado, se busca entender la causa de estos patógenos y el funcionamiento del microbioma. El objetivo del estudio es caracterizar el bacterioplancton y su relación con la abundancia de fitoplancton en la salud de las larvas de *Litopenaeus vannamei*, determinando la presencia de bacterioplancton en masivos de fitoplancton.

Se realizaron pruebas microbiológicas con agares selectivos, cuantificando unidades formadoras de colonias y fitoplancton con una cámara Neubauer en tres tanques durante dos ciclos de producción en Zoea 3, Mysis 3 y Postlarva 4. Se tomaron los parámetros físicos y químicos, evaluando el crecimiento durante tres días.

En el primer ciclo, Zoea 3 tuvo $8.40E+01$ ufc/ml y $1.50E+01$ ufc/ml; Mysis 3, $8.40E+01$ ufc/ml y $1.70E+01$ ufc/ml; PostLarva 4, $2.26E+02$ ufc/ml y $1.46E+02$ ufc/ml. En el segundo ciclo, Zoea 3 alcanzó $2.26E+02$ ufc/ml y $2.20E+01$ ufc/ml; Mysis 3, $8.40E+01$ ufc/ml y $1.57E+02$ ufc/ml; PostLarva 4, $2.47E+01$ ufc/ml y $4.20E+01$ ufc/ml.

Se usaron Past 4 y Minitab 18 para analizar correlaciones entre ufc/ml, fitoplancton, parámetros fisicoquímicos y salud de larvas. La correlación principal entre fitoplancton y bacterioplancton fue 0.70. Las correlaciones con los parámetros físicos fueron -0.37 y con químicos, como la alcalinidad y pH, 0.59 y 0.23. El análisis microscópico mostró correlaciones positivas entre ufc/ml y necrosis de 0.08 a 0.81.

Palabras clave: Bacterioplancton, fitoplancton, correlación, parámetros.

ABSTRACT

In Ecuador there are 250 laboratories that face problems such as the presence of pathogens. In larviculture, bacteria of the genus *Vibrio* sp and *Pseudomonas* affect the culture, influencing its growth and generating total mortality with economic losses. In a controlled environment, we seek to understand the cause of these pathogens and the functioning of the microbiome. The objective of the study is to characterize the bacterioplankton and its relationship with the abundance of phytoplankton in the health of *Litopenaeus vannamei* larvae, determining the presence of bacterioplankton in phytoplankton masses.

Microbiological tests were carried out with selective agars, quantifying colony-forming units and phytoplankton with a Neubauer chamber in three tanks during two production cycles in Zoea 3, Mysis 3 and Postlarva 4. Physical and chemical parameters were taken, evaluating growth for three days.

In the first cycle, Zoea 3 had $8.40E+01$ cfu/ml and $1.50E+01$ cfu/ml; Mysis 3, $8.40E+01$ cfu/ml and $1.70E+01$ cfu/ml; PostLarva 4, $2.26E+02$ cfu/ml and $1.46E+02$ cfu/ml. In the second cycle, Zoea 3 reached $2.26E+02$ cfu/ml and $2.20E+01$ cfu/ml; Mysis 3, $8.40E+01$ cfu/ml and $1.57E+02$ cfu/ml; PostLarva 4, $2.47E+01$ cfu/ml and $4.20E+01$ cfu/ml. Past 4 and Minitab 18 were used to analyze correlations between cfu/ml, phytoplankton, physicochemical parameters, and larval health. The main correlation between phytoplankton and bacterioplankton was 0.70. Correlations with physical parameters were -0.37 and with chemical parameters, such as alkalinity and pH, 0.59 and 0.23. Microscopic analysis showed positive correlations between cfu/ml and necrosis ranging from 0.08 to 0.81.

Keywords: Bacterioplankton, phytoplankton, correlation, parameters.

GLOSARIO

Bacterioplancton: Bacterias microscópicas que viven suspendidas en ambientes acuáticos.

Proliferación: Aumento o crecimiento rápido, a menudo de manera incontrolada.

Bioseguridad: Medidas tomadas para prevenir la propagación de enfermedades infecciosas o contaminantes.

Patógenos: Microorganismos causantes de enfermedades.

Producto Interno Bruto: El valor monetario o de mercado total de todos los bienes y servicios finales producidos dentro de las fronteras de un país en un período de tiempo específico.

Sílice: Un compuesto químico compuesto de silicio y oxígeno, comúnmente encontrado en arena y rocas.

Piriforme: En forma de pera.

Maxilípedos: Apéndices especializados en crustáceos utilizados para la alimentación.

Rotíferos: Animales acuáticos microscópicos que tienen una corona de cilios utilizada para la locomoción y la alimentación.

Larvicultura: El cultivo y cría de organismos en estado larval.

Heterótrofa: Un organismo que no puede sintetizar su propio alimento y en su lugar obtiene compuestos orgánicos de carbono de su entorno.

Metabolismo: Los procesos químicos que ocurren dentro de un organismo vivo para mantener la vida.

Fotosíntesis: El proceso por el cual las plantas y algunos otros organismos utilizan la luz solar, el agua y el dióxido de carbono para crear oxígeno y energía en forma de azúcar.

Simbiosis: Una interacción cercana y prolongada entre dos o más especies biológicas diferentes.

Hepatopancreatitis: Una enfermedad en camarones caracterizada por la inflamación y necrosis de la hepatopáncreas.

Pleópodos: Apéndices en la parte inferior del abdomen de un crustáceo utilizados para nadar.

Peptidoglicano: Un componente estructural de las paredes celulares de las bacterias.

Ácidos teicoicos: Polímeros encontrados en las paredes celulares de las bacterias Gram-positivas.

Síndrome: Un grupo de síntomas que indican o caracterizan colectivamente una enfermedad u otra condición.

Iones: Un átomo o molécula con una carga eléctrica neta debido a la pérdida o ganancia de uno o más electrones.

Cationes: Un ion cargado positivamente.

Alcalinidad: La capacidad del agua para neutralizar los ácidos, una medida de la capacidad amortiguadora del agua.

ABREVIATURAS

UFC Unidades Formadoras de Colonias

CO₂ Dióxido de Carbono

pH Potencial de Hidrógeno

O₂ Oxígeno

NO₃ Nitrato

NH₄ Amonio

H₃BO₃ Ácido Bórico

NaCl Cloruro de Sodio

Mg Magnesio

Ca Calcio

K Potasio

C1 Ciclo de producción 1

C2 Ciclo de producción 2

NB Necrosis branquial

NM Necrosis muscular

NP Necrosis apéndices

cl/ml Células por mililitro

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El sector camaronero desempeña un papel fundamental en la economía del país, proporcionando sustento económico a aproximadamente 180,000 personas en diferentes cantones rurales y remotos de Ecuador (Domínguez, 2019).

Actualmente en el Ecuador se produce entre 30 y 35 millones de larvas quincenales, los cuales son dirigidos en su gran mayoría a camaroneros del Guayas, El Oro, Manabí, Esmeraldas y también se exporta a Perú (Armijos, 2023). Durante el ciclo de producción en camaroneras dependerá de importantes factores, como la alimentación que se da durante los primeros estadios, su principal alimento son las microalgas, las cuales se reproducen con facilidad en cultivos masivos. La producción de microalgas se da en un ambiente controlado, como los laboratorios es considerado un punto crítico para la presencia de enterobacterias (Peña, 2021).

La gran mayoría de las bacterias presentes en el bacterioplancton son de naturaleza heterótrofa, lo que significa que obtienen su energía a partir de la materia orgánica disponible en su entorno. Estas bacterias desempeñan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos, ya que participan en la degradación de la materia orgánica disuelta (Rodríguez & Varela, 2020).

Los vibrios son bacterias gran-negativas, se encuentran en ecosistemas acuáticos y en su gran mayoría se encuentra en agua mar y agua salobre, sin embargo, existe una especie de vibrio que también habita en agua dulce (Newman, 2022). De la familia *Vibrinaceae*, el principal género que afecta a la larvicultura es *Vibrio spp.*, causando infecciones como vibriosis, esta es una de las enfermedades más frecuentes en la etapa de larvicultura y en la de engorda. Estas bacterias son consideradas oportunistas los cuales

se aprovechan de las variaciones de temperatura, alcalinidad, pH, oxígeno disuelto, entre otros (Yagual, 2023).

Las relaciones entre microalgas y bacterias, se da por el intercambio de nutrientes en el que cada uno contribuye para el crecimiento, las bacterias contribuyen con vitamina B para las microalgas proporcionando a la bacteria compuestos orgánicos de carbono, generalmente estas interacciones ocurren en los ambientes marinos, debido a que la mitad del carbono fijado por el fitoplancton es metabolizada por bacterias (Fuentes et al., 2016).

La captación de nutrientes y fijación fotosintética de CO₂ relacionadas con las microalgas inducen al pH en el medio en que se encuentre obteniendo valores alcalinos, debido a la liberación de carbonos (Beltrán et al., 2017). Un cultivo con una alcalinidad alta afecta al desarrollo de la larva retrasando la muda evitando su crecimiento normal (Quintuña, 2023).

2. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

En 2023, la acuicultura del camarón enfrentaba un favorable escenario de crecimiento, sin embargo, se evidenciaron amenazas que afectan a la eficiencia de sistemas productivos, entre las más importantes la presencia de patógenos (Morales et al., 2023).

Dentro la etapa larval las enfermedades causadas por microorganismos patógenos, en su gran mayoría bacterias, son consideradas las responsables de mortalidades masivas. Las bacterias del género vibrio son de las más frecuentes en larvicultura afectando a las larvas, al presenciarse al momento de una disminución de los factores bióticos y abióticos (Sarango, 2021).

El aumento de enfermedades existentes en los sistemas de cultivo, dio como resultante la interacción que se da entre organismos y patógenos. El ingreso accidentalmente de patógenos se da por la falta de un protocolo apropiado o barreras sanitarias en sistemas de cultivos, provocando la proliferación de patógenos como mortalidad temprana, hepatopancreatitis o síndrome de bolitas, causados por el género de bacterias como vibrio (Obando, 2023).

Con el control en la fase larvaria se llegó a aumentar la tasa de supervivencia y el crecimiento correcto de las larvas, el primer alimento que es el fitoplancton proporciona valores nutricionales y el tamaño adecuado para el crecimiento del organismo (Ronquillo, 2022). Por la presencia de patógenos, se obtiene la pérdida de los cultivos de manera inmediata si no son tratados simultáneamente, la investigación tiene como objetivo buscar la relación que puede existir entre la presencia de fitoplancton con la presencia de bacterias en un medio de cultivo que es controlado.

3. JUSTIFICACIÓN

La especie de camarón *Litopenaeus vannamei* es ampliamente cultivada en el Ecuador, es la más importante para la economía del país, sin embargo, la etapa más crítica en su crecimiento es su etapa larval, al atravesar por esta etapa son susceptibles a más enfermedades, causando tasas de mortalidad altas y por consecuente pérdidas económicas significativas.

Para los ciclos de producción los tanques donde se colocaron las larvas atraviesan por el proceso de desinfección, antes del inicio de cada ciclo, sin embargo, al ser un ambiente controlado la presencia de bacterias sigue existiendo por tal motivo se busca establecer una investigación y poder comprender la sucesión dinámica temporal de las comunidades microbianas presentes en el tanque (Song - Bao, 2023).

Se busca entender la dinámica temporal que existen entre las comunidades microbianas y el desarrollo en un ambiente controlado, como ocurre la presencia y aumentó de microorganismo bacterianos y como estos interactúan con la presencia de otros organismos por un proceso de simbiosis y como influencia en los parámetros físico-químicos.

Las bacterias al estar presentes en un ambiente que proporciona estabilidad y alimentación, originada por los desechos de otros organismos, como lo es el fitoplancton se proliferan abundantemente por consecuente afectan al cultivo de producción, la siguiente investigación busca entender la relación que existe entre la presencia de bacterias con el fitoplancton y si esta afecta a la salud de las larvas.

4. OBJETIVOS

4.1.OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el bacterioplancton y su relación con la abundancia de fitoplancton en relación a la salud de las larvas de *Litopenaeus vannamei* determinando su interacción.

4.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la presencia de bacterioplancton en cultivos de fitoplancton.
- Correlacionar la abundancia de fitoplancton con la proliferación de bacterias.
- Analizar la relación entre parámetros físicos y químicos con el bacterioplancton. y la incidencia en la salud de las larvas *Litopenaeus vannamei*.

5. HIPOTESIS.

Ho: Existe una relación entre la presencia de bacterioplancton con la abundancia de fitoplancton en un cultivo de larvas *Litopenaeus vannamei* afectando a la salud de las larvas.

CAPÍTULO II

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Larvicultura en el Ecuador

En los últimos años la acuicultura en relación a la producción de camarón ha tenido un crecimiento alto, siendo parte de aportaciones al Producto Interno Bruto del país, al ser uno de los sectores más dinámicos de la economía, sin embargo, se estima una baja de 1.47% en ingresos y de un 0.87% en la venta por libras de camarón en el año 2020 en comparación al año anterior, no obstante, se espera una recuperación en los siguientes años (Novillo et al., 2021).

En el Ecuador se dio un aumento significativamente durante la última década de 322 millones de libras a 1.490 millones de libras en 2020 siendo de esta manera la segunda exportación más grande del país, en primer lugar, se encuentra el petróleo y representando un valor de 3.6 mil millones de dólares aportando a la economía del país (Molinari, 2021).

Ecuador cuenta con 205 laboratorios de larvas de camarón por un estudio realizado por la Producción de Comercio Exterior, Inversiones y Pesca, los laboratorios de larvas son un punto clave para la producción de camarón (Alvarado, 2020).

6.2. Ciclo de vida de las larvas de camarón blanco

El ciclo de vida de camarón pasa por varias fases hasta llegar a su tamaño apto para la comercialización, se dividen en varias etapas las cuales son Nauplio, Zoea, Mysis y postlarva, estos se dividen en varios subestadios, se los describen en la **Tabla 1**:

Tabla 1
Descripción de estadios larvales Litopenneus vannamei

| Estadio | Descripción |
|-----------|--|
| Nauplio | En la etapa de nauplio, la larva de camarón pasa por cinco mudas aproximadamente en 7 horas, cada estadio pasa por una muda dando un cambio al desarrollo y adquiriendo una forma piriforme. ^a |
| Zoea | Después de la metamorfosis ocurrida en Nauplio 5 empieza la segunda etapa larva que es protozoea que está dividida en tres sub estadios Zoea I, II, III, obtiene cambios morfológicos como su cuerpo más alargado adaptados para un nado más continuo, ya se observan maxilípedos más desarrollados los cuales también ayuda para la natación. ^a |
| Mysis | Mysis representa el último estadio larval en el ciclo de vida del camarón blanco. Durante esta etapa, se producen cambios significativos como una curvatura del cuerpo y contracciones abdominales. Además, se observa una transición hacia una alimentación basada en organismos vivos y sólidos. ^b |
| Postlarva | Al comienzo de esta etapa, la postlarva aún exhibe el comportamiento natatorio característico del último estadio larval, como en el caso de Mysis. Además, en esta etapa, los apéndices funcionales desempeñan un papel crucial en su alimentación y también contribuyen a su capacidad de arrastre. Los subestadios en esta etapa abarcan del 30 al 35, y posteriormente la postlarva pasa a convertirse en juvenil. ^a |

Nota. ^a Goytortúa et al. (2023). ^b Aguirre (2023).

