



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**INFLUENCIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN LA
CALIDAD DE AGUA Y PREVENCIÓN DE PATÓGENOS EN
EL CULTIVO LARVARIO DE CAMARÓN BLANCO *Penaeus
vannamei***

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

PLUA PÉREZ LUIS GIAMPIERRE

DOCENTE TUTOR:

Q.F. MERY RAMÍREZ MUÑOZ, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

UNIVERSIDAD ESTATAL PENINSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**INFLUENCIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN LA CALIDAD
DE AGUA Y PREVENCIÓN DE PATÓGENOS EN EL CULTIVO
LARVARIO DE CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei***

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR:

PLUA PÉREZ LUIS GIAMPIERRE

DOCENTE TUTOR:

Q.F. MERY RAMÍREZ MUÑOZ, Ph.D.

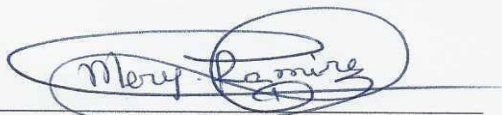
LA LIBERTAD – ECUADOR

2025

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “INFLUENCIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN LA CALIDAD DE AGUA Y PREVENCIÓN DE PATÓGENOS EN EL CULTIVO LARVARIO DE CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei*”, elaborado por Plua Perez Luis Giampierre, 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, me permito declarar que 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, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, reading "Mery Ramirez", is written over a horizontal line. The signature is enclosed within a large, loopy oval shape.

Q.F. Mery Ramírez Muñoz, Ph.D.

DOCENTE TUTOR

C.I. 0907694186

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “INFLUENCIA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO EN LA CALIDAD DE AGUA Y PREVENCIÓN DE PATÓGENOS EN EL CULTIVO LARVARIO DE CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei*”, elaborado por Plua Perez Luis Giampierre, 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, 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 su sustentación.

Atentamente



Blga. María Cornejo Rodríguez, Ph.D.

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0905260881

DEDICATORIA

A mi madre Carito Pérez por ser aquella persona que siempre confió en mí, cuyo amor y guía fueron un refugio en los momentos difíciles, por mostrarme que la perseverancia y el trabajo honesto son clave para alcanzar las metas.

A mi padre Linger Plua, por inculcarme valores que me han permitido sobresalir en la sociedad, por sus consejos y orientación.

A mis hermanos Ever, Jeremy, Jeikol, Jennifer y Juan, por nunca dejarme solo, por ser mi fortaleza y motivación. A Gianella De la Cruz, por su apoyo invaluable, cariño y paciencia. A mis amigos Scarlet Solano y John Cujilema por soportarme, por brindarme su amistad y acompañarme a lo largo de este camino.

Luis Plua Perez

AGRADECIMIENTO

A los docentes y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar mi proceso de formación profesional, por compartir su conocimiento con paciencia y dedicación, por hacer que la carrera tome un sentido distinto y enseñarme a enfrentar los desafíos con esfuerzo y perseverancia.

En particular a la Dra. Mery Ramírez, por su apoyo, orientación y consejos. Su compromiso y entrega son un ejemplo que llevaré siempre conmigo.

A la empresa TEXTCUMAR S.A. por permitir el desarrollo de mi trabajo en sus instalaciones. Al personal que lo conforma por las oportunidades, los recursos y el conocimiento compartido durante este proceso.

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **PLUA PÉREZ LUIS GIAMPIERRE** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 11 de diciembre del 2024



Ing. Jimmy Viljón Moreno, M.Sc.
DIRECTOR/A DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Blga. María Cornejo Rodríguez, Ph.D.
PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Q.F. Mery Ramírez Muñoz, Ph.D.
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



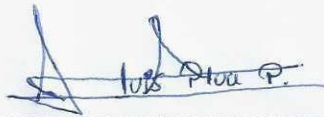
Blgo. Richard Duque Marín, Mgt.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Roca-Silvestre, Mgte.
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

DECLARATORIA EXPRESA

La responsabilidad por los datos, ideas y resultados expuestos en este trabajo de Integración curricular “Influencia del ácido hipocloroso en la calidad de agua y prevención de patógenos en el cultivo larvario de camarón blanco *Penaeus vannamei*” me corresponden exclusivamente al autor, y el patrimonio intelectual de la misma compartida con la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Luis Plua P.', is written over a horizontal line.

Plua Pérez Luis Giampierre

C.I. 2450806670

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	XII
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	5
4.1. OBJETIVO GENERAL	5
6. HIPÓTESIS	5
7. MARCO TEÓRICO	6
7.1 Acuicultura de Camarón Blanco <i>Penaeus vannamei</i> en Ecuador	6
7.2 Generalidades del camarón blanco	7
7.2.1 Características de la especie.....	8
7.2.2. Estadios larvarios	9
7.2.2.1. Nauplios.....	9
7.2.2.2 Protozoa	9
7.2.2.3. Mysis	10
7.2.2.4. Postlarva.....	11
7.2.3. Clasificación taxonómica.....	11
7.3. Enfermedades relevantes en el cultivo de camarón.....	12
7.3.1 Enfermedad de la Mancha Blanca (WSD).....	12
7.3.1.2. Agente causal de WSD	13
7.3.1.3. Signos clínicos de WSD.....	15
7.3.1.4 Mecanismos de transmisión	16
7.3.1.5. Métodos de diagnóstico por PCR	17
7.3.2. Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV).....	18
7.3.2.1 Agente causal del Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV)	19
7.3.2.2 Signos clínicos de IHHNV.....	20
7.3.2.3. Método de diagnóstico por PCR.....	21
7.3.3. Enfermedad aguda de necrosis hepatopancreática (AHPND).....	22
7.3.3.1. Género Vibrios	22

7.3.3.2. Agente causal de AHPND en camarones	23
7.3.3.3. Signos clínicos	23
7.3.3.4. Método de PCR para la detección de AHPND.....	25
7.4 Manejo de bioseguridad	26
7.5 Calidad de agua	26
7.5.1 Influencia de Cationes en la salud de los camarones	26
7.5.1.2 Calcio	27
7.5.1.2.1 Función biológica	27
7.5.1.2.2 Formación del exoesqueleto.....	28
7.5.1.3 Magnesio	29
7.5.1.3.1 Función biológica	29
7.5.1.3.2 Magnesio y crecimiento larval	30
7.5.1.4 Potasio.....	30
7.5.1.4.1 Función biológica	30
7.5.1.5 Alcalinidad	31
7.6 Métodos de desinfección del agua de cultivo.....	32
7.6.1 Ácido hipocloroso	33
7.6.1.2 Electrolisis del agua.....	33
7.6.1.3 Mecanismo de acción	34
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
8.1 Área de estudio	36
8.2 Diseño experimental.....	37
8.3 Trabajo de campo	38
8.3.1 Recolección de las muestras	38
8.4 Trabajo de laboratorio	39
8.4.1. Concentración de los iones Ca^{+2} , Mg^{+} , K^{+} y alcalinidad	39
8.4.1.2. Calcio	40
8.4.1.3. Magnesio	40
8.4.1.4. Potasio.....	41
8.4.1.5. Alcalinidad	42
8.4.1.6. Diluciones	42

8.4.2. Detección de patógenos emergentes.....	43
8.4.2.1 Extracción de ADN	43
8.4.2.2 Análisis de PCR.....	44
8.5 Supervivencia.....	45
8.6 Análisis estadísticos	46
9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	46
9.1 Concentración de iones.....	46
9.2 Salud de las larvas de camarón	51
9.3 Supervivencia larvaria.....	54
10. DISCUSIÓN.....	55
11. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
11.1 Conclusiones.....	58
11.2 Recomendaciones.....	59
12. BIBLIOGRAFÍA.....	60
13. ANEXOS.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del camaron blanco	8
Figura 2. Camarón blanco del Pacífico- <i>Penaeus vannamei</i>	12
Figura 3. Esquematización de la partícula viral de WSSV.....	15
Figura 4. Signo clínico por infestación de WSSV	16
Figura 5. Muestra de tejido infectada por IHNV	20
Figura 6. Camarón blanco del Pacífico <i>P. vannamei</i> con la enfermedad IHNV	21
Figura 7. Mecanismos de acción del agua electrolizada (EW) sobre microorganismos.	35
Figura 8. Delimitación del área de estudio	36
Figura 9. Representación del panorama de análisis.....	38