6.3. Nutrición en larvas de camarón

La alimentación dependerá de las etapas que este atravesando, en nauplio hasta zoea la alimentación se basa en los nutrientes de reserva que se encuentran en el saco

vitelino, seguidamente se alimentan de microalgas, filtrando sus nutrientes, a partir de Mysis hasta postlarva se empieza a suministrar una dieta seca, la cual contiene un balanceado de 12/millón de larvas, generalmente las dietas se debe tener un porcentaje del 30% de proteína, también se usa la artemia aumentando la defensa de los camarones. En postlarva la nutrición debe ser basada o relacionada con la fisiología y metabolismo del animal (Aguirre, 2023). La alimentación debe ser rica en proteínas, lípidos, carbohidratos, minerales y vitaminas el cual ayuda para obtener un buen sistema de defensa en el animal (Corral, 2019).

6.4. Cultivo de microalgas

6.4.1. Cultivo en reservorios

Para este cultivo se utilizan estructuras cilíndricas de concreto o de plástico con un tamaño de 2,5 metros de diámetro y con las capacidades para realizar cultivos de microalgas dentro del laboratorio, almacenados en una zona de 9,00 metros cuadrados aproximadamente. La zona sirve como reserva de agua marina ya esterilizada para desarrollar el cultivo en la zona del cepario y bolsas (Sandhyta et al., 2020).

6.4.2. Cultivo en laboratorio

En el cultivo de laboratorio se divide en tres secciones, en el que se desarrolla cepas puras, está tiene la función de llevar una población distinta de especies de microalgas a los niveles requeridos para el alimento de los primeros estadios larvarios del camarón (Prafanda et al., 2020). La primera etapa de cultivo es el cepario, en este se establecen tubos de ensayo de las cepas puras necesarias para la alimentación larvaria entre ellas algas pardas y diatomeas (Oostlander et al., 2020).

Los cultivos monoespecíficos se producen con agua salada esterilizada y fertilizada con vitaminas y minerales necesarios para el tipo de alga que se cultiva, el

medio más utilizado es Guillard F/2, el cual consiste de utilizar una solución de silicato de Na, otra con Nitrato y fosfato; uno de Hierro, EDTA y vitaminas. Al iniciar se inoculan 10 ml de cepas en frascos de 150 ml, pasando tres días el volumen de 150 ml se inoculan a 1L, hasta llegar a una tonelada con 250L (Ronquillo, 2022).

6.4.3. Cultivo en bolsas

En las bolsas se coloca agua estéril y vitaminas en conjunto al inóculo de microalgas a la elección con la finalidad de aumentar la densidad. La capacidad de las bolsas es de aproximadamente 20 litros, con una densidad de 4,5 a 6 millones de células por mililitro, el máximo de cultivo de las bolsas es de 3 días con el fin de alcanzar la máxima densidad (Shah, et al., 2018).

6.4.4. Cultivo en cilindros

La metodología de cultivo en cilindros es aplicada para la obtención de altas densidades de microalgas en menor espacio, tiende a servir como inóculos, para ser transportadas a otra sección de cultivos, en su gran mayoría son cilindros a base fibra de vidrio con una capacidad de 300 litros, por cilindro se usa dos bolsas, se los mantiene por 3 días hasta alcanzar el punto máximo de crecimiento de 1.8 a 2.5 millos de células por mililitros (Khwancharoen et al., 2021).

6.4.5. Cultivos en masivos

Para los cultivos de masivos se usan cilindros, dependerá del laboratorio el material, sin embargo, son recubiertas con liner blanco o negro, los días de cultivo son 3 hasta alcanzar la densidad deseada de 600 a 900 mil células por mililitro, los masivos son transferidos a los tanques de producción larvario de camarón (Nagappan et al., 2021).

6.5. Fitoplancton (microalgas) en larvicultura

6.5.1. Descripción de diatomeas

Son algas microscópicas, unicelulares y eucariotas, las cuales forman parte de la microflora béntica. Tiene 60% de sílice ya que se encuentra protegida por caparazón silicio llamado frústulo. Las diatomeas al estar presentes en la gran mayoría de sistemas acuáticos pueden ser empleadas como bioindicadores de un ecosistema en el agua sea parte del biotopo (Merino, 2018).

6.5.2. Microalga *Tetraselmis*

Corresponde al género de microalgas unicelulares móviles con tonalidades verdes debido a la presencia de clorofilas a y b, son consideradas como flagelos marinos, es fácil de cultivar en masivas cantidades. Posee una forma ovoide, elipsoidal con un tamaño de 8 y 10 micrómetros de diámetro (Mendieta, 2021). Fotografía microscópica de la microalga **Figura 1**.

6.5.3. Taxonomía.

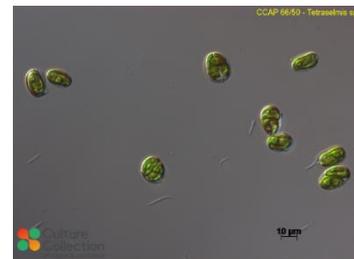
Clase: Chlorodendrophyceae

Orden: Chlorodendrales

Familia: Chlorodendraceae

Género: *Tetraselmis*

Figura 1
Tetraselmis sp.



Nota. [Fotografía] microscópica obtenida de Culture Collection of algae & protozoa, 2022

6.5.4. *Tetraselmis* en la acuicultura

Es considerada una de las más importantes para ser utilizada como alimento vivo alimentando rotíferos como larvas de camarón, al tener una alta calidad de composición

bioquímica (Lujan, 2020). Su alto nivel de proteínas, aminoácidos y carbohidratos ayudan al desarrollo del camarón.

6.5.5. Valores nutricionales

Estos organismos presentan valores elevados de proteínas, los carbohidratos funcionan como reserva y forman parte de la pared celular de microalgas y el contenido lipídico de la gran mayoría de microalgas es del 20%, sin embargo, las cantidades varían del 1% hasta el 40%, la **Tabla 2** describe los valores nutricionales de *Tetraselmis s.p* (Salazar,2022)

Tabla 2
Valores nutricionales Tetraselmis s.p

| | |
|---------------|--------|
| Proteína | 49,22% |
| Lípidos | 10,60% |
| Carbohidratos | 16,38% |

Nota. Los valores de la tabla provienen de la fuente de (Cambefort et al., 2009)

6.5.6. Microalga Thalossiosira

No poseen la capacidad de crecer en medios sin luz, son utilizadas como alimentos para moluscos por su alta carga de ácidos grasos. Para el cultivo la temperatura debe estar 12 a 22°C para evitar que el alimento disminuya su calidad, al someterse a cambios de temperaturas su pared celular se puede reventar (Anejl, 2018). Imagen microscópica de la microalga *Thalossiosira* **Figura 2**.

6.5.7. Taxonomía

Clase: Coscinoisophyceae

Orden: Thalassiosirales

Familia: Thalassiosiraceae

Figura 2
Thalossiosira



Nota. [Fotografía] microscópica

de *Thalossisira* obtenida de

iNaturalisMx. 2022

Género: Thalassiosira

6.5.8. Thalassiosira en producción acuícola

La función de esta microalga es alimentación en los estadios larvales de varias especies acuáticas en la cual se encuentra el camarón blanco al ser comercialmente activo en Ecuador, *Thalassiosira* aporta un muy buen contenido nutricional como ácidos grasos y proteína (Peña, 2021).

6.5.9. Valores nutricionales

Thalassiosira pseudonana es utilizada en la industria larvaria de camarones, la **Tabla 3** describe los valores nutricionales en porcentajes de proteínas, lípidos y carbohidratos.

Tabla 3
Valores nutricionales Thalassiosira pseudonana

| | |
|---------------|-------|
| Proteínas | 44.9% |
| Lípidos | 39.6% |
| Carbohidratos | 16.7% |

Nota. Los valores nutricionales fueron obtenidos de Salazar, 2022

6.6. Enfermedades en la larvicultura

Los cultivos de camarones han sido afectados por la presencia de patógenos los cuales se propagan por el medio de cultivo, en su gran mayoría son causados por virus y bacterias y en menos escala por hongos y parásitos. Varios patógenos han logrado sobrepasar la bioseguridad o sistemas elaborados que son ejecutados para evitar su presencia (Varela, 2018).

Se han registrado una variedad de enfermedades a nivel mundial, están enfermedades son de naturaleza tanto infecciosa o no infecciosa, el primer grupo de gran

interés son las de tipo viral y bacteriana, entre estas las causados por virus y vibrio las cuales son las que afectan significativamente a los cultivos (Sotomayor & Balcázar, 2003).

6.6.1. Bacterias Gram positivas y bacterias gram negativas

Al aplicarles un proceso químico como la tinción de Gram, adquieren diferentes colores al ser sus paredes celulares diferentes como describe la **Tabla 4**, las bacterias gramnegativas se tiñen de rojo y las grampositivas de azul (Bush, 2023)

Tabla 4
Bacterias gram positivas y bacterias gram negativa.

| | Descripción |
|--------------------------|--|
| Bacterias gram positivas | Las bacterias gram positivas se caracterizan para tener varias capas de peptidoglicano junto con ácidos teicoicos, esta característica ayuda a estabilizar la pared celular de las bacterias actuando como antígeno en la superficie celular. Para la identificación de estas bacterias se utiliza tinciones de color violeta. |
| Bacterias gram negativas | La diferencia de bacterias gram positivas estas se tiñen mediante safranina se tiñen de esta manera debido porque poseen una fina capa de peptidoglicano. |

Nota. La tabla fue descrita con la información proporcionada por Moncada, 2022

6.6.2. Enfermedades bacterianas infecciosas

En un sistema de cultivo larvario las bacterias han sido las principales causantes de las mortalidades, entre ellas se encuentra un tipo de bacterias pertenecientes al género *Vibrio*. Las infecciones que se presentan en la larvicultura son ocasionadas por bacterias que son oportunistas las cuales afectan al momento de debilidad de algún factor biótico o abiótico (Gómez et al., 2015).

6.6.3. Vibrios

En los estadios tanto de larva como postlarva son más susceptibles a contraer infecciones dadas por *Vibrio*. Al existir brotes de Vibriosis en los sistemas de cultivos son conocidos como “Bolitas Blancas”, “Vibriosis luminiscente” o “Vibrios” estas se diferencian por cepas que son totalmente diferentes a un ser luminiscente y la otra no. (Cuélla-Anjel, 2013).

6.6.4. Síndrome de Bolitas

Conocido como la enfermedad de “Bolitas” donde su primera aparición fue 1987 aumentando el porcentaje de mortalidad. La enfermedad es causada por una bacteria catalogada como *Vibrio harveyi*, la cual se presenta al momento de temperaturas bajas o cuando los nauplios son débiles. Sus síntomas son descamación de las células en las paredes hepatopáncreas y el intestino del organismo, muriendo de inmediato y con la posibilidad de perder el 100% de la población **Figura 3** (Muñoz, 2022).

Figura 3
Síndrome de Bolitas



Nota. [Fotografía] obtenida por Villacis, 2023

6.6.5. Síndrome de Zoea

A diferencia de las otras enfermedades estas generan una baja asimilación de alimento, debido a que las larvas dejan de comer de manera normal consecuyente de la falta de muda y orillándolos a la muerte aumentando de esta manera el ritmo de mortalidad. Los diagnósticos se observan anomalías en la hepatopáncreas y el intestino se ve afectando (Kumar, 2017).

6.6.6. Síndrome de mortalidad temprana (AHPND)

Es una enfermedad es considerada nueva en el cultivo de camarón blanco debido a que en sus inicios fue conocida como síndrome de mortalidad temprana. Al momento de su desarrollo se presencia el desprendimiento masivo de las células epiteliales pertenecientes del tracto digestivo o hepatopáncreas (R. Kumar et al., 2020). Se conoce que el agente causante de esta enfermedad es *Vibrio parahaemolyticus*, este tipo de bacteria es perjudicial solo para los camarones y no afecta al ser humano (Santos et al., 2020).

6.6.7. Hepatopáncreas necrotizante

Es una enfermedad que se ha reportado en laboratorios de larvas y camarónicas, se encuentra a nivel mundial. Se considera que la exposición al estrés por parte de los organismos son el causante principal para la presencia de patologías. Se ha realizado investigaciones de manera profunda para poder comprender la actividad de esta bacteria que actúa mediante toxinas que afecta a las células eucariotas de los organismos, su manera de infección es adhiriéndose a los tejidos de tal manera volviéndose resistente a los antibióticos. Los géneros que actúa de esta manera son *Salmonella*, *Mycrobacterium*, *Legionella* y *Brucella* (Sanjuan, 2013).

6.7. Calidad de agua durante el cultivo

La calidad de agua se convierte en un punto importante para tener la sostenibilidad de un cultivo *Litopenaeus vannamei*, la cual dependerá de las buenas prácticas que se apliquen a lo largo de la cadena alimenticia, sin embargo, la calidad de agua se puede ver afectado a pesar de la implantación de estas medidas si no se realiza una desinfección de tanques por cada fin e inicio de ciclo y tomar en cuenta también los parámetros nutricionales (Valle, 2020).

Se debe llevar un monitoreo continuo para poder garantizar unos niveles óptimos de calidad de agua en los cultivos, es prioritario realizar monitoreos de los parámetros los cuales deben tener una frecuencia, tanto el oxígeno disuelto y la temperatura debe ser monitoreados durante un par de veces por día, por lo tanto, la salinidad y pH son de forma rutinaria los cuales se debe monitorear cada 24 horas logrando identificar si ocurre una desviación de los rangos deseables (Celi, 2023).

6.8. Parámetros físico – químicos

Dentro del ciclo de producción de camarón blanco, el éxito de una buena producción son los parámetros físicos – químicos del agua, los valores deben ser óptimos,

previniendo afectaciones al desarrollo del organismo cultivado, a continuación, la **Tabla 5** describe los parámetros y los rangos apropiados.

Tabla 5
Parámetros físicos – químicos del agua

| Parámetro | Descripción | Rango |
|-------------|---|---|
| Temperatura | La temperatura incide sobre diferentes procesos fisiológicos los que son importantes para la supervivencia de la larva en sus primeros estadios, las variaciones de temperatura no son tolerados por la especie, ocasionándoles estrés y afectando a su desarrollo (Moura et al., 2021). | 29°C para la siembra. 32 -34 °C para mantenerlos. |
| Salinidad | Concentraciones de iones disueltos en el agua, la salinidad del mar a 34,4 ppm. Si se usa para el agua de mar natural los cationes deben tener concentraciones favorables como: Na ⁺ , 10500 mg L ⁻¹ , K ⁺ , 380 mg L ⁻¹ , Mg ²⁺ , 1350 mg L ⁻¹ , y Ca ²⁺ , 400 mg L ⁻¹ (Moura et al., 2021). | Mar: Sulfato 2700mg L ⁻¹ Bicarbonato 142 mg L ⁻¹ Cl 19000 mg L ⁻¹ K 370 mg L ⁻¹ Na 10500mg L ⁻¹ Ca 400 mg L ⁻¹ (Valle, 2020) |
| pH | Potencial de hidrogeno esencial para el desarrollo de los nauplios, el aumento de pH tendencia a alcalino o ácido afecta al proceso fisiológico y metabólico en larvas (Valle, 2020). | Nivel adecuado 7.5 a 7.7 |
| Alcalinidad | Conocido como tampón químico neutralizando ácidos disueltos en agua, la bases con mayor concentración son los carbonato y bicarbonato. Si la alcalinidad es menor a 40 ppm afectando al proceso de muda del organismo (Quimis et al., 2019) | Estudio base 450 Recomendación: <100 |

Nota. La tabla se describió con la información proporcionada por varios autores.