Figura 10. Concentraciones del ion calcio	47
Figura 11. Fluctuación del ion Magnesio.	48
Figura 12. Fluctuación del ion Potasio	49
Figura 13. Fluctuación de los niveles de alcalinidad.	50
Figura 14. Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para WSSV	51
Figura 15. Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para IHHNV	52
Figura 16. Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para AHPND	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores para la multiplicación por salinidad (ppt) para dar concentraciones de cationes equivalentes de agua de mar	27
Tabla 2. Prueba de Tukey.....	54

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Bitácora de recolección de datos.....	71
Anexo 2. Parámetros físico químicos de muestras de agua tratadas con ácido hipocloroso en tiempo 0 (Instante)	71
Anexo 3. Parámetros físico-químicos del agua de cultivo por estadios larvarios	71
Anexo 4. Practica de análisis de iones empleando espectrofotómetro YSI-9300.....	73
Anexo 5. Diluciones 1/9 para lectura de muestras	73
Anexo 6. Practica de extracción de ADN.....	74
Anexo 7. Migración de material genético en cámara de electroforesis	74
Anexo 8. Pruebas estadísticas de Tukey en iones calcio, magnesio y potasio	75
Anexo 9. Pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis en alcalinidad.	75

RESUMEN

El camarón blanco *Penaeus vannamei*, una especie clave en la industria acuícola del Ecuador; se ve afectada por el uso de compuestos químicos en la desinfección del agua, por tanto, se investiga la influencia del ácido hipocloroso que actúa como agente desinfectante para minimizar la incidencia de patógenos que afectan la supervivencia larvaria. Entre los patógenos se encuentran el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV), el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV), y la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*, causante de la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND). Se evaluó la influencia del ácido hipocloroso en la concentración de calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}), potasio (K^{+}) y en la alcalinidad empleando equipos de espectrofotometría. En el diagnóstico de enfermedades se empleó muestras sometidas a extracción de ADN para las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los resultados manifestaron una concentración de los iones en los ciclos 1, 2 y 3, valores promedios en mg/l de Ca^{+2} (103.37 ± 6.65), (96.68 ± 7.02) y (101.25 ± 5.89), Mg^{+} (2296.88 ± 282.11), (2262.5 ± 252.65) y (2337.5 ± 257.87), K^{+} (419.68 ± 23.55), (452.12 ± 32.39) y (409.68 ± 35.89) y alcalinidad (116.87 ± 20.23), (113 ± 14.07) y (119.43 ± 12.36). Para las PCR, no se registraron productos amplificados en los geles de electroforesis, deduciendo resultados negativos para los agentes WSSV, IHHNV y AHPND. Manteniendo un porcentaje de supervivencia durante los tres ciclos de producción (84 ± 3.91 ; 81.25 ± 2.98 ; 82.75 ± 4.57). Se concluye que el ácido hipocloroso influye en la calidad de agua de cultivo.

Palabras clave: *Penaeus vannamei*, Electrolización, Ácido hipocloroso, Estadio larvario, Patógenos emergentes.

GLOSARIO

1. Ácido hipocloroso (HClO): Compuesto químico con propiedades desinfectantes utilizado en el tratamiento de agua para eliminar microorganismos patógenos.
2. ORP: Medida de la capacidad de una sustancia para oxidar o reducir otra en una solución acuosa, expresada en milivoltios (mV).
3. Estadio larvario: Fase del ciclo de vida del camarón que incluye los estadios de Nauplio, Zoea, Mysis y Postlarva, caracterizados por cambios morfológicos y fisiológicos.
4. Patógenos emergentes: Microorganismos que causan enfermedades en los organismos acuáticos, tales como WSSV , IHNV y AHPND .
5. Espectrofotometría: Técnica analítica que mide la cantidad de luz absorbida por una sustancia en función de su longitud de onda, utilizada para determinar concentraciones de iones en soluciones.
6. Alcalinidad: Capacidad del agua para neutralizar ácidos, expresada como la concentración de iones bicarbonato, carbonato e hidróxido.

7. Electrolización: Proceso químico mediante el cual una corriente eléctrica pasa a través de un líquido para provocar una reacción, como la generación de ácido hipocloroso.
8. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa): Técnica de biología molecular utilizada para amplificar fragmentos específicos de ADN y detectar la presencia de patógenos.
9. Osmorregulación: Proceso fisiológico mediante el cual los organismos acuáticos mantienen el equilibrio iónico y de agua en sus células frente a cambios en la salinidad.
10. Bioseguridad: Conjunto de prácticas y medidas diseñadas para prevenir la introducción y propagación de enfermedades en sistemas de cultivo.
11. Tasa de supervivencia: Proporción de organismos vivos al final de un experimento o período de cultivo, expresada en porcentaje.

ABREVIATURA Y SIMBOLOGÍA

- AHPND: Enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda
- IHHNV: Virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética.
- WSSV: Virus del síndrome de la mancha blanca
- SDR: Síndrome de deformidad enana
- EMS: Síndrome de mortalidad temprana
- Rpm: Revoluciones por minutos
- Kpb: Kilo pares de bases
- ICTV: Comité Internacional de Taxonomía de Virus
- nm: Nanómetros
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal
- PV: Parvovirus
- mg/L: Miligramos por litro
- pH: Potencial de hidrogeno
- HCO_3^- : Bicarbonato
- OH^- : Hidróxidos
- CO_3^{2-} : Carbonatos
- HClO: Ácido hipocloroso
- EW: Water electrolyzed
- NaCl: Cloruro de sodio

- e⁻: Electrones
- V: Voltios
- K⁺ : Ion potasio
- Ca⁺² : Ion calcio
- Mg⁺² : Ion Magnesio
- Cl: Cloro
- Orp: Potencial de Oxido Reducción
- mV: milivoltios
- ppm: Partes por millón
- µl: Microlitros
- cm: Centímetros
- ml: Mililitros
- g: Gramos
- SDS: Sulfato de dodecilo sódico
- TCBs: Agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sucrosa
- MgCl₂: Cloruro de magnesio
- dNTPs: Nucleóti

INTRODUCCIÓN

La producción de crustáceos en acuicultura es una industria mundial con gran importancia comercial y económica (Bardera et al., 2018). Entre ellos los camarones marinos, dominan la acuicultura de crustáceos y de los 7 millones de toneladas producidas anualmente, más del 60% se atribuye a la producción de camarones peneidos (FAO, 2016). Muchos países dependen en gran medida de dicha producción de camarones y, como resultado, ha sido uno de los sectores acuícolas de más rápido crecimiento en Asia y América (FAO 2016).

Ecuador se encuentra entre los principales productores de camarón de cultivo (FAO, 2020). Acorde a la Cámara Nacional de Acuicultura (2024) en el mes de agosto, este país exportó 229.869.247 libras de camarón blanco *Penaeus vannamei*, donde a nivel del cultivo, es determinante tener un correcto manejo de los diferentes parámetros, como la alcalinidad, calcio, magnesio y potasio, así como la inexistencia de patógenos emergentes para su correcto desarrollo.

A lo largo de la costa ecuatoriana, se presentan extensos cultivos de camarón, donde la producción se ha caracterizado en la última década por diversas restricciones, siendo la ocurrencia de enfermedades de origen viral y bacteriano las más importantes,

seguido de una concentración no adecuada de iones en el desarrollo, crecimiento y supervivencia de las larvas (Saúl, 2020).

ACUATECSA TEXTCUMAR S.A. es un laboratorio de producción de larvas de camarón que cuenta con un programa de mejoramiento genético, con una producción de 720 millones de larvas al mes (TEXTCUMAR, 2019). La empresa hace uso de agua electrolizada como agente desinfectante, debido a que en la acuicultura de larvas de camarón surgen patógenos como el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV), Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV) y la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* causante de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND).

Es de suma importancia conocer la influencia que presenta el químico en iones relevantes como el calcio, magnesio, potasio y alcalinidad. Al controlar estos últimos elementos se prevé un mejoramiento en el estado de salud y por tanto una optimización en la supervivencia, lo que hace plantear la siguiente interrogante ¿El agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso influye en la concentración de iones y previene patógenos? El presente estudio tiene como objetivo analizar la influencia del ácido hipocloroso en la calidad del agua de cultivo y prevención de patógenos mediante la concentración de minerales y pruebas de PCR situando la salud larvaria del camarón blanco *Penaeus vannamei*.