6.9. Bacterioplancton

El instituto del agua clasifica al bacterioplancton como un tipo de plancton que están compuestos por bacterias y arqueas, jugando un papel crucial en el reciclaje de nutrientes, descomponiendo materia orgánica muerta en su alimentación al igual que es parte de contribución del ciclo de carbono, el plancton se alimenta de fitoplancton

(Instituto del agua, 2024). Habitan en la columna de agua de todos los mares controlando los flujos de nutrientes a través de la re-mineralización de materia orgánica además juega un papel fundamental en el flujo de carbono. (Gonzales, 2016). Son consumidores o productores primarios dentro de ecosistemas acuático, al ser el único grupo de algas que es procariota es considera como bacteria (Biology Online, 2021).

6.10. Altas cargas bacterianas en cultivos

El estrés de los animales los hace susceptibles a bacterias oportunistas (FAO, 2004), por ende, se debe buscar un lugar amplio espacio para evitar el estrés en los animales evitando que sean propensos a bacterias que se encuentren presentes en un medio estresantes, por lo tanto, los sistemas intensivos son los más afectados por bacterias debido a que se aprovechan sus lugares reducidos afectando a su sistema inmunológico y alterándolo lo mismo (Guarnner, 2018).

6.11. Bacteriología

Conjunto de métodos que identifica y diagnostica de enfermedades bacterianas, al aplicar esta técnica se puede utilizar tanto en muestras de agua del cultivo o también partes del camarón las cuales puede estar afectadas. Para esta técnica se debe utilizar medios enriquecidos con nutrientes de tal manera que se desarrollan las bacterias que se encuentran presentes en las muestras, estableciendo el tipo de patógeno que es y seguidamente preparar un tratamiento adecuado (Morales & Cuéllar, 2014).

6.12. Métodos para detección de vibrios

Para efectuar el método se debe realizar el aislamiento de una bacteria mediante un tejido o hemolinfa de camarones que muestren sintomatologías que se relacionan con *Vibrios sp*, en el cual se prepara agar TCBS, agar TSA o agar de sangre en este se adiciona de 0.5 a 3% de Cloruro de sodio para poder lograr la identificación de cepas dañinas. El

uso de este método se pueden usar muestras de cualquier estudio de larva de camarón se debe tener en cuenta que debe existir la sospecha de la presencia de alguna patología (Soluap, 2019).

En el TCBS crecen varias especies de vibrios que se las puede caracterizar de acuerdo a su tamaño y coloración. La colonias de *V. parahaemolyticus* incubadas a 30 a 32°C crecerán en un lapso de 18 a 24 horas su aspecto es de color verde azulado con un tamaño de 1mm a comparación con las otras especies que son *Vibrio alginolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* se las observa con un color amarillo y con un tamaño que sobresalen de los 3 mm a diferencia que *V. alginolyticus* esta se representan por colonias granes, algo brillantes y con una leve mucosidad (Soluap, 2019).

6.13. Metodologías de cultivo microbiológico

6.13.1. Medios de cultivo sólidos.

Para que las bacterias puedan crecer en un medio seleccionado, debe contener las necesidades nutricionales requeridas, existen bacterias que solo necesitan azúcares, sin embargo, existen otras que necesitan medios más enriquecidos para la formación de colonias como describe la **Tabla 6** (Pozo, 2005).

Tabla 6
Tipos de medios de cultivo

| Medio de cultivo | Descripción |
|--|--|
| Agar Thiosulfato Citrato Sales Biliares (TCBS) | Medio de cultivo selectivo para el género <i>Vibrio</i> , inhibiendo el crecimiento de bacterias que puedan encontrarse en las muestras. Kobayashi, 2018). |
| Agar CETRIMIDE | Medio de cultivo sólido, su uso específico es para el aislamiento de <i>Pseudomonas spp</i> , inhibiendo el crecimiento de otro organismo (López, 2017). |

Nota. La información se obtuvo de diferentes autores, son los medios de cultivos utilizados en la experimentación.

6.14. Interacción bacterioplancton – Fitoplancton

El concepto "anillo microbiano" describe la interdependencia funcional entre bacterias y microalgas, mediante la transferencia recíproca de nutrientes orgánicos e inorgánicos. Las bacterias desempeñan un rol trascendental como recicladoras de la materia orgánica producida por las microalgas, adquiriendo la habilidad de absorber compuestos energéticos. La interacción a nivel microbiano presenta un marcado carácter específico, pudiendo manifestar efectos de simbiosis o antagonismo según la combinación de organismos involucrados (Peña, 2021). Estudios recientes indican que géneros bacterianos como *Vibrio*, frecuentemente colonizan cultivos fitoplanctónicos, transmitiéndose a través de la cadena alimentaria (García, 2017). En estos ecosistemas acuáticos de composición compleja existe una relación intrínseca de codependencia fisiológica entre las poblaciones microbianas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

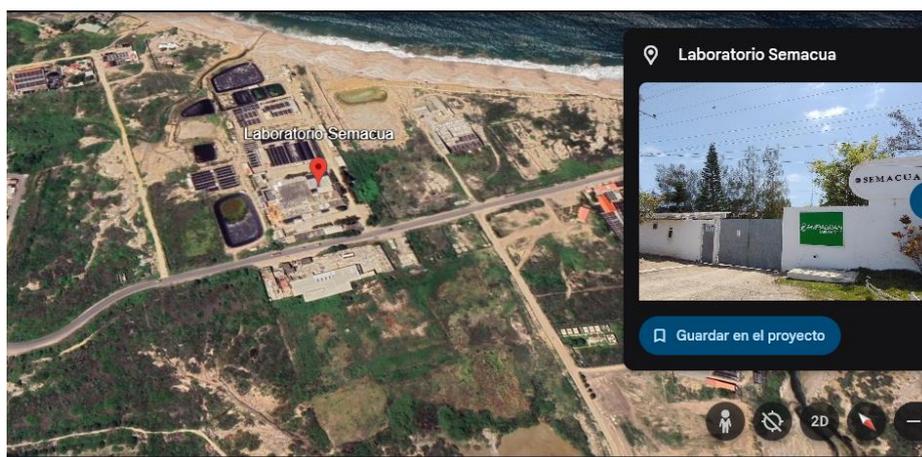
7.1. Tipo de estudio

El enfoque del proyecto es cuantitativo y experimental, observando la interacción entre bacterias y fitoplancton en la larvicultura. Cuantitativo se refiere a que se aplicara análisis estadísticos de los datos numéricos relacionados con la abundancia los cuales son obtenidos a largo de un período experimental, sin embargo, su enfoque experimental trata acerca de la toma de muestras tanto de la abundancia de fitoplancton y la cuantificación de unidades formadoras de colonias evaluando su relación. La investigación se realizó en los meses de mayo y abril.

7.2. Área de estudio

Se realizó el proyecto en las instalaciones del Laboratorio SEMACUA S.A **Figura 4** ubicado en la Provincia de Santa Elena, Anconcito, Ecuador con las coordenadas $2^{\circ}18'41''S$ $80^{\circ}53'43''W$.

Figura 4
Laboratorio SEMACUA S.A



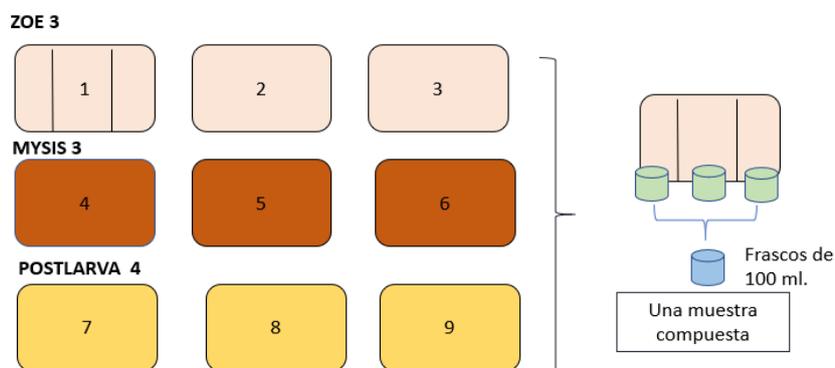
Nota: Imagen obtenida Google Earth en 2024

Diseño Experimental

7.3. Técnica de muestreo

La técnica aplicada de la toma de muestras, es una muestra compuesta de tres puntos del tanque los cuales son el lado izquierdo, derecho y obteniendo una sola muestra la cual se ubicará en un frasco estéril de 100 ml, como referencia la **Figura 5**.

Figura 5
Representación de la toma de muestras.



Nota: [Ilustración] que representa la toma de muestras compuestas.

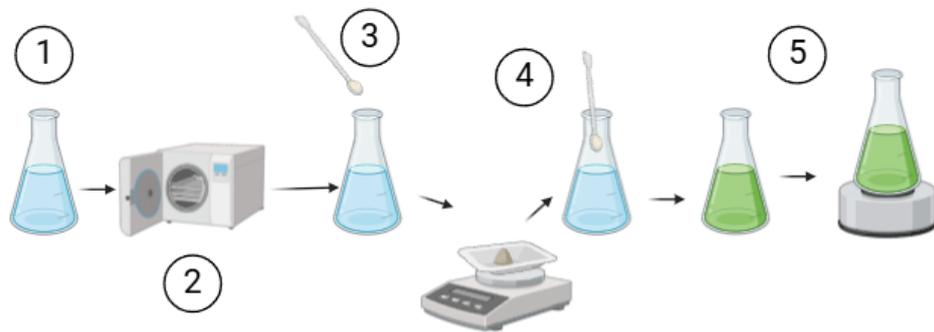
7.4. Preparación de medios de cultivo selectivos

7.4.1. Preparación de TCBS

Se colocó 1000 ml de agua destilada en una fiola o matraz Erlenmeyer que está esterilizado, se llevó la fiola a la autoclave para la posterior esterilización del agua. La fiola se extrajo de la autoclave dejando enfriar, se colocó cloruro de sodio dependiendo de la salinidad que se encuentre el medio que se va a cultivar. Se pesó y se colocó 89 gramos de agar TCBS en los 1000 ml de agua destilada y por último se llevó a ebullición el agar para luego dejarlo enfriar hasta los 45°C para colocarlo en cajas Petri estériles (BAM, 2001)

Una descripción gráfica de la preparación en la **Figura 6**.

Figura 6
Preparación de agar TCBS



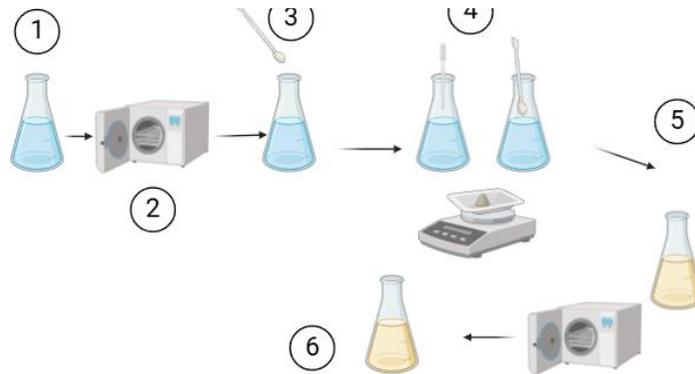
Nota: La [Ilustración] se realizó con la aplicación Biorender.

7.4.2. Preparación de CETRIMIDE

Se colocó 1000 ml de agua destilada en una frasco o matraz Erlenmeyer que se encuentre esterilizado. Se llevó la frasco a la autoclave para la posterior esterilización del agua. Se sacó la frasco de la autoclave dejarlo enfriar, colocar cloruro de sodio dependiendo la salinidad que se encuentre el medio que se va a cultivar. Pesar y colocar 46.5 gramos de agar CETRIMIDE en los 1000ml de agua destilada y 10 ml de glicerina. , llevar el agar a la autoclave y dejar enfriar hasta los 45°C para luego colocarlo en las cajas Petri (BAM, 2001)

Descripción de la preparación del agar CETRIMIDE **Figura 7.**

Figura 7
Descripción gráfica de la preparación del Agar



Nota: La [Ilustración] se realizó con el sitio de web Biorender.

7.5. Análisis microbiológicos – Cultivo de fitoplancton

Se obtuvieron unas muestras de 100 ml del cultivo masivo de microalgas mediante el empleo de frascos estériles perfectamente sellados. La extracción de las muestras se realizó a una profundidad de aproximadamente 1 cm, considerando el fototropismo exhibido por las microalgas que tienden a concentrarse en la parte superior del tanque.

Las muestras de 100 ml se transfirieron sin demora a la estación de trabajo aséptica. Se inoculó 1 ml de la muestra sin diluir directamente sobre la superficie interna de placas de Petri previamente esterilizadas (Peña, 2021). De forma simultánea, se vertió el medio de cultivo selectivo TCBS y Cetrímide fundido a 45°C, para permitir la solidificación e impregnación uniforme por capilaridad (Paniagua, 2016). Esta metodología de siembra permite la separación, exclusión y cuantificación, descripción gráfica en la **Figura 8**.

Figura 8

Preparación para el análisis microbiológico de los masivos de fitoplancton



Nota: La [Ilustración] fue realizada con el sitio web de Biorender

7.6. Presencia de bacterioplancton y fitoplancton en cultivo de larvas

7.6.1. Análisis microbiológicos – Tanques de larvas

La colecta de muestras de agua se realizó de manera estratégica para obtener una muestra compuesta de tres tanques de cada etapa Mysis 3, Zoea 3 y PostLarva 4 durante dos ciclos de producción. Se realizaron tres medios de cultivo por agar de los tres tanques. El sembrado se realizará antes del recambio del agua.

7.6.2. Conteos de unidades formadoras de colonias

Incubar las placas de TCBS a 35°C durante una noche (Kaysner et al., 2004) y en CETRIMIDE durante 48 horas a 42°C (Balmaceda, 2005).

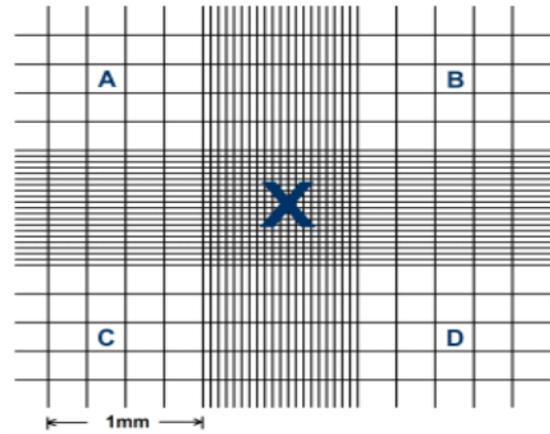
Se realizó el conteo de las colonias formadas en las placas y para obtener la UFC se aplica la siguiente formula:

Número de colonias x Número de dilución= Unidades formadoras de colonias

7.6.3. Conteos de fitoplancton

Se utilizó un hemocitometro de 0.1 mm de profundidad con reglilla de Neubauer. Esta consta de 9 cuadros con lados de 1mm, las diatomeas al tener un tamaño mayor de 6 um los conteos se hacen en los cuadros marcos como **A**, **B**, **C** y **D** (Arredondo & Voltonia, 2007). **Figura 9**

Figura 9
Reglilla de Neubauer de 9 mm²



Nota. La imagen fue obteniendo de Arredondo & Voltonia, 2007

Cálculos de recuento celular

Al contar los puntos **A**, **B**, **C** y **D** se aplica la siguiente formula:

$$C = N \times 10^4 \times \text{dil}$$

Donde:

C= cél/ml

N= promedio de celular presente en 0.1 ul

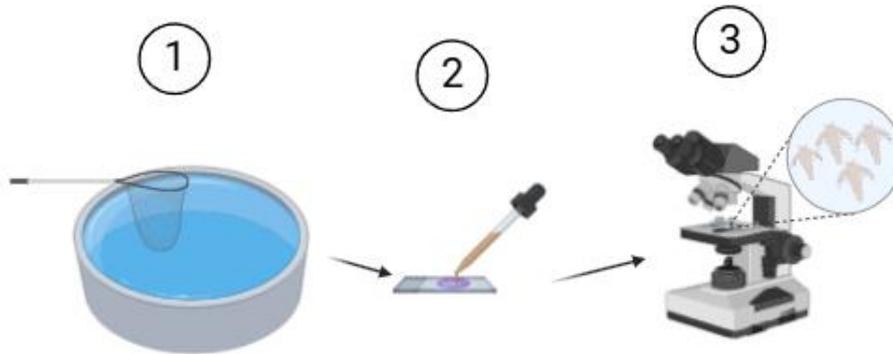
dil= total de ml de muestra si se usó una dilución considerar la cantidad de solución y el número de muestras.

7.7. Análisis de microscópico en larvas

Se tomaron las muestras de acuerdo al tamaño muestral basado en la estimación de la prevalencia de un patógeno en una población de camarón **Figura 10**. El tamaño de la población para un 10% de prevalencia es de 30 individuos. (Amos, 1985).

Figura 10

Ilustración para la toma de muestras para el análisis microscópico.



Nota. 1. Recolección de la muestra con la ayuda de una red. 2. Colocación de la muestra en el portaobjeto. 3. Visualizar la muestra en microscopio.

7.8. Análisis de salud de las larvas

De acuerdo a la **Tabla 7** se dio una valoración a las larvas mediante la observación microscópica, para la valoración de necrosis y lípidos se estableció rangos de 0 a 4 y el 90% del desarrollo branquial positivo.

Tabla 7

Tabla de valoración de salud de larvas mediante observación microscópica.

| Piscina # | Desarrollo Branquial | Necrosis branquias | Necrosis apéndices | Necrosis muscular | Lípidos |
|-----------|----------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------|
| Rangos | 90% Ok | 0 – 4 | 0 – 4 | 0 – 4 | 0 – 4 |

Nota: Los rangos se establece como 0 como presencia nula, 1 nivel bajo, 2 medio, 3 elevado y 4 alto. La tabla de valoración patológica fue proporcionada por Mendoza, 2024.

7.9. Análisis microbiológicos en larvas

Se tomaron muestras compuesta por tanque de cada estadio Zoea 3, Mysis 3 y PostLarva como describe la **Figura 5**. Se lavaron las larvas con ayuda de agua destilada estéril y con ayuda de una pinza previamente flameada en un mechero, se colocaron 1 gr de la muestra en tubo Eppendorf, para ser macerada y diluidas en 9ml de agua destilada y siendo sembrada con 1ml de manera directa (Zambrano, 2023).

Incubar las placas TCBS a 35 °C durante una noche (Kaysner et al., 2004) y en CETRIMIDE durante 48 horas a 42°C (Balmaceda, 2005). Se realizó el mismo procedimiento de conteo de UFC mencionado anteriormente.

7.10. Análisis de parámetros físico químicos

Para medir alcalinidad se usa el equipo de HANNA **Figura 11** para acuarios de agua salada, calculando la colorimetría y proporcionado unidades dKH.

Figura 11
HANNA INSTRUMENTS



Nota. Instrumento dado por el laboratorio para medir alcalinidad

Los parámetros como salinidad, pH y temperatura se midieron con el equipo Medidor Digital 5 en 1 multiparámetro **Figura 12**.

Figura 12
Multiparámetros



Nota. Multiparámetro para medir pH y temperatura

7.11. Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se utilizaron los Softwares Minitab 18 y Past4.

7.11.1. Past 4

Software utilizado para ámbitos biológicos con varios tipos de pruebas, en este se utilizó para realizar pruebas de normalidad de las variables y obtener la correlación mediante una matriz de correlación.

- Pruebas de normalidad

Se aplicó el test de Shapiro-Wilk W de Past 4, planteado una hipótesis nula que una muestra es de distribución normal y la alternativa sostiene que no es una distribución normal, el nivel de significancia es 0,05.

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

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

- Correlación de datos

En las pruebas no paramétricas se aplicó Correlación de Spearman's entre dos variables aleatorias, calculando el valor de p, donde los valores oscilan entre -1 y +1, indicando asociaciones positivas o negativas.

En las pruebas paramétrica se aplicó la Correlación de Pearson de igual que Spearman's, los valores del índice es de -1 y +1 y el valor de p determinada el nivel de significancia.

7.11.2. Minitab 18

Es un software el cual nos permite realizar correlación de Pearson y Spearman's con proporcionado el valor de confiabilidad.

CAPITULO IV

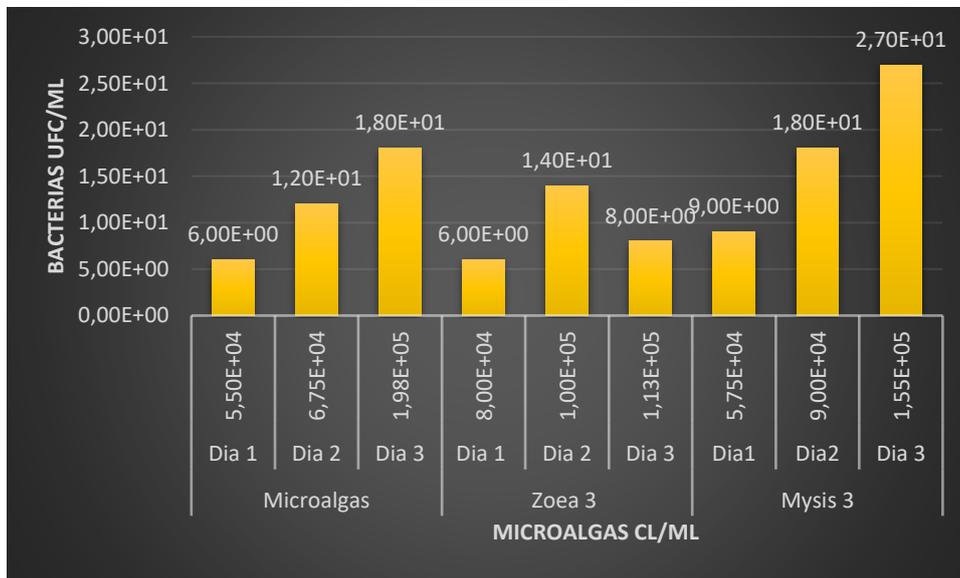
8. RESULTADOS

8.1. Determinación la presencia de bacterioplancton en cultivos de fitoplancton.

La abundancia de fitoplancton va creciendo de acuerdo a los días de cultivos. En el masivo destinado para Zoea 3 el valor más alto de presencia de bacterias se dio en el día dos de cultivo $1.40E+01$ ufc/ml y $1.00E+05$ cl/ml de fitoplancton, sin embargo, el mayor número de unidades formadoras de colonias que se dio con el masivo destinado para Mysis 3 con $2.70E+01$ ufc/ml y $1.5E+01$ cl/ml de fitoplancton y $6.00E+00$ ufc/ml en el día 1 de un masivo de control obtuvo el valor más bajo de acuerdo al crecimiento de bacterias **Figura 13**.

Figura 13

Gráfico en barras de abundancia de microalgas cel/ml y bacterias presencia de bacterias ufc/ml, Primera ciclo de producción

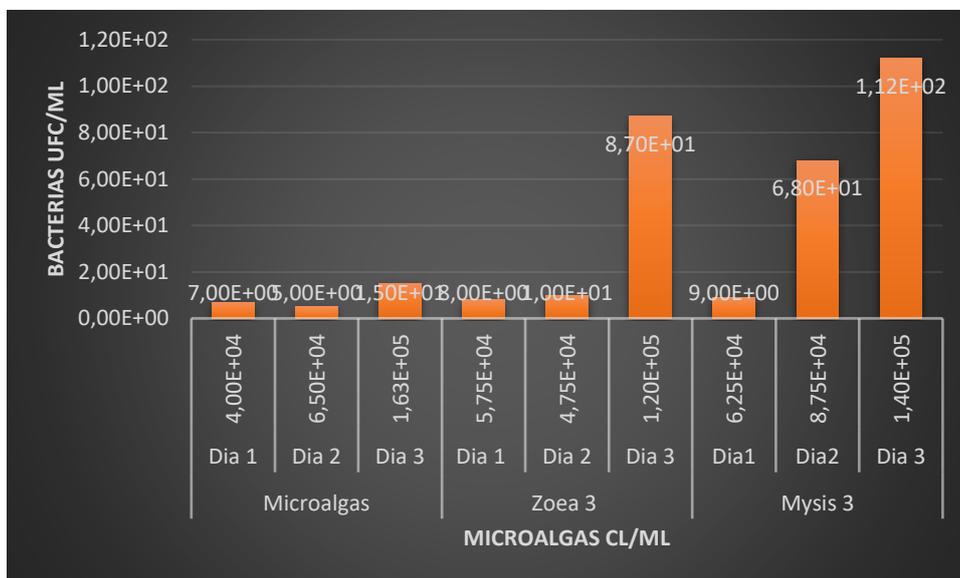


Nota. Los valores de abundancia de fitoplancton cel/ml están representados en exponente

Los valores obtenidos de bacterias y fitoplancton en el segundo ciclo de producción, donde igual que el anterior ciclo de producción la mayor presencia de bacterias se da en el masivo destinado para Mysis 3 en su tercer día de cultivo con un valor de 1.12E+02 ufc/ml el valor es mucho más alto que el de la primera corrida **Figura 14.**

Figura 14

Gráfico en barras múltiple de abundancia de microalgas cel/ml y bacterias ufc/ml, Segunda corrida



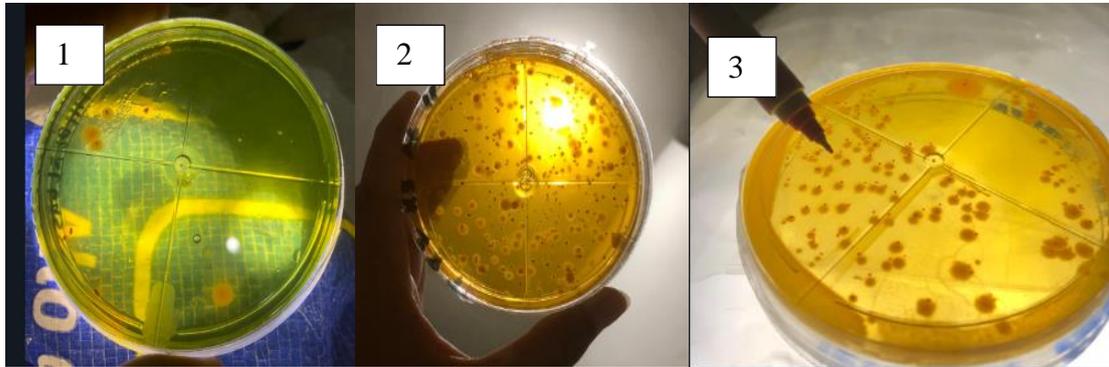
Nota. Los valores de abundancia de fitoplancton cel/ml están representados en exponente.

8.1.1. Caracterización de bacterias

La **Figura 15** se muestra la presencia en las placas de análisis microbiológico de bacterias en los sistemas de cultivo de larvas y fitoplancton, al ser agares selectivos el porcentaje de confiabilidad sin embargo no se descarta que puede presenciarse otro tipo

de bacterias, sin embargo, no es el caso debido a la coloración que presentan es característico del género *Vibrio*.

Figura 15
Medios de cultivo TCBS



Nota. (1) Presencia de vibrio en microalgas, (2) Tanque 87 presencia de vibrio estadio M3. (3) Cuantificación de unidades formadoras de colonias.

No se evidencio presencia de *Pseudomonas* en ninguno de los sistemas de cultivos.

8.1.2. Correlación entre ufc/ml y fitoplancton.

Se realizo la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk donde el valor de p es mayor a 0.05 en unidades formadoras de colonias con un valor de 0.28 y microalgas con 0.17 de esta manera determinado que son datos paramétricos y aplicar la correlación de Pearson. La **Tabla 8** nos menciona que, si existe una correlación positiva moderada entre las variables, el valor de p 0.043 es menor que el valor p común mente utilizado que es ($p < 0.05$) de tal manera que se rechaza la hipótesis nula la cual se plantea que no existe una correlación entre las variables, aceptando con un 95% de confianza la hipótesis verdadera.

Tabla 8
Correlación de Pearson de CI entre ufc/ml y Microalgas.

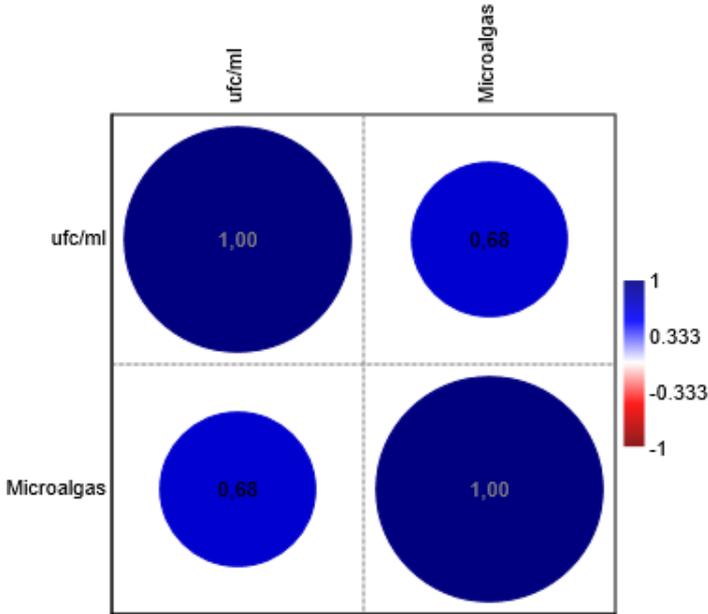
| | Valores |
|------------------------|---------|
| Correlación de Pearson | 0.685 |

| | |
|---------|-------|
| Valor p | 0.042 |
|---------|-------|

Nota. Se expresaron los valores en logaritmo para realizar la correlación usando el software de Minitab 18. Ho: Existe una correlación entre las variables. H1: No existe una correlación entre las variables.