JUSTIFICACIÓN

La acuicultura de camarón no se encuentra ajena al impacto de los conflictos generados por el uso de agentes químicos desinfectantes en el agua, como consecuencia la desestabilización en los elementos básicos. La alcalinidad, calcio, magnesio y potasio; así como también la fluctuación de virus y bacterias que influyen en la supervivencia de las larvas de camarón.

La investigación sobre la influencia del agua de cultivo electrolizada sobre las larvas de camarón es de vital importancia en el campo de la acuicultura, debido a que es fundamental garantizar la calidad del agua en los sistemas para asegurar la salud de estos organismos, donde el uso de compuestos químicos, como el ácido hipocloroso, ha sido relevante en los últimos años. Pero, se requiere más información sobre su influencia en la variabilidad de iones y en prevención de patógenos para poder ir cubriendo cada interrogante tras su aplicación.

La investigación propuesta busca explorar aspectos pocos estudiados en el uso del ácido hipocloroso en la acuicultura, aunque se utiliza ampliamente en otros campos, se limita en datos en la interacción con los iones así como su impacto en la prevención de patógenos. Al realizar este estudio, se generarán datos y conocimientos que contribuirán a una mejor comprensión de los efectos en la calidad del agua y la

supervivencia larvaria, lo cual beneficiará tanto a la comunidad científica como a los actores involucrados en la industria, permitiendo tomar decisiones informadas y promoviendo prácticas más sostenibles.

Sumado a lo anterior, esta propuesta permitirá ajustar las condiciones de cultivo y el uso de agua electrolizada optimizando los porcentajes de supervivencia y un crecimiento saludable de las larvas, contribuyendo a la prevención de alarmas sanitarias al mejorar el control de patógenos y, por tanto, de enfermedades en la industria acuícola.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL:

Analizar la influencia del ácido hipocloroso en la calidad del agua de cultivo y prevención de patógenos mediante la concentración de minerales y pruebas de PCR situando la salud larvaria de camarón blanco *Penaeus vannamei*.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el impacto del ácido hipocloroso en la concentración de Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} y alcalinidad en el agua de cultivo a través de la espectrofotometría.
- Estimar la salud de las larvas de camarón mediante pruebas de PCR de patógenos emergentes WSSV, IHHNV y AHPND.
- Calcular la tasa de supervivencia de larvas de camarón situando la influencia del agua de cultivo electrolizada.

6. HIPÓTESIS:

HO: El agua de cultivo electrolizada influye en la salud de las larvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*).

7. MARCO TEÓRICO

7.1 Acuicultura de Camarón Blanco *Penaeus vannamei* en Ecuador

La acuicultura se la expresa como la actividad de organismos cultivables de origen acuático ya sea de zonas tanto costeras o del interior, en el que se implica técnicas en el proceso de cría para así aumentar la producción o rendimiento de las especies, catalogándose como el sector con una dinámica fluida de más rápido crecimiento en producir alimentos (Cobo & Pérez, 2018).

La actividad camaronera en el Ecuador surge a inicios del año 1968, específicamente en provincia de El Oro, Santa Rosa, donde, para el año 1974 ya se registraban de 600 hectáreas dedicadas al cultivo de camarón, extendiéndose además, a la otras provincias como Guayas (Herrera et al., 2021).

En 1999, con el surgimiento de la enfermedad denominada virus de la mancha blanca por sus siglas en inglés (WSSV), se dedujo como la época más devastadora para el cultivo de camarón, debido a la afectación de la producción que tenía un impacto directo en la economía. Desde entonces, superada aquel tiempo, en los últimos años ha existido un gran incremento de la producción camaronera, donde por ejemplo para el

2019 se finalizó con una producción de 1397.490.379 de libras exportadas, que representan ingresos de \$3652.684.080,66 (Herrera et al., 2021).

Acorde, Loayza et al. (2022), el sector acuícola del Ecuador está estructurado principalmente por la industria del cultivo de camarón y lo que es la tilapia en la Costa, la trucha en algunos sectores de la Sierra; habiendo en la Amazonía emprendimientos de otras especies de peces, destacándose así que el camarón forma parte importante para la economía de Ecuador.

7.2 Generalidades del camarón blanco

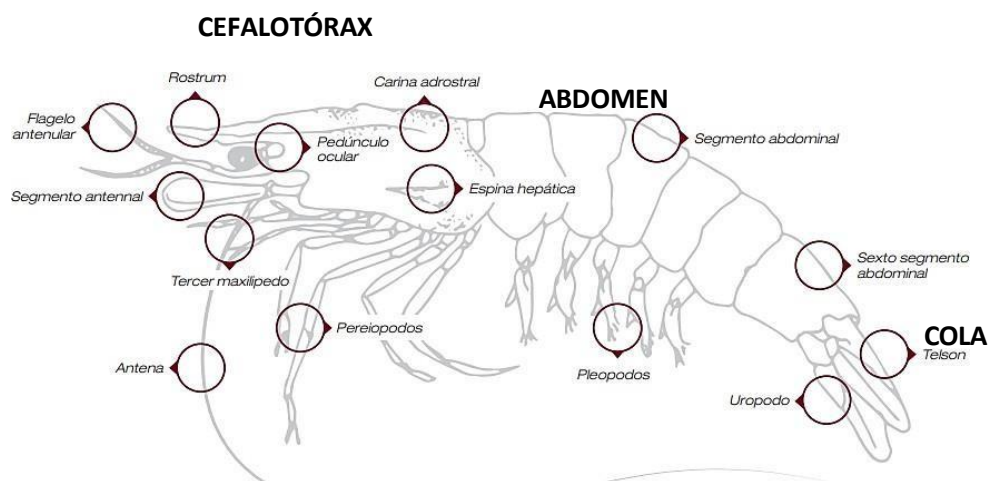
El camarón blanco del Pacífico, como su nombre lo indica es nativo de la costa oriental del océano Pacífico, distribuido ampliamente desde Sonora en México, al norte, hacia centro y Sudamérica hasta Tumbes en Perú, en aguas cuyos parámetros como la temperatura se mantiene sobre los 20 °C a lo largo de todo el año (Cobo & Pérez, 2018).

7.2.1 Características de la especie

El camarón blanco del Pacífico está conformado por tres regiones bien definidas las cuales son: cefalotórax, abdomen y cola (Fig. 1), donde se destacan partes sobresalientes como el rostrum que por lo general es la estructura formada con 2 a 4 dientes dorsales y de 5 a 8 dientes ventrales, moderadamente largos; surco y carina adrostrales cortos, culminando a la altura o un poco por detrás del diente epigástrico. La coloración del cuerpo posee un fondo blanquecino a amarillento con un dorso del caparazón un poco más oscuro y su exoesqueleto esta formado por carbonato de calcio y quitina. (Skretting, 2023).

Figura 1

Morfología del camaron blanco.



Nota: Los círculos rojos señalan las partes nombradas del organismo. Modificado de Skretting, 2023.

7.2.2. Estadios larvarios

Esta especie acorde a lo descrito por Skretting (2023), presenta cinco estadios naupliares, tres protozoa y tres estadios de mysis, hasta convertirse en postlarva.

7.2.2.1. Nauplios

Bores et al. (2023), evidencian que durante esta etapa las larvas tienden a realizar su proceso de muda 5 veces, esto en intervalos de tiempo cada 7 horas aproximadamente. Los Nauplios poseen características típicas como un cuerpo piriforme sobresaliendo más grande en el extremo anterior, también poseen tres pares de apéndices de tipo cefálicos: anténulas, antenas y mandíbulas, destacando que no existe la alimentación exógena, esto debido a que aún no se abre la boca ni el ano en las larvas, por tanto, los nutrientes que ayudan en su desarrollo van a ser proveídos a través de las reservas de nutrientes del saco vitelino.

7.2.2.2 Protozoa

Se presentan tres etapas en este estadio larvario, donde la característica primordial es el cuerpo alargado y también adaptado para un nado más continuo hacia delante, mismo que se manifiesta con el movimiento de las estructuras denominadas antenas, por ende, el nado es más lento, pero menos irregular (Bores et al., 2023).