La **Figura 16** la matriz de correlación realiza obtenemos los valores de correlación de 0.69 mostrándonos que existe una correlación moderada entre las variables estos nos muestra que si una variable aumenta por consecuente la otra aumenta.

Figura 16
Matriz de correlación entre ufc/ml y microalgas de C1.



Nota. La matriz de correlación representa de manera gráfica la correlación entre dos variables, a partir del 0.333 y -0.333 son valores significativos los cuales se los visualiza por colorimetría el color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa.

En la prueba de normalidad los datos obtenidos fueron mayores a 0,05 de esta manera interpretando que son datos paramétricos, la **Tabla 9** representan los valores de

la correlación de Pearson es 0.698 resultante una correlación positiva moderada y el valor de p es menor que 0.05 rechazando la hipótesis nula de no existir correlación.

Tabla 9

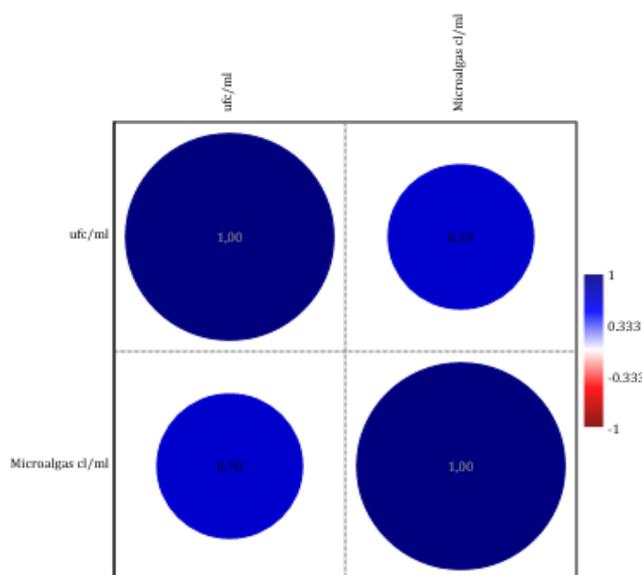
Correlación de Pearson de C2 entre ufc/ml y Microalgas.

| Valores | |
|-------------------------|-------|
| Correlación de Spearman | 0.698 |
| Valor p | 0.036 |

Nota. Se expresaron los valores en logaritmo para realizar la correlación usando el software de Minitab 18. Ho: Existe una correlación entre las variables. H1: No existe una correlación entre las variables.

La matriz de correlación nos da una visualización de la correlación entre las dos variables, demostrándonos que de igual manera que C1 la correlación es positiva entre las dos variables demostrando que mientras una aumenta por consecuente la otra variable aumenta. **Figura 17.**

Figura 17
Matriz de correlación entre ufc/ml y microalgas cl/ml de C2.

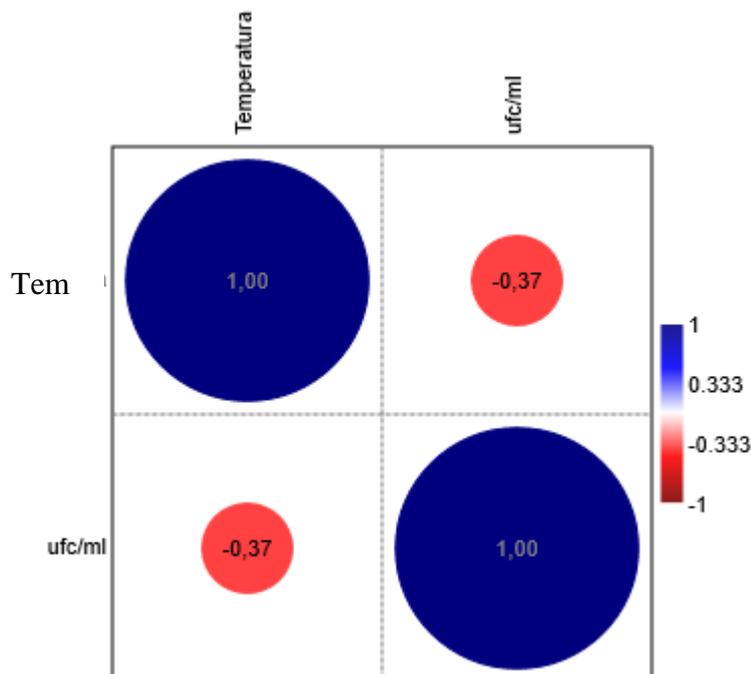


Nota. La matriz de correlación representa de manera gráfica la correlación entre dos variables, a partir del 0.333 y -0.333 son valores significativos los cuales se los visualiza por colorimetría el color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa.

8.2. Correlación entre el parámetro físico con el crecimiento bacteriano en los tanques de larvas.

Los parámetros físicos que se correlaciona es la temperatura en relación al crecimiento bacteriano para esto aplicamos correlación de Spearman después de realizar la prueba de normalidad obteniendo 0.01 que son datos no paramétricos. La **Figura 18** se observa que entre UFC y temperatura la correlación es negativa débil de un -0.37 reflejando que cuando una variable aumenta la otra tiende a disminuir y viceversa.

Figura 18
Matriz de correlación de Pearson en Past4.

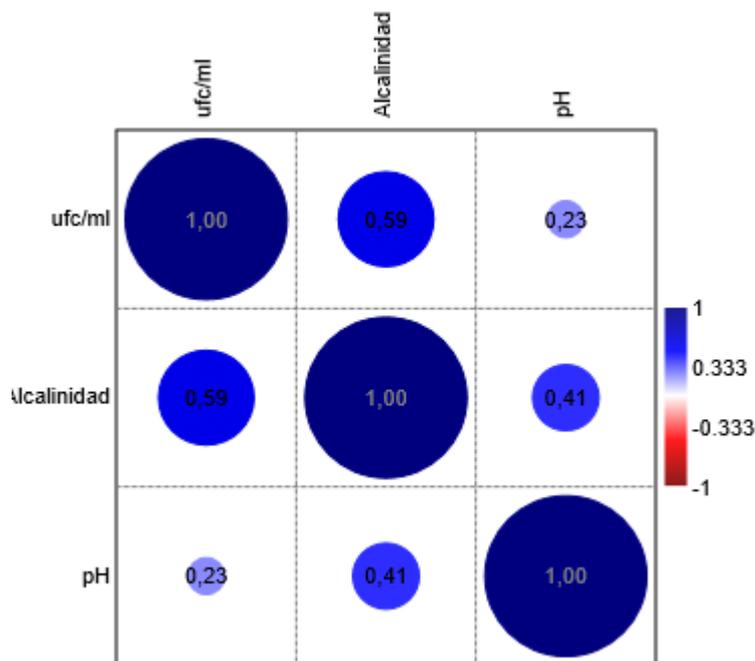


Nota. Los valores se estandarizaron con logaritmo, obtenido valor de correlación entre cada una de los variables, para una mejor comprensión se distingue por colorimetría el azul como una correlación positiva y rojo como una correlación negativa.

8.3. Correlación entre los parámetros químicos y el crecimiento bacteriano.

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk se obtuvieron valores menores a 0.05 como lo son con 0.01 en unidades formadoras de colonias, 0.0001 en alcalinidad y 0.15 de pH se concluye que son datos no paramétricos y realizar la correlación de Spearman donde se obtuvo una correlación positiva moderada 0.59 con ufc/ml y alcalinidad, con pH y ufc/ml de 0.23, entre los dos parámetros químicos una relación positiva de 0.41 mientras una aumenta la otra por consecuente aumenta **Figura 19.**

Figura 19
Matriz de correlación entre ufc/ml, alcalinidad y pH



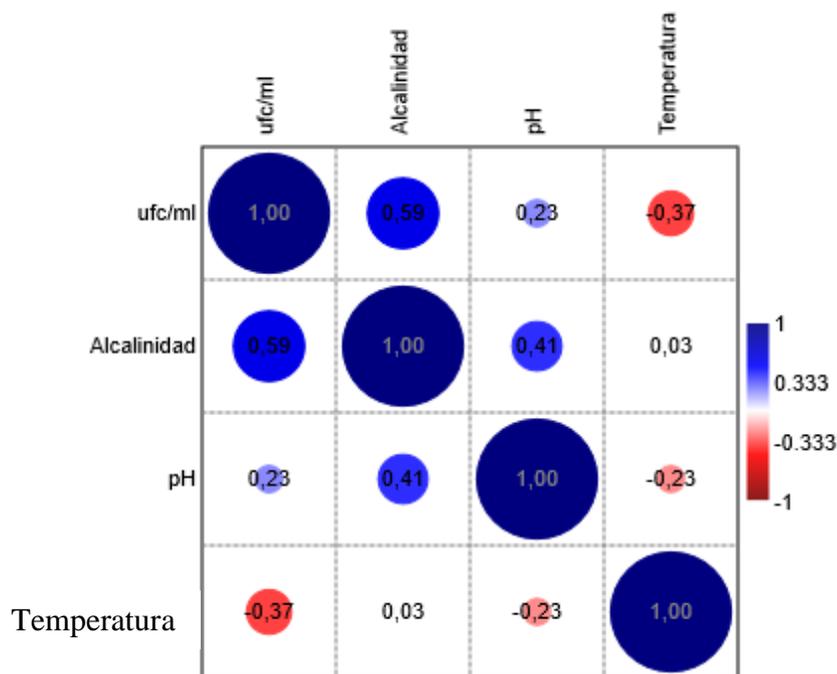
Nota. Los datos fueron estandarizados a logaritmo 10.

8.4. Correlación de parámetros físicos y parámetros químicos.

Con la correlación de Spearman r , obtuvieron una correlación negativa débil cerca de una moderada en las variables de temperatura correlación con ufc/ml, entendiendo que son valores que si aumentan una variable por consiguiente la otra disminuye. Las variables que tiene una correlación positiva alcalinidad con pH y viceversa, de la misma manera pH, alcalinidad y ufc/ml tienen una correlación positiva **Figura 20**.

Figura 20

Matriz de correlación de parámetros físicos y químicos.



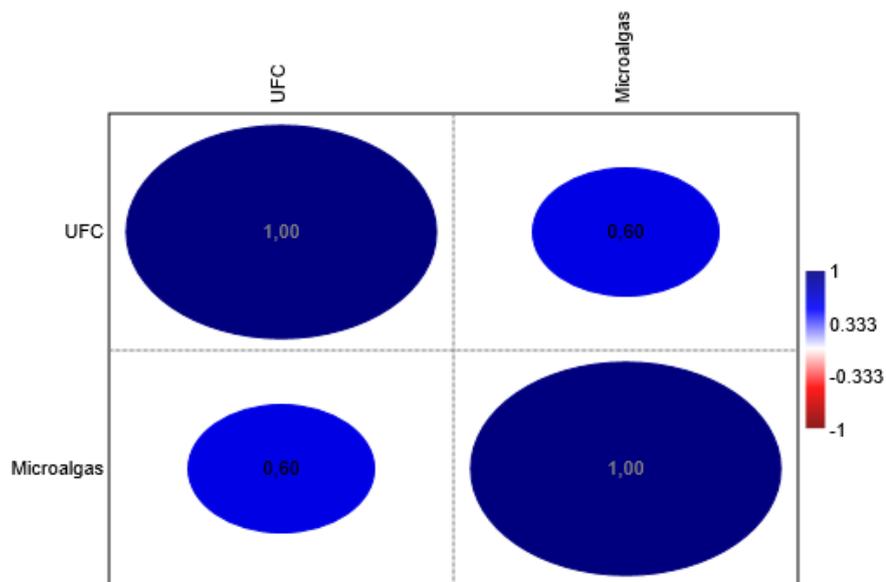
Nota. Se normalizaron los datos aplicando logaritmo para estandarizándolos.

8.5. Correlación entre bacterias y fitoplancton dentro de un medio controlado.

La liberación de carbono por parte de las microalgas se transfiere al aumento de proliferación de bacterias, a sí mismos la alta carga bacteria puede acabar con la floración algal. De acuerdo a la matriz correlación los datos obtenidos en la **Figura 21** se observa que la correlación es positiva moderada para definir que es moderada el valor debe ser mayor o igual a 0.5. Se determina que una variable dependerá de otra al momento que una variable aumenta en este ufc/ml por consiguiente la otra aumenta microalgas, como

se menciona anteriormente esta correlación se da al ser que las microalgas liberan carbono de esta manera estableciendo una relación dependiente, sin embargo las bacterias se benefician por la presencia de microalgas pero esto no ocurre de manera reciproca las microalgas no se benefician de las bacterias.

Figura 21
Matriz de correlación UFC y Microalgas en tanques de larvas.



Nota. Matriz de correlación realizada en Past 4.

- Minitab 18

Se realizó una hipótesis nula y una verdadera donde:

H_0 : Existe una relación estadísticamente significativamente entre los valores UFC y Microalgas, y que tiene una correlación positiva

H_1 : No existe una relación estadísticamente significativamente entre los valores UFC y Microalgas, de tal manera que no tiene correlación.

Tabla 10
Correlación de Spearman

| Correlaciones | |
|-----------------|-------|
| Rho de Spearman | 0.600 |
| Valor p | 0.008 |

Nota. Prueba de correlación realizada en MiniTab 18

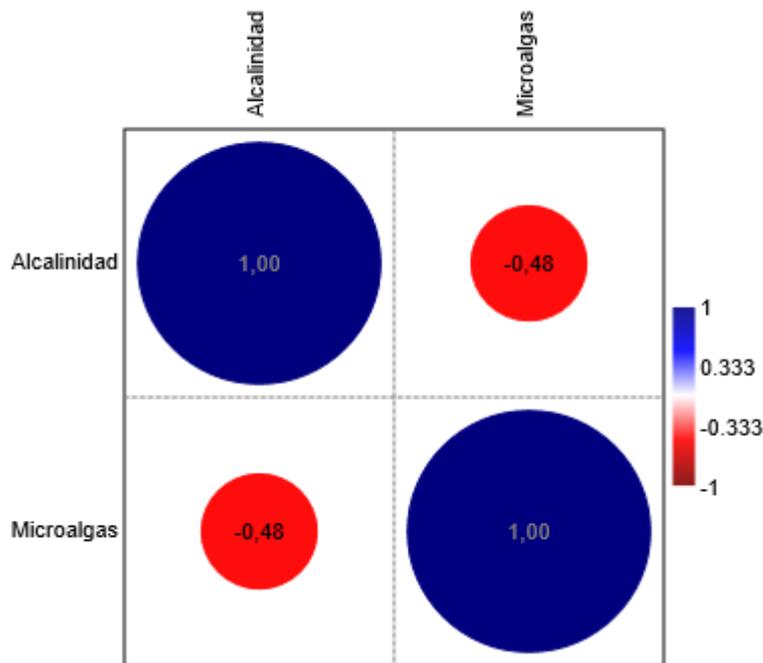
Al ser el valor p menor que 0.05 ($p = 0.008$) al ser muy baja menos del 5% podemos aceptar la hipótesis alternativa y rechazar la hipótesis nula, debido a que la probabilidad es baja de que sean datos al azar con una confianza de un aproximado de del 99% casi perfecta. Rho Spearman es de 0.6 dando una correlación positiva moderada obteniendo el mismo dato que al realizarlo en past4.