Para los estadios de Zoea el par de maxilípedos se observan bien desarrollados, que también participan en la natación, la presencia de apéndices alimenticios, se comienza a sustentar que la larva ahora tiene la capacidad de ingerir su alimento, por tanto, una distinción de esta etapa es su alimentación continua y conforme realiza esta acción se puede visualizar las contracciones que se dan en el tracto digestivo, así como la presencia de la materia fecal en forma de tiras alargadas, con una coloración acorde a la dieta proporcionada. Las adaptaciones ya sea de un tracto digestivo que se observa lleno y una eficaz o habilidosa respuesta a la luz son criterios válidos para determinar el estado de salud en esta etapa de los organismos (Bores et al., 2023).

7.2.2.3. Mysis

Mysis se cataloga como la última etapa larvaria, misma que está prevista por 3 subestadios, donde en esta etapa, las larvas se asemejan a un camarón juvenil, su cuerpo va a tener una curvatura ligera en la parte abdominal y los periópodos se presentan más desarrollados teniendo motriz, es decir, son funcionales. Junto con la coordinación de los tres pares de maxilípedos hacen efectivo el nado (Bores et al., 2023).

7.2.2.4. Postlarva

Acorde Bores et al. (2023), el camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* presenta de 30 a 35 estadios de Postlarva para así ser considerado juvenil, que va a depender del desarrollo de todas sus características externas, citando como ejemplo el número de dientes rostrales.

Por lo general manteniendo una temperatura de 28°C, cada subestadio persiste alrededor de 24 horas y a manera poder simplificar la identificación del estadio de desarrollo de una Postlarva, se tiende a contabilizar los días que van pasando a partir de la primera Postlarva, es decir, al siguiente día serán estadio de postlarvas 2, siguiendo esta tendencia consecutivamente hasta completar el desarrollo de las branquias y sufrir la metamorfosis a la fase de juveniles (Bores et al, 2023).

Como características diferenciales del estadio, las postlarvas realizan un nado hacia delante utilizando los setosos, mientras que los periópodos ya son apéndices funcionales que permiten tanto la alimentación como el arrastre (Bores et al, 2023).

7.2.3. Clasificación taxonómica

El camarón blanco del Pacífico presenta la siguiente escala taxonómica acorde a la Comisión Europea (2021):

ESCALA TAXONÓMICA

Dominio: Eukaryota

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Clase: Malacostraca

Orden: Decapoda

Familia: Penaeidae

Género: *Penaeus*

Especie: *vannamei*

Nombre científico: *Penaeus vannamei* (Boone, 1931).

Figura 2

Camarón blanco del Pacífico- Penaeus vannamei



Fuente: SONGA (2020).

7.3. Enfermedades relevantes en el cultivo de camarón

7.3.1 Enfermedad de la Mancha Blanca (WSD)

La enfermedad de la mancha blanca fue detectada por primera vez en Taiwán en 1992; posteriormente se expandió a Japón cubriendo a la mayoría de los países asiáticos. Para América Latina el primer caso diagnosticado de WSSV se produjo en 1995 en una piscina de camarón del sur de Texas, y se sugirió que la ruta más probable para su introducción fue a través de un camarón en cadena de frío importado de Asia, en febrero de 1999, el virus causó mortalidades masivas en algunas granjas en Ecuador, mientras que el brote más reciente en un área con estatus libre de WSSV según los criterios de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), suscitó en Brasil en el año 2005 (Sánchez, 2010).

Esta enfermedad se la cataloga la principal de origen viral que afecta al cultivo de camarón marino alrededor del mundo en los últimos años (Oliveira et al., 2024). Tiene efectos graves en el camarón de cualquiera de sus estadios larvarios, pudiendo prevalecer en el sistema sin ser detectado o, en estado inerte sin causar signos clínicos en los organismos, pero una vez que las condiciones son adecuadas se pueden visualizar hasta un 100% de mortalidades (Morales, 2021). Este virus se caracteriza por estar constituido por una molécula de forma circular de ADN de doble cadena presentado una simetría helicoidal en su envoltura (Dantas et al., 2018).

7.3.1.2. Agente causal de WSD

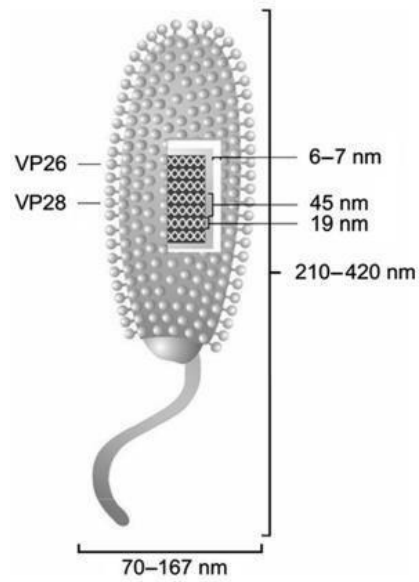
La enfermedad de la mancha blanca es causada por el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV), un virus que según Dantas et al. (2018) es de ADNds con un tamaño de genoma reportado de aproximadamente 300 kpb. Fue informado con diferentes nombres hasta el año 2005, cuando el virus recibió la aprobación de su nombre de carácter internacional, donde en principio, WSSV, fue denominado “baculovirus debido a que las observaciones microscópicas en equipos de alta tecnología la morfología presentaba una forma cilíndrica y por ende a las lesiones de tejido que se asemejaban a los mismos” (Balakrishnan et al., 2012).

Otros nombres con los que se le conocía incluyen “baculovirus de necrosis hipodérmica y hematopoyética (HHNBV), baculovirus ectodérmico y mesodérmico sistémico (SEMBV), baculovirus de mancha blanca (WSBV) y actualmente conocido como virus de la mancha blanca (WSSV)” (Cuellar, 2023).

La posición taxonómica del virus fue designada el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) (2020), a un nuevo género, *whispovirus*, bajo la familia *Nimaviridae*, basada en su morfología única (Figura 3) y composición genómica.

Figura 3

Esquematación de la partícula viral de WSSV.



Fuente: Sánchez, 2010.

7.3.1.3. Signos clínicos de WSD

Los signos clínicos característicos de esta enfermedad son la reducción del consumo alimenticio, pérdida de color en órganos como el hepatopáncreas, así como también, la presencia de nado errático y diminutas manchas blanquecinas en la cutícula de aproximadamente 0.5 a 2 mm de diámetro. Poseen una superficie más ásperas en la parte interna del caparazón, esto puede deberse a las concentraciones anormales de sales de calcio en la epidermis cuticular (Mero, 2021). Dey et al. (2020), presentan dos signos característicos: la decoloración rojiza del cuerpo (Figura 4) y depósitos de calcio

en el exoesqueleto, como también altos índices de mortalidades en el día 3 a 10 de haberse detectado el virus.

Figura 4

Signo clínico por infestación de WSSV.



Nota: Camarón infectado por WSSV (superior), camarón sano (inferior).

Fuente: Mero, 2021.

7.3.1.4 Mecanismos de transmisión

Por la naturaleza del virus los mecanismos de transmisión de esta enfermedad se contagian por diversos métodos, pudiendo ser horizontal, mediante vía oral por lo que se denomina canibalismo de individuos muertos o por partículas del virus en el agua a través de las branquias y por transmisión vertical por vía transovárica (Cuellar, 2023).

Cabe indicar que algunos grupos de moluscos marinos, como los poliquetos y determinados artrópodos acuáticos no crustáceos, como las cochinillas marina y larvas de insectos Euphydradae pueden ser portadores mecánicos del virus sin presentar necesariamente los signos de infección determinantes de la enfermedad (Cuellar, 2023).

7.3.1.5. Métodos de diagnóstico por PCR

La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa, PCR, requiere el uso de líquidos o estructuras refiriéndose a hemolinfa, branquias o pleópodos; aclárese bien, esto que para la detección del virus del síndrome de la macha blanca, para el caso de larvas, se utilizan 5 a 20 organismos completos y que se hayan extraído del medio estando visiblemente enfermos, con signos clínicos característicos haciendo énfasis a la coloración blanquecina en la cutícula (Balakrishnan et al., 2012; Cuellar, 2023).

Las muestras son expuestas a la extracción del material genético siendo la primera fase del proceso, del cual se usa una cantidad de aproximadamente 1 ml para preparar la solución de amplificación, empleado elementos primarios como lo son cebadores o primers, sustancias de buffer, Taq polimerasa y nucleótidos, donde la fase de amplificación de ADN se realiza en un equipo de termociclador que funciona por ciclos de temperatura.