8.6. Correlación de parámetros químicos con microalgas en el cultivo de larvas.

Al momento del crecimiento de microalgas aumenta el consumo de CO₂ reduciéndolo y desplazando de esta manera el equilibrio en carbonatos debido a que la disminución de CO₂ empieza la formación más carbonato y bicarbonato, haciendo que la alcalinidad aumente, aumentando la capacidad de neutralizar ácidos. A diferencia de lo que ocurre en el masivo en los tanques existe una correlación de negativa -0.48 , a medida que una variable aumenta la otra tiende a disminuir, esto puede darse por varios factores como el cambio del metabolismo de microalgas a avanzadas etapas de crecimiento pueden entrar a una fase estacionaria reduciendo su capacidad fotosintética el cual podría ser el resultado de que en los tanques se busca controlar los parámetros evitando que afecten al crecimiento de larvas, controlando también que las microalgas no agoten los nutrientes, otros factores que pueden influir son los recambios de agua.

La **Figura 22** la correlación de Spearman debido que los datos se sometieron a una prueba de normalidad y los valores p es menor que 0.05 por ende se estable que son datos no paramétricos, la correlación obtenida es de -0.48 con valor de p de 0.046 demostrando que son valores significativos y rechazando la hipótesis de que no existe correlación entre las variables.

Figura 22
Matriz de correlación entre microalgas y alcalinidad en los cultivos de larvas.



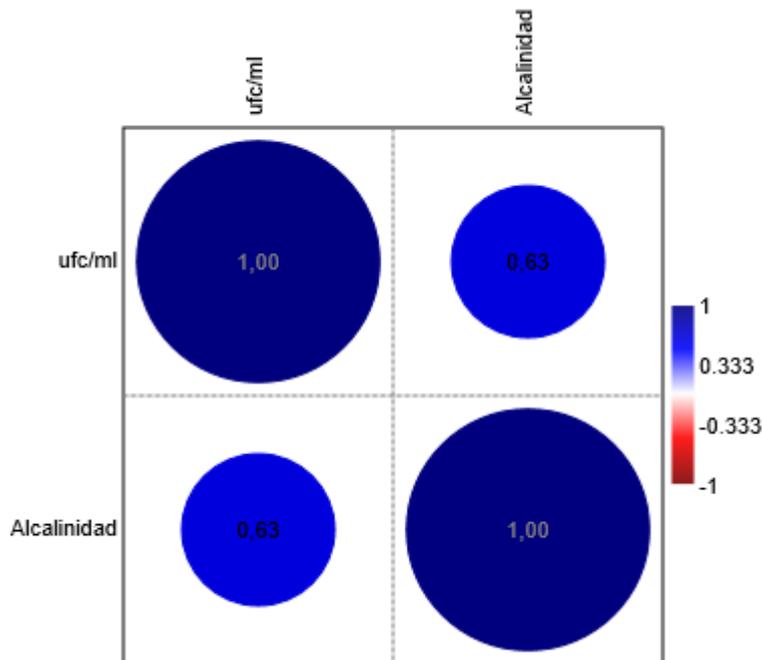
Nota. La correlación es negativa moderada, los datos son estandarizados en Logaritmo.

8.7. Correlación entra alcalinidad y ufc/ml en los tanques de larvas

La correlación positiva 0.59 con la correlación de Spearman **Figura 23**, entre la alcalinidad y las ufc/ml, las bacterias se encuentran relacionadas con la alcalinidad tendiendo si una aumenta por consecuente aumenta la alcalinidad, por motivo de que las bacterias participan en la descomposición de materia orgánico de esta manera liberado dióxido de carbono y ácidos aumentando el nivel de alcalinidad, al aumento de la

alcalinidad se presenta un medio favorable para las bacterias obteniendo nutrientes por su capacidad de degradación de materia orgánica que aumenta a la presencia de mayor alcalinidad .

Figura 23
Alcalinidad y ufc/ml en tanques de larvas.



Nota. Los datos se estandarizaron con logaritmo 10.

8.8. Análisis de unidades formadoras de colonias por estadio

La **Figura 24** nos muestra los valores de ufc/ml del agua de los tanques de larvas y ufc/ml de las muestras del animal, en la ciclo de producción 1 (C1) en la muestra de agua el tanque 71 presenta los valores altos en los estadios de Zoea 3 de $8.40E+01$ ufc/ml y Postlarva $2.26E+02$ ufc/ml y en Mysis el tanque 61 presenta $8.40E+01$ ufc/ml, para la ciclo de producción 2 (C2) los valores máximos se da en el tanque 87 en los estadios Zoea 3 con $2.26E+02$ ufc/ml, Mysis 3 con $2.34E+02$ ufc/ml y Postlarva con 4 en el tanque 84 de $2.47E+02$.

En las muestras realizadas en larvas en C1 el tanque 61 presenta los valores máximos en los estadios de Zoea 3 con $8.50E+01$ ufc/ml en Postlarva 4 con $1.15E+01$ ufc/ml y en Mysis 3 el tanque 55 presenta $1.30E+01$ ufc/ml, en la C2 en estadio de Zoea 3 el tanque 87 tiene el valor máximo de $4.80E+01$ ufc/ml, en Mysis el tanque 84 tuvo un valor de $8.50E+01$ ufc/ml y en el tanque 82 el valor máximo fue de 2.90 ufc/ml.

Figura 24
Representación en barras de bacterias presentes en los tanques y larvas.



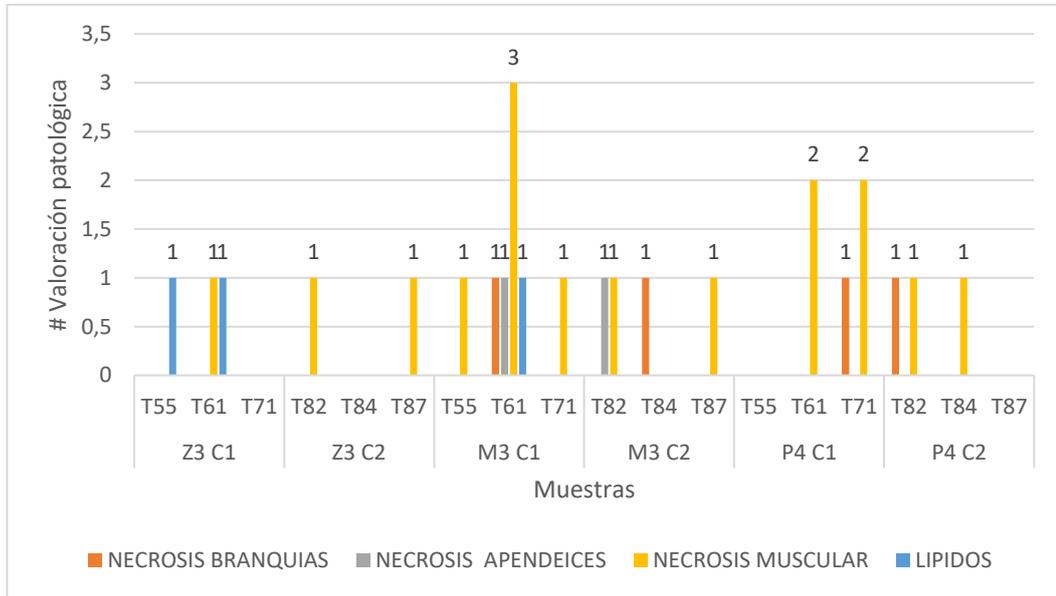
Nota. Ilustración de los dos ciclos de producción, de la presencia de bacterias presentes en los tanques y en las larvas.

8.9. Análisis de salud de las larvas

Para el análisis de larvas se realizó utilizando una tabla donde se categorizaron los niveles de severidad de 0 como leve y 4 como alto, en los ámbitos de necrosis branquial, apéndices, muscular y la presencia de lípidos en la hepatopáncreas **Anexo 3**. La **Figura 25** en este podemos interpretar que en el estadio Mysis 3 pertenecientes al ciclo de

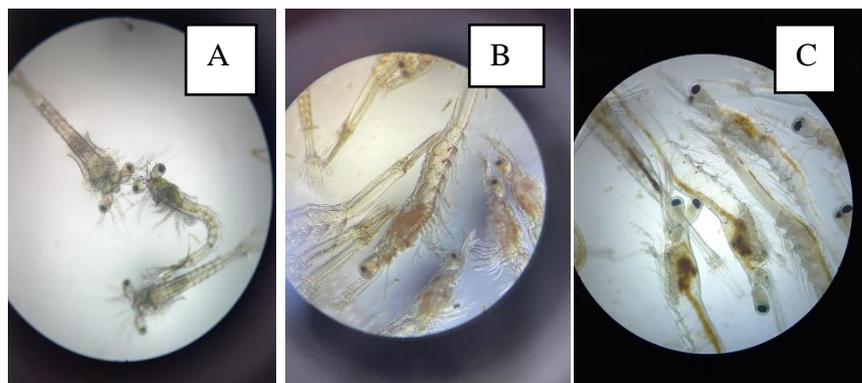
producción 2 en el tanque 61 se presenta una necrosis muscular categorizada como 3 tentativamente alto y los demás estadios se mantiene en rangos de 1 a 2 que son bajos.

Figura 25
Patología en larvas, valoración microscópica.



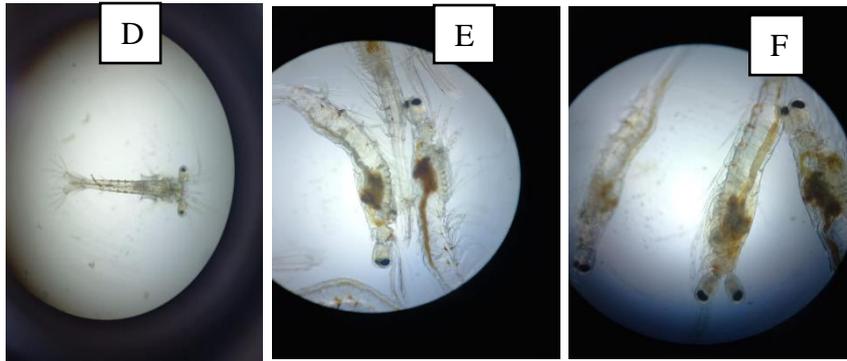
Nota. Gráfico de barras de patología de larvas realizada en Excel.

Figura 26
Valoración patológica en larvas de camarón C1.



Nota. (A) Zoea 3, No presenta necrosis, no lípidos deformidad por falta de potasio, (B) Mysis 3, Presenta necrosis muscular grado 3 y (C) Postlarva 4, No presenta anomalías. Las valoraciones patológicas son de C1.

Figura 27
Valoración patológica de larvas de camarón C2.

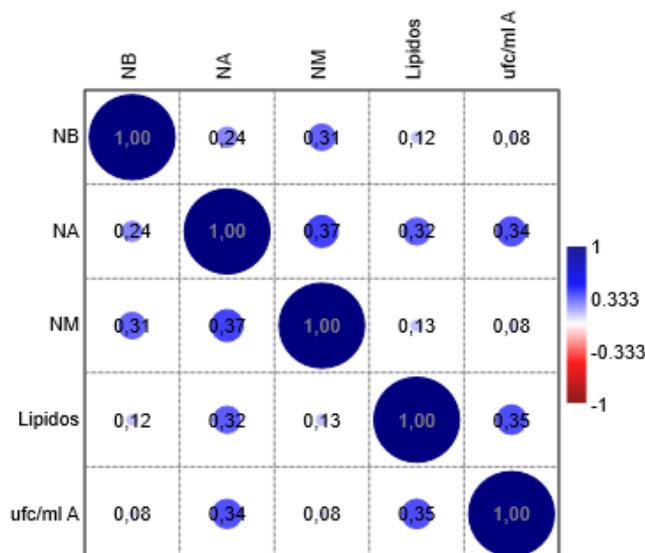


Nota. (D) Zoea 3, No presenta deformidad. (E) Mysis 3, Presenta necrosis muscular grado 1. (F) Postlarva 4, Necrosis muscular grado 2. Las valoraciones patológicas son de C2.

8.9.1. Correlación de salud de larvas con bacterioplancton.

De acuerdo a la prueba de normalidad de Shapiro Wilk el cual el valor de p fue menor a 0.05, se aplicó la correlación correspondiente Spearman, obtenido la matriz de correlación donde lo datos que se obtuvieron se encuentran correlacionados positivos entre sí **Figura 28**.

Figura 28
Matriz de correlación de salud de larvas con ufc/ml de los organismos.



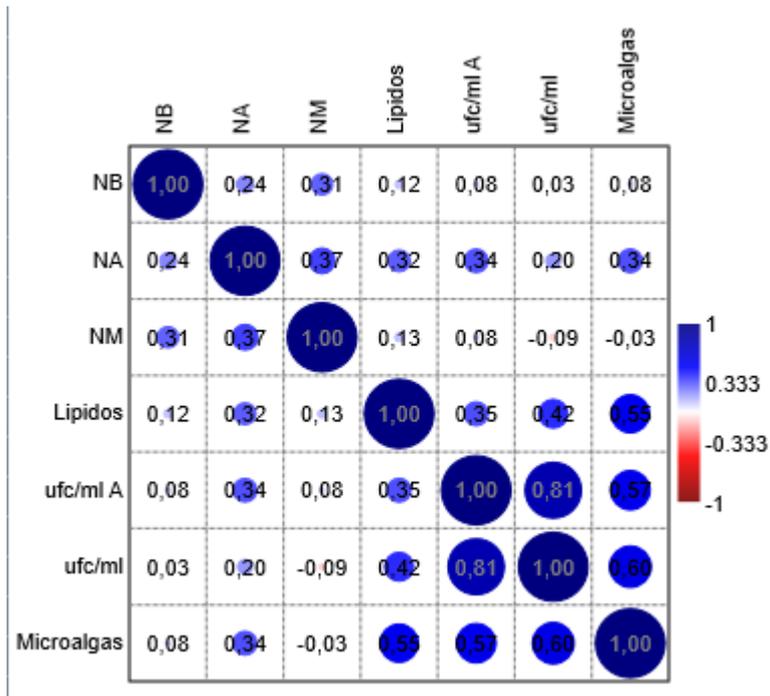
Nota: Los datos fueron estandarizados con logaritmo. Necrosis Branquial (NB), Necrosis apéndices (NA), Necrosis muscular (NM y ufc/ml en animales (ufc/ml A).

Los datos reflejan que la correlación es positiva y moderada entre UFC y necrosis muscular siendo este un indicativo que entre una variable aumenta por consiguiente aumenta la siguiente variable y en entre las demás variables existe una correlación débil positiva.