El producto amplificado, lo denominado amplicón, es migrado en un gel de agarosa a través de técnicas de electroforesis por 35 minutos y las bandas de ADN son manifestadas en un transiluminador de luz ultravioleta (Cuellar, 2023). Cuando una muestra se refleja positiva al virus WSSV, se visualiza una banda de color morado debido a la inclusión de colorantes de Bromuro de etidio o Cyber safe en el gel de agarosa, caso contrario, se considera que el virus WSSV no es detectado referido cuando no se visualiza la formación de bandas en el gel de electroforesis. El proceso completo puede tardar entre 4 horas si se trabaja de manera exclusiva e ininterrumpida (Cuellar, 2023).

7.3.2. Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV)

El virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV) se ha clasificado como notificación obligatoria de patógenos de crustáceos por parte de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) desde 1995 y presenta una alta incidencia en América, Asia y Australia. Se considera un virus de amplia distribución, donde consecuentemente, se evidenció que dicho patógeno fue el causante de epizootias con altas tasas de mortalidad que oscilaban rangos de entre 60 al 90 % en poblaciones juveniles de *P. stylirostris* cultivables en sistemas semi-intensiva o

intensiva, procedentes de países como México, Ecuador y Panamá (Tang & Lightner, 2000).

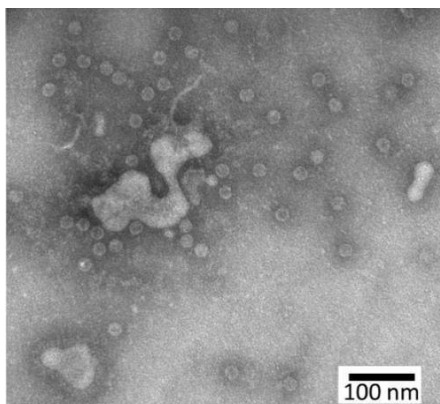
En el pasado el virus fue causante de mortalidad a gran escala en el camarón azul del Pacífico (*Penaeus stylirostris*) y provocó un retraso del crecimiento llamado síndrome de deformidad enana por sus siglas en inglés (SDR), consecuentemente también en camarones blancos del Pacífico (*Penaeus vannamei*) y el camarón tigre negro (*Penaeus monodon*) (Aranguren et al., 2022).

7.3.2.1 Agente causal del Virus de la Necrosis Infecciosa Hipodérmica y Hematopoyética (IHHNV)

IHHNV es un virus que no posee envoltura y presenta de 22 a 23 nm de tamaño, el mismo manifiesta un genoma de ADN monocatenario de aproximadamente 4,1 kb. Los parvovirus (PV) son virus de ADN, con simetría icosaédrica (Figura 5). Está clasificado como un “Penstylhamaparvovirus tipo 1 decápodo de la familia Parvoviridae y la subfamilia Penstylhamaparvovirinae” (Pénzes et al., 2020). En la actualidad se ha reportado la prevalencia de cinco genotipos, de los cuales existen tres tipos de carácter infeccioso, denominados (I, II y III) y dos tipos no infeccioso: A y B del IHHNV (Aranguren et al., 2022).

Figura 5

Muestra de tejido infectada por IHNV



Nota: Tejido homogeneizado de muestras infectadas de *P. monodon* diluidas y examinadas mediante EM con tinción negativa, que muestra partículas icosaédricas. Obtenido de Pénzes et al. 2020.

7.3.2.2 Signos clínicos de IHNV

En *Penaeus vannamei*, la enfermedad se manifiesta como una patología crónica denominada "síndrome de deformidad y enanismo", misma que afecta a los camarones juveniles con diferenciadas deformaciones faciales (Figura 6), antenas con apariencia arrugadas, irregularidades en el caparazón con textura áspera a rugosa y deformidades en el abdomen, el enanismo, se presenta en la población afectada distinguiéndose amplias variaciones de tallas (Cuellar, 2013).

Figura 6

Camarón blanco del Pacífico P. vannamei con la enfermedad IHNV.



Nota: Camarones con rostro deformado (RDS).

7.3.2.3. Método de diagnóstico por PCR

Entre los trabajos elaborados en Ecuador, Guerrero (2021) desarrolló un sistema de PCR anidado, de dos pasos para la detección del IHNV en *Penaeus vannamei*; en donde un 35 % de la muestra dieron positivo al virus con el sistema de PCR simple mientras que, con el sistema de PCR anidado, resultó positivo el 70 %. El análisis determinó la alta sensibilidad y especificidad que posee esta técnica en comparación con la PCR convencional, ya que fue capaz de detectar una carga viral 10 veces menor.

7.3.3. Enfermedad aguda de necrosis hepatopancreática (AHPND)

La enfermedad aguda de necrosis hepatopancreática o AHPND, antes conocida como síndrome de mortalidad temprana por sus siglas en inglés (EMS), en un principio se atribuía que era causada únicamente por la cepa de *V. parahaemolyticus*, fue catastrófico para los cultivos del camarón *P. vannamei*, presentando en China, Vietnam, Malasia y Tailandia años críticos a partir de 2009 y 2012 respectivamente donde se ha informado de mortalidades del 100% dentro de los primeros 20-30 días después de la siembra (Navaneeth et al., 2020).

7.3.3.1. Género Vibrios

Los *Vibrios* son catalogados como un grupo de microflora autóctona gramnegativa de los ecosistemas tanto acuáticos costeros y marinos, que consta de un número aproximado de 130 especies desarrollando una considerable importancia debido a su impacto adverso que causan de manera directa en diversos organismos, donde se incluyen los camarones (Navaneeth et al., 2020). Pero, se puede extender a consideraciones únicamente negativas porque también intervienen en procesos ecológicos beneficiosos siendo el caso de ciclos de nutrientes y la degradación de desechos (Hunt et al., 2008). Aunque de forma recurrente se consideran como flora normal de camarones y el entorno de cultivo, también han sido responsables de

enfermedades y mortalidad durante varias etapas de la vida de los camarones (Navaneeth et al., 2020).

Los *Vibrios* a menudo se consideran patógenos oportunistas para camarón, cuando los individuos no se encuentran en condiciones adecuadas, siendo causa de estrés o también debido a su rápida multiplicación a consecuencia de parámetros ambientales favorables. Al mismo tiempo, también pueden ser patógenos primarios altamente virulentos y causar una mortalidad significativa (Navaneeth et al., 2020).

7.3.3.2. Agente causal de AHPND en camarones

Se encontró inicialmente que era debido a una cepa específica de *V. parahaemolyticus* causada por toxinas pirA/B, pero con el surgimiento de nuevas investigaciones, Xiao et al. (2017), destacan otras especies como agentes causales, *V. owensii* y *V. harveyi*.

7.3.3.3. Signos clínicos

Esta enfermedad se manifiesta con una reducción importante en la supervivencia, donde si se habla de porcentajes, hasta el 100% de la población llega a

presentar mortalidad, misma que se da momentáneamente 20 a 30 días después de realizar la siembra, presentando síntomas clínicos relevantes descritos por Zorriehzahra y Banaederakhshan (2015); una vez que se da la infección los camarones muestran deficiencias en el nado, si pudiese caber el termino letargo, natación en espiral, reducción en la tasa de crecimiento, así como intestino vacío o entrecortado.

Además, “constantemente presentan un hepatopáncreas anormal (emaciado, pequeño, distendido, coloración pálida o negra)” Zorriehzahra y Banaederakhshan (2015), (p. 67); Huynh et al. (2023) incluyen como diagnóstico de AHPND tres signos clínicos: anorexia, babeo y hepatopáncreas pálido, los camarones afectados se hunden en el fondo del tanque y posterior mueren allí, también atribuyen que la decoloración hepatopancreática es sinónimo de la pérdida de pigmentación de los tejidos conectivos y epiteliales mientras la coloración negra es causada por la melanización.

El hepatopáncreas afectado posee una dureza distinta, no se aplasta fácilmente al aplicarle presión. Una de las explicaciones es que debido al aumento de los tejidos conectivos o agregación de hemocitos, también a razón que se ha detectado la presencia de algunas bacterias que contienen microsporidios y parásitos de gusanos como nematodos en algunas muestras afectadas, destacando que los camarones afectados poseen un tamaño más pequeño en relación con los sanos (Devadas et al., 2019).