8.10. Incidencia de la relación entre bacterioplancton y fitoplancton con la salud de larvas.

Se observó que la correlación más alta se presenta en microalgas – UFC y UFC (agua) y UFC (animal) puntuándolas con correlaciones moderadas cerca de ser una correlación alta, sin embargo, con las demás variables tiene correlaciones positivas débiles o moderadas, de acuerdo a Spearman nos menciona que si la correlación es positiva son variables que al aumentar una de ellas por consiguiente aumenta la siguiente variable, tomando en cuenta lo dicho se puede afirmar que si el bacterioplancton y su interacción positiva con fitoplancton en el medio afecta a la salud de larvas proporcionando la presencia de bacterioplancton dentro del animal relacionándolos con el nivel de necrosis **Figura 29**.

Figura 29
Correlación de patología de larvas, ufc/ml y microalgas.



Nota. Necrosis Branquial (NB), Necrosis apéndices (NA), Necrosis muscular (NM y ufc/ml en animales (ufc/ml A).

9. CAPITULO IV

10. DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

10.1. DISCUSIÓN

En el actual proyecto de investigación se realizó con el propósito de entender la correlación que existe entre bacterioplancton y fitoplancton dentro de los cultivos de larvas al ser un medio de cultivo controlado y como esto incide a la salud de larvas. Es considerado que la interacción de estas variables tiene un impacto tanto en la calidad del agua y afectando al desarrollo larval.

De acuerdo al artículo Yang y colaboradores (2019) menciona que las comunidades de bacterioplancton en diatomeas están dominados por bacterias de los órdenes Xanthomonadales, Vibrionales y de la familia Pseudoalteromonadaceae, en esta investigación realizada se encontró la presencia de vibrios que pertenece al orden Vibrionales. De acuerdo a la investigación de Yang et al 2019 al realizar un análisis de conectividad concuerda que existe una influencia significativa del fitoplancton sobre el bacterioplancton durante el cultivo de camarón.

En los datos obtenidos del análisis microbiológico en las larvas pertenecientes a tres estadios Zoea 3, Mysis 3, Postlarva 4, donde Zoea 3 se reflejaron la presencia de vibrios de $8.40E+01$ ufc/ml, en Mysis 3 de $8.40E+01$ ufc/ml y Pl4 con $2.26E+02$ ufc/ml, sin embargo, en comparación con los datos obtenidos de la investigación realizada por (España et al., 2023) con el tema Caracterización microbiológica de un ciclo de cultivo de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) la presencia de vibrios en Zoea 3 es de $4.22E+05$ ufc/g, en Mysis 3 un $5.60E+05$ ufc/g y por último en PostLarva 4 con $1.57E+06$ ufc/g, los datos presentados se diferencia a gran escala con los datos obtenidos

en esta investigación, sin embargo, concuerdan que en el estadio P14 es la presencia máxima de vibrios.

Los resultados obtenidos en el aspecto de correlación positiva entre el abundancia de microalgas y la presencia de bacterias coincidiendo con los resultados de la investigación realizada por Uthpala y colaboradores (2023) en cuál busca las interacciones de microalgas y bacterias en ecosistemas acuáticos aplicando metodología de coocurrencia basadas en el gen 16s rRBA, utilizaron datos de 10 proyectos de microbioma de la Tierra identificando las posibles asociaciones entre microalgas y bacterias en los ecosistemas acuáticos, observando un grado alto de agrupamiento en los módulos micro algales-bacterianos llegando a la conclusión que los resultados que obtuvieron concluyen que independientemente del que entorno, las microalgas están asociadas con tipos funcionales de bacterias.

La interacción de bacterias y microalgas es positiva, mientras una variable aumenta la otra experimenta un crecimiento paralelo, totalmente diferente a la investigación realizada por Mito, (2017) en donde describe la gestión del agua de cría mediante la interacción entre diatomeas y bacterias, que las diatomeas al presentarse en concentraciones altas inhiben el crecimiento de bacterias como Vibrio.

De acuerdo las investigaciones de Yao y colaboradores (2019), existe una interacciones entre microalgas y bacterias se da por una complejidad química donde actúan metabolitos y señales moleculares, de acuerdo a nuestra investigación en la cual se encuentra una correlación positiva entre bacterias y microalgas, los cuales influye en los parámetros químicos como la alteración de la alcalinidad debido a la liberación de carbonos por las microalgas, sin embargo, dado esto el bacterioplancton aprovecha de esto y establecen una relación de simbiosis.

En la investigación se concluye que la presencia de bacterioplancton afecta a la salud de las larvas y que se relaciona con factores físicos y químicos, en el estudio realizado por (Xue et al., 2020) concluye que la comunidad de bacterioplancton en la larvicultura exhibe características altamente dinámicas y específicas en combinación con los factores de pH, Temperaturas, salinidad entre otros, ejerciendo impactos en el microbioma, sugiriendo que los estadios de Zoea 3 y Mysis 2 debe darse un monitoreo debido a que fácilmente se puede provocar una proliferación anormal de *Vibrio spp.*

10.2. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados en este proyecto se logró determinar la presencia de bacterioplancton en masivos de fitoplancton, solo se presencié el crecimiento de bacterias pertenecientes al género vibrio. Teniendo en cuenta que la presencia de vibrio se evaluó en las dos ciclo de producción, en el fitoplancton que fue agregado como alimentos en el estadio de Zoea 3 y Mysis 3 se obtuvieron los siguientes resultados en la prueba de control que al día 3 de cultivo de masivo se presencié 1.26 ufc/ml y 5.30 cl/ml, en el masivo destinado para Zoea 3 la presencia de bacterias es de 0.90 ufc/ml y de fitoplancton 5.05 cl/ml y el ultimo estadio que se aplicó el fitoplancton obtuvo unos valores de 1.43 ufc/ml y 5.19 cl/ml. Se evaluó la correlación entre bacterioplancton y fitoplancton obteniendo una correlación positiva en C1 de 0.68 y en C2 una correlación de 0.70 concluyendo que si una variable tiende aumentar por consecuente la otra aumenta.

La relación entre los parámetros físicos con la presencia de bacterias, con temperatura la correlación es negativa de -0.37 a comparación con los parámetros químicos la correlación es positiva entre alcalinidad con 0.59 y con pH 0.23, entre los parámetros químicos existe una correlación positiva de 0.43, con los parámetros físicos y químicos la temperatura tiene una correlación negativa con pH de -0.23 y con alcalinidad una correlación nula. Para el cumplimiento de nuestro segundo objetivo se evaluó la correlación entre el bacterioplancton y fitoplancton los resultados obtenidos fueron positivos con 0.60 y un valor de $(p < 0,05)$.

Para el cumplimiento del último objetivo se evaluó la salud de las larvas con relación de la presencia de bacterioplancton, tiene correlaciones positivas con NA de un 0.34, y lípidos con un 0.42, la correlación más alta con las ufc/ml del agua de los tanques

con un 0.81 y también estuvo relacionada con la presencia de microalgas, todas son correlaciones son positivas.

La interacción de bacterioplancton, fitoplancton si están relacionadas entre sí de manera positiva gracias a los resultados obtenidos de la matriz de correlación realizadas, la interacción se da por la liberación de carbonos que se da por las microalgas al momento de realizar el proceso de fotosíntesis debido a que las bacterias se beneficia de esta liberación aumentando su presencia, la liberación de carbonos también es interviene en los parámetros físicos y químicos de los cultivos y de esta manera también se relacionan con la salud de las larvas tomando en cuenta también la influencia de la presencia de bacterias.

10.3. RECOMENDACIONES

Entender las relaciones que se dan entre la presencia bacterioplancton y la abundancia de fitoplancton dentro de un sistema controlado y como estos interactúan entre sí de manera positiva, es una investigación que complementa información para comprender la identificación de posibles vectores acerca de la presencia de bacterioplancton en cultivos de larvas, por lo que es recomendable que se haga más investigaciones tanto en medios controlados como en el medio natural, aplicando técnicas de identificación más concretas, como pruebas moleculares para llegar a las especies de bacterioplancton presentes.

En el desarrollo del presente proyecto se evaluó dos ciclos de producción hasta el estadio de PostLarva 4 y los respectivos masivos de fitoplancton utilizados para la alimentación, se recomienda realizar muestreos a las diferentes etapas del cultivo de fitoplancton, de igual manera también tomar en cuenta otros factores como el agua utilizada para recambios en los tanques de larvas y el agua utilizada para los masivos.

Se realizó correlaciones entre todas las variables presentes con softwares estadísticos obteniendo correlaciones positivas y negativas, por ende, se recomienda utilizar análisis estadísticos más robustos y softwares confiables. Es recomendable también evaluar el impacto en el desarrollo de larvas, de igual manera es considerable el uso de modelos que prevengan la presencia de bacterioplancton como el evaluar las estrategias de manejo para mejor la salud larvaria.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, B. B. M. (2023). *Análisis de la toxicidad del amonio en postlarvas de camarón (Litopenaeus vannamei) en alta y baja salinidad*.
https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/21932/1/Trabajo_Titulacion_2199.pdf
- Almanza, M. J., Barracco, M. A., & Lightner, D. (2015). *Patología e inmunología de camarones penaeidos*. Obtenido de http://www.cesasin.com.mx/LIBRO_PATOLOGIA0EINMUNOLOGIA.pdf
- Amos, K.H. 1985. *Procedures for the Detection and Identification of Certain Fish Pathogens*. 3rd. Fish Health Section, American Fisheries Society. Corvallis, OR. Bell, T.A., and D.V. Lightner. 1987. An outline of penaeid shrimp culture methods including infectious disease problems and priority drug treatments. *Veterinary and Human Toxicology* 29: 37-43.
- Armijos Medardo, S. (2023). *La calidad del camarón comienza en los laboratorios de larvas y nauplios*. Vistazo. <https://www.vistazo.com/enfoque/calidad-del-camaron-comienza-en-laboratorios-de-larvas-y-nauplios-EK6185431>
- Aquino, E. M. A. M. (2011). *Colecta de microalgas* [Monografía]. Universidad Nacional Federico Villarreal.
- Balmaceda, H. (2005). *Presencia de bacterias en cinco niveles de cultivo en tres especies de microalgas en ambiente controlado* (Tesis de grado). Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua-León
- Beltrán-Rocha, Julio C, Guajardo-Barbosa, Claudio, Barceló-Quintal, Icela D, & López-Chuken, Ulrico J. (2017). *Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con*

CO2. [Revista] Biología marina y oceanografía, 52(3), 417-427. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000300001>

- Bush, L. M. (2023). *Introducción a las bacterias grampositivas*. Manual MSD Versión Para Público General. <https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-grampositivas/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias-grampositivas>
- Cambefort, S., & Arcos, F. (2009). *Efecto de las microalgas Chaetoceros gracilis, Tetraselmis s.p e Isochrysis galbana sobre la reproducción y Desarrollo Naupliar en Copepodos Calanoideos Marinos Tropicales, Acartia s.p* [Tesis]. Obtenido de <https://dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6970/1/Efecto%20de%20las%20Microalgas%20Chaetoceros%20gracilis.pdf>
- Carlos, A. Kaysner, Angelo. DePaola, Jr. Jones, J. (2004). *BAM Capítulo 9: Vibrio. Food and drug administration*. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio>
- Cuéllar-Anjel, J. (2013). *Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS)*. [Revista] Científica Institute for international cooperation in animal biologics. 1, 1-7.
- Domínguez, E. C. A. (2019). *Análisis de las exportaciones de camarón antes y después de la firma del Acuerdo Multipartes entre Ecuador y la Unión Europea*. Observatorio de La Economía Latinoamericana, 2–9. Obtenido de <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/03/exportaciones-camaron.html>
- Fuentes, J. L., Garbayo, I., Cuaresma, M., Montero, Z., González-Del-Valle, M., & Vílchez, C. (2016). *Impact of Microalgae-Bacteria Interactions on the Production of Algal Biomass and Associated Compounds*. *Marine drugs*, 14(5), 100. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/md14050100>

- Gómez, B., Roque, A., & Guerra, A. (2015). *Enfermedades Infecciosas más Comunes en la Camaronicultura en México y el Impacto del Uso de Antimicrobianos*. *Camaronicultura y Medio Ambiente*, 315-343. Obtenido de <http://cesaibc.org/pdf/infointeres/crustaceos/enfermedadesmexico.pdf>
- Goytortúa B. E, Andrade V. K, Cadena R. M. A, Civera. C. R (2023) *Manual para la identificación de estadios larvales del camarón blanco del pacífico Litopenaeus vannamei*.
- Hernández, J., Leal, S., Lugioyo, M., Loza, S., Curbelo, R., & Valia, M. (2011). *Aislamiento e identificación de bacterias presentes en cultivos de microalgas marinas. Actividad antibacteriana de algunas de las especies encontradas. La Habana: Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*. Obtenido de <https://www.cna-ecuador.com/revista-acuacultura>
- Instituto del agua (2024, 28 febrero). *Plancton: Qué es y cómo se divide este fundamental componente acuático | Instituto del Agua*. Instituto del Agua. Obtenido de <https://institutodelagua.es/plancton/que-es-el-plancton-y-como-se-divideplancton/>
- Khwancharoen, C., Chotipan, N., Nawatmai, T. y Direkbussarakom, S. (2021). *Efectos de las fuentes de nitrógeno sobre el crecimiento y la composición bioquímica de la diatomea (Amphora coffeaeformis) utilizada para la larvicultura del camarón*. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 18 (4), 12429-11.
- Kumar, R., Ng, T. H., & Wang, H.-C. (2020). *Acute hepatopancreatic necrosis disease in penaeid shrimp. Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1867-1880. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/raq.12414>
- Kumar, T. S. (2017). *Zoea-2 syndrome of Penaeus vannamei in shrimp hatcheries*. *Aquaculture*

- López, E. (2004). *Relación entre el fitoplancton y el bacterioplancton bajo dos regímenes de fertilización en mesocosmos con presencia de sedimentos*. [Tesis de Grado]. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil
- Lujan, M. (2020, 24 febrero). *Tetraselmis suecica mejora crecimiento de postlarvas de camarones marinos*. *AquaHoy*. <https://aquahoy.com/tetraselmis-suecica-crecimiento-postlarvas-camarones-marinos/>
- Maura Quintuña, G. F. (2023). *Evaluación de probióticos comerciales en el crecimiento, supervivencia y estado sanitario del camarón blanco (Litopenaeus vannamei) cultivado bajo condiciones de laboratorio* [Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/10132/1/UPSE-TBM-2023-0003.pdf>
- Mejías, V., Mora, A., Mora, A., & Ramsés. (2018). *Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura*. [Revista] *Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), 1-14. Obtenido de <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/315>
- Mendieta, B. (2021). *Efectos de la absorción de diferentes espectros de luz sobre el crecimiento y síntesis bioquímica en las microalgas tetraselmis spp. y rhodomonas spp, mediante revisión bibliográfica* [Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6637/1/UPSE-TBI-2021-0008.pdf>
- Merino, K. (2018). *Determinación de la calidad de agua mediante el uso de diatomeas bentónicas en el tramo Padre Carollo-Paus, del Río Blanco. Parroquia Río Blanco, Cantón Morona, Provincia de Morona Santiago* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/10558/1/236T0417.pdf>

- Mito, K. (2017). *Improvement and dissemination of techniques for mass seed production of the Kuruma Prawn *Marsupenaeus japonicus** Obtenido de <https://doi.org/10.2331/suisan.wa2425>
- Molinari, C. (2021) *Ecuador makes quick shift to diversify its shrimp export strategy*. SeafoodSource. <https://www.seafoodsource.com/news/supply-trade/ecuador-makes-quick-shift-to-diversify-its-shrimp-export-strategy>
- Morales, C., Cuellar, A., Varela, M., y Elizondo, O. (2018). *Shrimp bacterial infections in Latin America: FAO technical assistance efforts to deal with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of cultured shrimp*. FAO, 2(76-87), 76-87.
- Morales, Y., Cortés, E., Saucedo, P., Méndez, Y., Ledea, J., Guzmán, M., Sánchez, A., Aguirre, G., Cadena, M., & Campa, Á. (2023). *Enriquecimiento de la dieta con proteína y aditivos alimentarios (cepas de *Bacillus spp* y levaduras) mejoran el crecimiento, supervivencia y hemocitos circulantes de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei**. AQUACULTURA, 153, issuu. https://issuu.com/revista-cna/docs/edicion_153
- Nagappan, S., Das, P., AbdulQuadir, M., Thaher, M., Khan, S., Mahata, C., ... & Kumar, G. (2021). *Potencial de las microalgas como ingrediente alimentario sostenible para la acuicultura*. Revista de Biotecnología, 341, 1-20
- Newman. S. G (2022, 2 mayo). *Una actualización sobre la vibriosis, la principal enfermedad bacteriana que enfrentan los camaroneros - Responsible Seafood Advocate*. <https://www.globalseafood.org/advocate/una-actualizacion-sobre-la-vibriosis-la-principal-enfermedad-bacteriana-que-enfrentan-los-camaroneros/>
- Obando, D. E. O. V. (2023). *Aplicación de cúrcuma como medida profiláctica en la mejora de la respuesta fisiológica de larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*)* [Trabajo de integración curricular]. Universidad Estatal Península de Santa Elena.

- Oostlander, PC, van Houcke, J., Wijffels, RH y Barbosa, MJ (2020). *Costo de producción de microalgas en criaderos de acuicultura*. *Acuicultura*, 525, 735310.
- Paniagua, M. de los Á. (2016). *Verificación del método Simplate® Total Plate Count Color Indicador (TPC CI), comparado con el método estándar de recuento en placa por vertido, para el recuento total de microorganismos aeróbicos mesófilos en productos terminados y materias primas en una industria de alimentos deshidratados*. [Universidad de San Carlos de Guatemala]. Obtenido de <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1155.pdf>
- Pantoja, C. y D.V. Lightner. 2008. *Enfermedades virales* pp. 16-18. En: Morales, V. y J. CuéllarAnjel (eds.). 2008. *Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos*. Programa CYTED Red II-D Vannamei, Panamá, Rep. de Panamá. 270 pp.
- Peña Armijos, P. A. E. P. (2021). *Determinación de la presencia de Pseudomonas spp. en microalgas* [Trabajo de titulación]. Universidad Agraria del Ecuador.
- Prafanda, A., Julyantoro, PGS y Wijayanti, NPP (2020). *Calidad de Chaetoceros calcitrans cultivados con diferentes concentraciones de nitrato de potasio (KNO₃)*. AA, 10, 5.
- Quintanilla, A. Castro, J. (2022). *Estudio de la calidad del agua en estanques e implementación de un protocolo de buenas prácticas acuícolas en la producción de camarón marino en camaronera Eben Ezer, San Alejo, la unión*. [Revista] Tecnológica, 15, 36-41. [articulo6_rt22.pdf \(bvsalud.org\)](#)
- Rodríguez, M. E. R. B., & Varela, M. M. V. R. (2020). *Diversidad y dinámica estacional del bacterioplancton en el afloramiento costero de Galicia (NO España) en el contexto del cambio global* [Trabajo de fin de Grado]. Universidad de Coruña.

- Romo Piñera, A. K. (2002). *Manual para cultivos de microalgas* [Tesis]. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Ronquillo, C. M. R. P. (2022). *Larvicultura y el uso correcto del alimento natural en los primeros estadios larvarios del *Litopenaeus vannamei** [Tesis]. Universidad Técnica de Machala.
- S. Yao, S. Lyu, Y. An, J. Lu, C. Gjermansen, A. Schramm, *Microalgae–bacteria symbiosis in microalgal growth and biofuel production: a review*, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 126, Issue 2, 1 February 2019, Pages 359–368, Obtenido de <https://doi.org/10.1111/jam.14095>
- Salazar, D. (2022). *Revisión sistemática y caracterización de microalgas incorporadas como alimento vivo en cultivos de especies bioacuáticas en Ecuador, 2010-2021* [Universidad Estatal Península de Santa Elena]. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/8864/1/UPSE-TBM-2022-0032.pdf>
- Sanjuan., N. (2013). *Mecanismos de lesión inducidos por bacterias patógenas intracelulares*. Buenos Aires.
- Sarango, E. G. S. V. (2021). *Identificación de microorganismos patógenos que afectan en el estado larval de camarón blanco *Litopenaeus vannamei** [Tesis]. Universidad Técnica de Machala.
- Shah, MR, Lutz, GA, Alam, A., Sarker, P., Chowdhury, K., Parsaeimehr, A., ... y Daroch, M. (2018). *Microalgas en alimentos acuícolas para una industria acuícola sostenible*. *Revista de psicología aplicada*, 30 (1), 197-213.
- Soluap, E. (2019). *Introducción a las Patologías de Camarones *Penaeus* en Cautiverio*. Guayaquil, Ecuador: "Ediciones Cabal Ltda"

- Songbao, Z., Julin, Y., Meng, N., Mei, L., & Quiang, G. (2023). *The dynamics of bacterioplankton communities associated with macrobrachium rosenbergii across whole larval development: successional processes, environmental drivers, and developmental biomarkers*. *水生生物学报 - Acta Hydrobiology*. Recuperado 21 de octubre de 2023, de <http://www.aquaticjournal.com/article/doi/10.7541/2023.2022.0220?viewType=html>
- Sotomayor, M., y Balcázar, J. (2003). *Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas probióticas*, [Revista] *AquaTIC*, n° 19, pp. {En línea}: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=156>
- Valle, C. (2020). *Evaluación de dos concentraciones de salinidad para la producción del camarón blanco (Litopenaeus vannamei) en piscinas de agua dulce, cantón Arenillas, provincia de El Oro*. Universidad Católica De Santiago De Guayaquil.
- Viteri, E. (2015). *Caracterización microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistemas de producción comerciales de postlarvas (Litopenaeus vannamei), Mar bravo - Santa Elena* (Tesis de grado). UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA.
- Yagual, K. (2023). *Incidencia de vibrios en cultivo larval de camarón Litopenaeus vannamei en Mar Bravo y punta carnero en laboratorio Wanbri [UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR]*. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/YAGUAL%20VERGARA%20KEILA%20NELLY.pdf>
- Yang, W., Zheng, Z., Lu, K., Zheng, C., Du, Y., Wang, J., & Zhu, J. (2020). *Manipulating the phytoplankton community has the potential to create a stable bacterioplankton*

community in a shrimp rearing environment. Aquaculture, 520, 734789.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734789>

Zhang, Y. B., Li, Y., & Sun, X. L. (2011). *Antibiotic resistance of bacteria isolated from shrimp hatcheries and cultural ponds on Donghai Island, China. Marine Pollution Bulletin, 62(11), 2299-2307.* Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.08.048>

ANEXOS

| | Tanques | Placa 1 | Placa 2 | Placa 3 | Placa UFC | Placa 1 | Placa 2 | Placa 3 | UFCAN IMAL |
|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|---------|---------------|
| | 55 | 6 | 1 | 5 | 4 | | | 1 | 9 |
| | | | | | | | | | 8 |
| | 61 | | 3 | | 5 | 4 | 5 | 26 | 5 |
| ZOEA | | | | | | | | | 3 |
| 3 | 71 | 4 | 15 | 3 | 4 | 6 | 8 | 4 | 6 |
| | | | | | | | | | 1 |
| | 55 | 3 | 4 | 4 | 7 | | 6 | | 3 |
| | | | | | | | | | |
| | 61 | 13 | 15 | 4 | 4 | | | | 5 |
| MYSI | | | | | | | | | |
| S 3 | 71 | 25 | 2 | 6 | 1 | | 3 | | 9 |
| | | | | | | | | | |
| | 55 | 60 | 14 | 64 | 46 | | | | 7 |
| | | | | | | | | | 1 |
| | 61 | 97 | 55 | 66 | 06 | 7 | 3 | 05 | 15 |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | 1 |
| (C1) L4 | 71 | 77 | 50 | 51 | 26 | 1 | 4 | 9 | 8 |

| | | | | | | | | | |
|---------|----|----|----|----|----|---|---|----|---|
| | | | | | | | | | 1 |
| | 82 | 8 | 2 | 6 | 2 | 7 | 9 | 1 | 9 |
| | | | | | | | | | 1 |
| | 84 | 6 | 3 | 8 | 9 | | 1 | 0 | 3 |
| ZOEA | | | | | | | | | 4 |
| 3 | 87 | 58 | 69 | 51 | 26 | 6 | 4 | 4 | 8 |
| | | | | | | | | | |
| | 82 | 90 | 56 | 0 | 72 | | | | 4 |
| | | | | | | | | | 8 |
| | 84 | 13 | 12 | 46 | 57 | 5 | 6 | 14 | 5 |
| MYSI | | | | | | | | | 2 |
| S 3 | 87 | 55 | 47 | 00 | 34 | 4 | 5 | 0 | 3 |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | 2 |
| | 82 | 87 | 10 | 25 | 07 | 8 | 6 | 3 | 9 |
| | | | | | | | | | |
| | 84 | 51 | 41 | 49 | 47 | | | | 7 |
| | | | | | | | | | |
| (C2) L4 | 87 | 3 | 8 | 5 | 2 | | | | 8 |

Anexo 1 Tabla de las réplicas de microbiología.

| | | pH | Tem | Alcalinidad |
|------|---------|------|------|-------------|
| | | 7,64 | 30,5 | 134 |
| | | 7,72 | 31,4 | 134 |
| | ZOEA 3 | 7,68 | 31,6 | 134 |
| | | 7,65 | 30,8 | 133 |
| | | 7,54 | 29,7 | 133 |
| | MYSIS 3 | 7,62 | 31,2 | 133 |
| | | 7,58 | 30,9 | 136 |
| | | 7,66 | 31,2 | 136 |
| (C1) | PL4 | 7,63 | 31,6 | 136 |
| | | 7,73 | 31,4 | 133 |
| | | 7,71 | 30,2 | 133 |
| | ZOEA 3 | 7,69 | 32,1 | 133 |
| | | 7,9 | 33,6 | 136 |
| | | 8,01 | 32,3 | 136 |
| | MYSIS 3 | 7,78 | 30,8 | 136 |
| | | 7,86 | 30,7 | 136 |
| | | 7,74 | 30,8 | 136 |
| (C2) | PL4 | 7,72 | 31,7 | 136 |

Anexo 2 Parámetros físicos y químicos de los tanques de larvas.

| Estadíos | PISCINAS A # | DESARROLLO Branquial | NECROSIS | NECROSIS | NECROSIS | LÍPIDOS |
|----------|-----------------|-------------------------|-------------|-----------|------------|---------|
| | | | BRANQUIALES | APÉNDICES | MUSCULARES | |
| | T55 | 90 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | T61 | 90 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Z3 C1 | T71 | 90 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | T82 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | T84 | 90 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Z3 C2 | T87 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | T55 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | T61 | 90 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| M3 C1 | T71 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | T82 | 90 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | T84 | 90 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| M3 C2 | T87 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | T55 | 90 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | T61 | 90 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| P4 C1 | T71 | 90 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| P4 C2 | T82 | 90 | 1 | 0 | 1 | 0 |

| | | | | | |
|-----|----|---|---|---|---|
| T84 | 90 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| T87 | 90 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Anexo 3 Tabla de valoración patológica.



Anexo 6 TCBS, crecimiento en tanques.



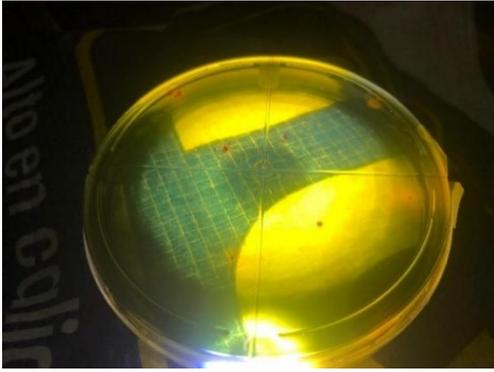
Anexo 7 Cuantificación de ufc/ml



Anexo 5 Placas de TCBS y CETRIMIDE.



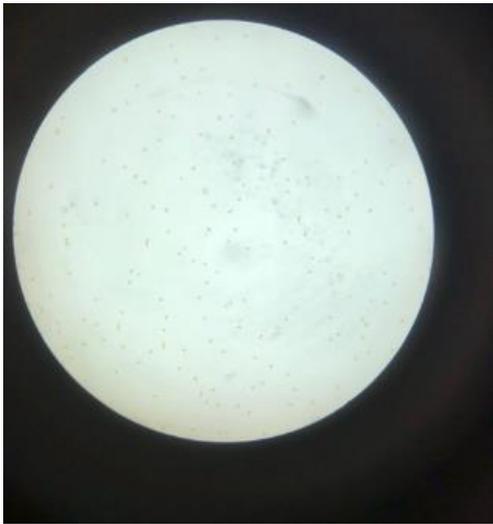
Anexo 4
Crecimiento bacteriano en TCBS tanques.



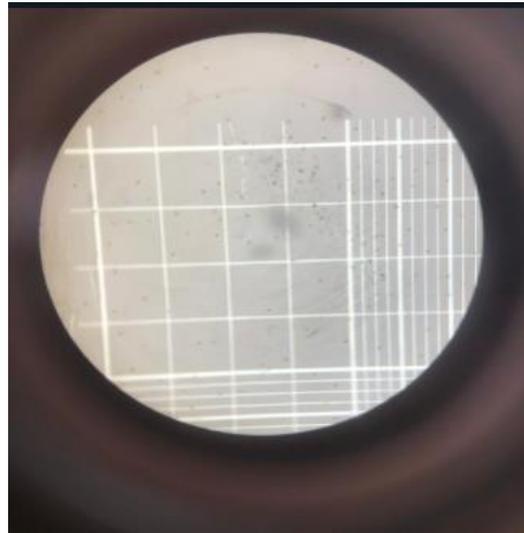
Anexo 8 Crecimiento en bacteriano en fitoplancton.



Anexo 9 Crecimiento bacteriano.



Anexo 10 Fitoplancton.



Anexo 11 Cuantificación de fitoplancton.



Anexo 12 Masivos de fitoplancton.



Anexo 13 Toma de parámetros en tanques de larvas.



Anexo 14 Preparación de agar