7.3.3.4. Método de PCR para la detección de AHPND

En la actualidad los protocolos basados en PCR establecidos para detectar la enfermedad AHPND tienden a ser muy variados. Antes de 2013, la reacción de PCR utilizada en la detección de enfermedades estuvo enfocada en los genes de *V. parahaemolyticus*. Ya en 2013, dos reacciones de PCR AP1 y AP2 fueron publicadas por la Red de Centros de Acuicultura de Asia y el Pacífico (NACA) para detectar la enfermedad; este método se basaba en el uso de dos cebadores para la secuencia del plásmido, pero no en dos genes tóxicos, *toxA* y *toxB* (Mai et al., 2021). En 2014 se publicaron más reacciones de PCR basadas en el gen *toxA*, donde Sirikharin et al. (2014), mostró una reacción AP3 con una precisión del 100%.

De manera asertiva, en 2015, Han et al. proporcionaron una reacción de PCR que consistía en dos cebadores (VpPirA-284 y VpPirB-392) para amplificar los genes *toxA/B*, enfocando el posicionamiento de la PCR anidada (AP4), que puede amplificar dos genes de virulencia en una PCR de dos pasos, siendo más sensible y no requiere pasos de enriquecimiento antes de la PCR (Dangtip et al., 2015).

Actualmente, el método AP3 para amplificar el gen *toxA* y el método de PCR múltiple para detectar *toxA* y *toxB* utilizando los cebadores VpPirA-284 y VpPirB-392 son los más utilizados en el diagnóstico de AHPND (Mai et al., 2021).

7.4 Manejo de bioseguridad

Como ocurre con otras enfermedades infecciosas de los camarones, es probable que resulte ventajoso establecer buenas prácticas sanitarias y de bioseguridad, como la mejora de las condiciones sanitarias y el cribado de las postlarvas, un buen manejo de los reproductores, el empleo de postlarvas de alta calidad, incluido un riguroso control en cuanto a la a tasa de alimentación, una densidad de población adecuada (Huynh et al., 2023).

7.5 Calidad de agua

7.5.1 Influencia de Cationes en la salud de los camarones

Independientemente del contenido de salinidad, el perfil iónico del agua es una variable que influye significativamente en la supervivencia de los camarones, Valenzuela et al. (2017) plantea que las proporciones de los principales iones referidos al potasio (K^+), magnesio (Mg^{2+}) y calcio (Ca^{2+}) juegan un papel relevante para el desarrollo de los organismos bajo cultivo, debido a que cuando la relación iónica es similar a la del agua de mar, se obtienen organismos con mejor desarrollo, indicando que la proporción de iones (Tabla 1) mayores fueron importantes para el crecimiento y desempeño del camarón en cultivo.

Tabla 1

Factores para la multiplicación por salinidad (ppt) para dar concentraciones de cationes equivalentes de agua de mar.

Concentraciones en agua de mar normal* (mg/L)		Factor
Calcio (Ca^{+2})	400	11.59
Magnesio (Mg^{+2})	1350	39.13
Potasio (K^{+})	380	11.01

Nota: *34.5 ppt salinidad, descrito por Boyd, 2018.

7.5.1.2 Calcio

7.5.1.2.1 Función biológica

El calcio (Ca^{+2}) es un mineral sobresaliente debido a su importancia en el funcionamiento correcto de los organismos eucariotas, donde estas funciones se centran desde la señalización a nivel intracelular (CI) hasta la formación de tejidos de índole mineralizados, como pueden ser huesos y cutículas. A nivel orgánico, la mayor parte del Ca^{+2} de todo el cuerpo alrededor de un 80% está delimitado en depósitos de almacenamiento, referidos a cutículas o caparazones, mientras que el porcentaje restante se encuentra en depósitos intercambiables (Wheatly et al., 2002).

7.5.1.2.2 Formación del exoesqueleto

En el camarón, la primera línea de defensa en negatividad a la invasión de los microorganismos patógenos o no, está constituida por una estructura denominada cutícula de característica rígida y que actúa como una barrera física; es decir, consiste en un exoesqueleto fuerte que protege de daños y ataques microbianos a la especie, mismo exoesqueleto presenta en su composición carbonato de calcio y proteínas, y contribuye a diversos procesos fisiológicos que están ligados con la respuesta inmune (Cárcamo et al., 2016).

El nivel de calcio en estanques de cultivo es un factor primordial en la supervivencia y el desarrollo adecuado de las larvas de camarón. Debido a que el magnesio, pero principalmente el calcio, participan conjuntamente en los procesos de osmorregulación, dando paso al proceso de la muda y a la formación de los exoesqueletos del crustáceo. Los niveles deficientes de este ion Ca^{+} en el agua, además de retardar el crecimiento, pueden propiciar el desarrollo de animales con exoesqueletos blandos o con dificultad para mudar (Rodríguez & Rolando, 2022).

El ciclo de muda en los crustáceos comprende las etapas denominadas: postmuda, intermuda, premuda y culmina con la ecdisis (Da Silva et al., 2019). En la postmuda hay digestión de gastrolitos para calcificación de la cutícula y, el calcio

restante requerido es tomado del agua por absorción branquial y por ingestión de la exuvia y de alimento. En cambio, en la premuda, el calcio del exoesqueleto es solubilizado desde la cutícula y transportado a las células, tejidos y órganos de almacenamiento temporal, y el exceso se excreta por las branquias (Da Silva et al., 2019). En la ecdisis, hay ingreso de agua, división celular, expulsión del viejo exoesqueleto, formación de la nueva cutícula que luego endurece por deposición de calcio y otros minerales, e incrementan el peso del animal (León et al., 2021).

En la investigación realizada por León et al. (2021), identifican que “los camarones machos adultos de *C. caementarius* cultivados en agua con dureza total de 200 y 300 mg L⁻¹ incrementaron su frecuencia de mudas, en este caso hubo adecuada calcificación del exoesqueleto, crecieron más en longitud y mantuvieron alta supervivencia; contrario a lo sucedido en agua con dureza total de 100 y 400 mg L⁻¹”.

7.5.1.3 Magnesio

7.5.1.3.1 Función biológica

El magnesio (Mg⁺²) es el divalente intracelular más abundante, mismo que en las larvas de camarón su presencia se encuentra principalmente en el exoesqueleto, teniendo el papel central en varios procesos enzimáticos, incluyendo proteínas, lípidos,

metabolismo de carbohidratos, funciones tanto musculares, nerviosas y de osmorregulación (Figueroa et al., 2018). Relacionado en gran medida a la frecuencia de muda por la participación en la mineralización, siendo desfavorable cuando se presentan los niveles inadecuados también para la supervivencia del organismo (Harsha & Allen, 2020).

7.5.1.3.2 Magnesio y crecimiento larval

En aguas que presentan una baja salinidad, el ion magnesio se adiciona en forma de silicato de magnesio, mismo que cumple funciones relevantes en la biodisponibilidad de organismos como el fitoplancton y las diatomeas. En el caso de las diatomeas, el Mg^{+2} inicia la formación de la pared celular, lo que es conocido como frústula, esto se ve reflejado en el beneficio directo del crecimiento, la maduración y el engorde de las larvas, cuando se la utiliza como alimento (Vera & Mendoza, 2020).

7.5.1.4 Potasio

7.5.1.4.1 Función biológica

Toral (2017) expresa que el potasio (K^{+}) es el principal macroelemento del fluido intracelular que regula la presión osmótica intracelular y el equilibrio ácido-base

es requerido en la síntesis de glucógeno y proteína, así como en la descomposición metabólica de la glucosa.

Además de ser importante para el equilibrio ácido-base y el mantenimiento de los potenciales de membrana, el K^{+2} también juega un papel clave en la función osmorreguladora, misma que es la principal función fisiológica de los crustáceos para aclimatarse a un ambiente hipo salino (Liu et al., 2013).

El potasio beneficia a la supervivencia de *L. vannamei*. Al igual que el calcio, es un mineral fundamental para la osmorregulación y activación de la bomba sodio potasio para mantener los gradientes de concentración en la membrana celular de los animales, por lo que su ausencia limita el crecimiento y la supervivencia del camarón (Vera & Mendoza, 2020).

7.5.1.5 Alcalinidad

Entiéndase como alcalinidad a la capacidad del agua para neutralizar ácidos y mantener estables los niveles de pH (potencial de hidrogeno), está mayormente asociada con la existencia de iones como el bicarbonato (HCO_3^-), carbonato (CO_3^{2-}) y en menor proporción hidróxidos (OH^-) (Pimentel et al., 2024).

En el medio acuático, la alcalinidad juega un papel importante en la creación de condiciones óptimas para el desarrollo de organismos acuáticos como el camarón, ya que afecta la cantidad de nutrientes disponibles y la eficiencia de la nitrificación, proceso que reduce la toxicidad de los compuestos nitrogenados (González & Brown, 2017). De acuerdo con González & Brown (2017), una alcalinidad de 250 mg/l o superior es letal así como un cambio rápido en el cuerpo de agua puede inducir una muda prematura en los estadios larvarios, presentando diversas anomalías como colas melanizadas.

7.6 Métodos de desinfección del agua de cultivo

Actualmente se están utilizando varios métodos para evitar los patógenos transmitidos a los organismos y así aumentar la producción. Con el tiempo, se han empleado una diversidad amplia de tecnologías; físicas (ozono), químicas (compuestos de cloro, mezclas de peróxidos, compuestos de amonio cuaternario) y biotecnológicas (aceites esenciales). Sin embargo, algunas de estas tecnologías no han sido adoptadas plenamente por la industria de la acuicultura debido a inconvenientes como residuos químicos, inactivación limitada, efectos adversos para los seres humanos o el medio ambiente o toxicidad potencial (Korany et al., 2018).

7.6.1 Ácido hipocloroso

El agua electrolizada o electrolyzed water (EW) que contiene ácido hipocloroso (HOCl) se ha propuesto en los últimos años como una alternativa innovadora frente a los desinfectantes convencionales. Su obtención se da mediante la electrolización de electrolitos diluidos que generalmente contienen cloruro de sodio (NaCl) en una celda de electrólisis, y el principal componente de inactivación microbiana son especies de cloro libre (Zhao et al., 2021).

7.6.1.2 Electrolisis del agua

La electro activación de soluciones acuosas se basa en un fenómeno llamado electrólisis, cuando una solución acuosa se somete a un campo eléctrico externo, se forman especies cargadas que migran hacia el electrodo de carga opuesta. Se producen dos procesos; uno de oxidación y otro de reducción (Shirahata et al., 2012). En el agua o en cualquier solución acuosa, se produce una reacción de reducción en el electrodo cargado negativamente llamado "cátodo" y los electrones (e^-) del cátodo se donan a iones cargados positivamente, como el hidrógeno. En el electrodo con carga positiva, llamado ánodo se produce una reacción de oxidación, en este caso, los electrones libres migran al ánodo (Aider et al., 2012).

La electrólisis requiere energía externa para efectuar la descomposición del agua o soluciones acuosas en sus componentes básicos, esta energía es proporcionada por un campo eléctrico aplicado entre los electrodos, superando la barrera energética necesaria para las reacciones de oxidación y reducción. Según la ecuación de Nernst, “la energía libre para la electrólisis del agua es mayor que cero, el proceso es termodinámicamente desfavorable sin energía añadida y al aplicar un voltaje externo de 1,23 V a temperatura y presión estándar, se proporciona suficiente energía para inducir la reacción y generar productos como hidrógeno y oxígeno” (Shirahata et al. 2012, p. 6).

7.6.1.3 Mecanismo de acción

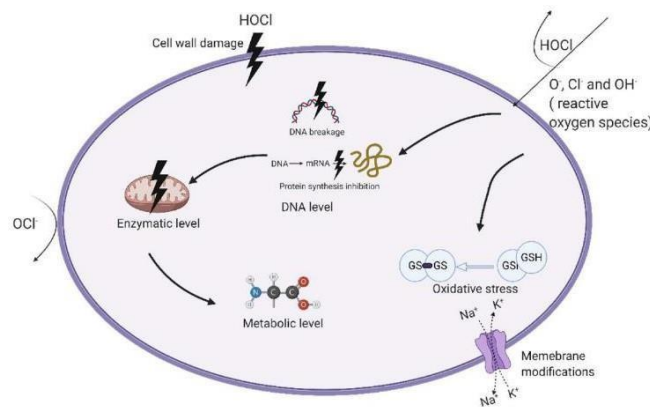
La inactivación microbiana subyacente como resultado de la guerra electrolítica que aún no se comprende completamente. Sin embargo, se ha desarrollado un modelo que explica aproximadamente los mecanismos germicidas del agua electrolizada (Figura 7), en primer instancia, el HClO puede penetrar la bicapa lipídica de la membrana celular mediante difusión pasiva debido a su neutralidad eléctrica y tamaño molecular (Fukuzaki, 2006).

Por otra parte, Cheng et al. (2016), informaron que la superficie bacteriana cambió de lisa, contigua y brillante a rugosa, después del tratamiento con agua

electrolizada. También, Ding et al. (2020) informaron que el tratamiento alteró la permeabilidad de la membrana celular al dañar las proteínas de la membrana, penetrar en las células y provocar que las inclusiones celulares se agruparan, lo que provocó fugas de potasio K^+ , ADN y proteínas. Por otra parte Yan et al. (2021) manifiestan que el agua electrolizada (EW) podría inducir a los microorganismos a transferirse a otros estados fisiológicos, como la lesión subletal y el estado viable pero no cultivable.

Figura 7

Mecanismos de acción del agua electrolizada (EW) sobre microorganismos.



Nota: ClO⁻, Cl⁻ y OH⁻ atacan únicamente la pared celular y la membrana externa de la célula. El HOCl puede penetrar la bicapa lipídica de la membrana celular, mientras que EW ataca diferentes blancos celulares, incluidos el citodermo, los componentes intracelulares y la membrana externa. Extraído de Yan et al. (2021).

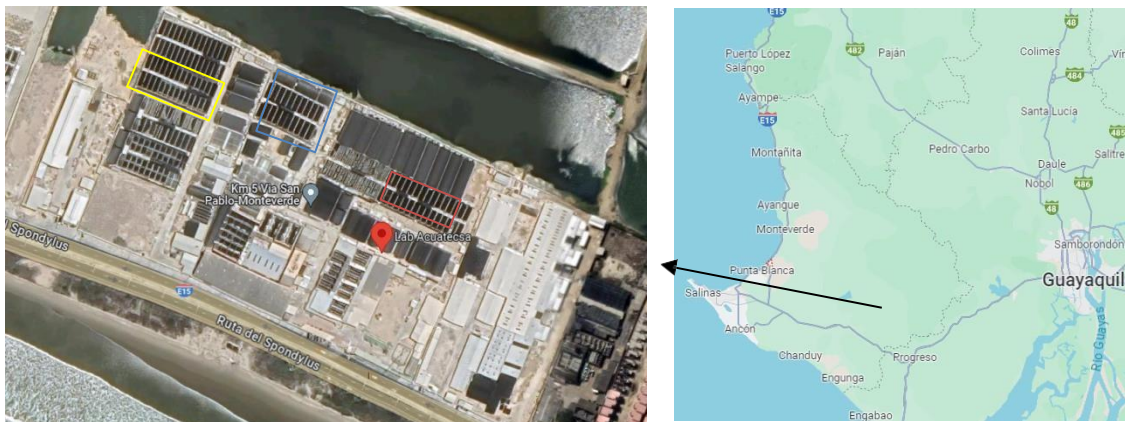
8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de larvas de camarón ACUATECSA - TEXCUMAR S.A (Figura 8) en la comuna San Pablo del cantón Santa Elena, provincia de Santa Elena, Ecuador.

Figura 8

Delimitación del área de estudio



Nota: Recuadro color amarillo representa el sitio de análisis del primer ciclo, color azul correspondiente al modulo del segundo ciclo y color rojo correspondiente al modulo del tercer ciclo.

8.2 Diseño experimental

Se llevaron a cabo tres ciclos de producción para los análisis de iones de calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}), potasio (K^{+}) y alcalinidad, así como también la detección de patógenos emergentes mediante las PCR, donde cada ciclo comprendió 22 días. Para ello en primera instancia se hizo uso de un tanque circular de 1000 litros, donde se mezcló el agua de mar y el ácido hipocloroso, en concentraciones y tiempos establecidos por la empresa (4 litros de HClO por cada 1000 litros de agua de mar). Posteriormente el agua fue almacenada en reservorios y distribuida a los tanques de cultivo.

Para realizar los análisis de iones y patógenos emergentes se empleó 4 tanques con una capacidad de 20 toneladas cada uno, cuya cobertura es de linears, donde cada tanque de cultivo de larvas de camarón estuvo con 15 toneladas de agua previamente tratada con ácido hipocloroso, manteniendo una cantidad de siembra de 3'800 000 larvas por tanque (Figura 9).

Figura 9

Representación del panorama de análisis.



Nota: La figura izquierda muestra el proceso de obtención del agua de cultivo electrolizada y la figura de la derecha está basada en la colección de muestras de organismos para análisis iónico y las pruebas de PCR.

8.3 Trabajo de campo

8.3.1 Recolección de las muestras

La obtención de las muestras de agua para el análisis iónico se colectó en horas de la mañana 08:00 A.M, en los tanques de cultivo desde el primer estadio en Nauplio (V), seguido por Zoea (II), Mysis (II) y Postlarva (II), donde en la recolección de muestra se tomó 100 ml de agua en recipientes de plástico estéril de 150 ml, haciendo un arrastre horizontal a una profundidad de 50 cm. Posteriormente las muestras se las etiquetó con adhesivos, se las almacenó en una hielera y fueron transportadas al área del laboratorio de bacteriología.

De los estadios larvarios antes descritos para realizar el análisis de patógenos, se extrajo una muestra de 1 gramo de larvas de camarón colectadas con ayuda de una red fina de 200 micras y se la colocó en fundas transparentes de 500 ml, con 250 ml de agua del tanque, se las rotuló y fueron guardadas en una hielera con el propósito de mantener una temperatura de 30°C para los posteriores análisis.

8.4 Trabajo de laboratorio

8.4.1. Concentración de los iones Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} y alcalinidad

La determinación de la concentración de los iones de las muestras de la columna de agua antes descritas, se analizaron haciendo uso del espectrofotómetro YSI -9300, donde la base para la metodología de iones es el uso de 9 ml de agua de las muestras y 1 ml de agua desionizada, en la cual se añaden catalizadores o pastillas que hacen reacción según el ion a analizar, haciendo uso de 2 tubos de ensayo de vidrio con un volumen de 10 ml, donde uno de ellos es la muestra control o blanco.

Los resultados obtenidos en el espectrofotómetro YSI-9300 se reflejan en la pantalla del equipo, estos datos se registraron en la bitácora respectiva y posteriormente se los transfirió a formato Excel para analizar los valores y determinar si dichos iones se encuentran alterados ante el tratamiento con el ácido hipocloroso.

8.4.1.2. Calcio

Para la obtención de calcio se empleó 20 ml de agua problema (muestra), y fue distribuida en 2 tubos de vidrio de 10 ml, donde al tubo que no es blanco se le adicionó una pastilla (Calcicol No 1). Posteriormente se trituró con el uso de bastoncillos plásticos y se añadió una segunda pastilla Calcicol No 2, se procedió nuevamente a triturar y se dejó reposar durante dos minutos.

Para la lectura en el espectrofotómetro se marcó primero el blanco en el equipo configurando la opción de calcio, donde la lectura se registró como blanco y posterior a esto se colocó el segundo tubo y se puso a correr el resultado, esto dio los valores de calcio en unidades de mg/L.

8.4.1.3. Magnesio

Para la obtención de los valores del ion magnesio se realizaron dos diluciones, en donde al primer tubo se le colocó 9 ml de agua desionizada y 1 ml de muestra; se homogenizó con ayuda de la jeringa. Posteriormente, en un segundo tubo, se colocó 1 ml de muestra del primer tubo y se añadió 9 ml de agua desionizada y se procedió a homogeniza, en un tercer y cuarto tubo se adicionó 1 ml de muestra del segundo tubo con 9 ml de agua desionizada. El cuarto tubo se utilizó como control o blanco y el tercer

tubo fue de lectura, es decir se le adicionó la pastilla Magnecol, la cual se trituro y disolvió dentro del tubo de muestra; se deja reposar durante 5 minutos. Luego se puso el tubo de control en el equipo YSI en la opción Magnesium, se realizó la lectura del blanco y posteriormente se colocó el tubo de muestra y se obtuvo el resultado de Mg^{+2} en el agua en unidades de mg/L.

8.4.1.4. Potasio

Para la obtención de los valores del ion potasio se realizó una dilución en donde al primer tubo se colocó 9 ml de agua desionizada y 1 ml de muestra; se homogenizó con ayuda de la jeringa; en un segundo y tercer tubo se colocó 1 ml de muestra del primer tubo con 9 ml de agua desionizada, se procedió a homogenizar. El tercer tubo se empleó como control o blanco y el segundo tubo fue de lectura, es decir, se le adicionó la pastilla Potassium, la cual se trituro y disolvió dentro del tubo muestra, la lectura se la realiza al instante. Se colocó el tubo de control en el equipo YSI en la opción Potassium, se realizó la lectura del blanco y posteriormente se colocó el tubo de muestra y se obtuvo el resultado de K^{+} en el agua en unidades de mg/L.

8.4.1.5. Alcalinidad

Para la obtención de los valores de alcalinidad se empleó 20 ml de agua problema (muestra), y fue distribuida en 2 tubos de vidrio de 10 ml, donde al tubo que no es control se le adicionó una pastilla (alkaphot), se trituro con el uso de bastoncillos y se dejó actuar durante 1 minuto. Para la lectura en el espectrofotómetro se colocó primero el blanco en el equipo configurando la opción alcalinidad, donde la lectura se registró como blanco y posterior a esto se colocó el segundo tubo y se puso a correr el resultado, esto mostró los valores de alcalinidad en unidades de mg/L.

8.4.1.6. Diluciones

Debido a que se realizaron diluciones en la metodología, al tabular los datos es necesario multiplicar por un factor para poder obtener el valor real del ion analizado. Por lo tanto, para la dilución magnesio y potasio se multiplicó por un factor de 1000 y 100, mismos que están descritos en el manual del uso del espectrofotómetro de la empresa.

8.4.2. Detección de patógenos emergentes

8.4.2.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir del método de aislamiento fenol-cloroformo descrito por Betancourt et al. (2017):

- En tubos de eppendorf estériles de 1.5 ml previamente cargados con 650 µl de buffer y SDS al 10% se colocó una cantidad de 0,5 g de pool de muestra.
- Para el caso de AHPND al tratarse de un bacteria con la micropipeta LABNET se extrajo 1000 µl de muestra de cultivo liquido en agar TCBs que fueron colocados en tubos Eppendorf de 1.5 ml, posteriormente se centrifugó por 3 minutos a 10 000 rpm y luego finalizada la acción se desechó el sobrenadante, al pellet restante se le adicionó 650 µl de buffer de lisis con SDS. Para ambos casos, se llevó a agitación mediante vórtex y se incubó por 30 minutos a baño María (60 °C).
- Culminada la etapa, para la separación de lípidos y proteínas se adicionó 600 µl de fenol, el tubo se colocó al vortex por 10 segundos y se centrifugó a 12 000 rpm por 2 minutos, se extrajo 300 µl de sobrenadante.
- Posteriormente se adicionó 1 volumen de cloroformo, agitando en vortex y centrifugando a 13000 rpm por 2 minutos. Se volvió a extraer el sobrenadante en un nuevo tubo adicionando 2.5 volúmenes de etanol frio

al 100% y 200 µl de acetato de amonio, centrifugando a 13 000 rpm por 3 minutos.

- Después se eliminó el sobrenadante de los tubos y se adicionó 400 µl de etanol frío al 70% centrifugando a 10000 rpm por 2 minutos.
- Finalmente el pellet fue secado a 45°C durante 2 horas y suspendido en 50 µl de agua ultra pura Mili-Q.

8.4.2.2 Análisis de PCR

Para el diagnóstico de la infecciones de WSSV, IHHNV y AHPND, se analizó el material genético almacenado a -20°C por PCR (reacción en cadena de la polimerasa), con iniciadores de Kimura et al. (1996) para WSSV, iniciadores propuestos por Quéré et al. (2006), para IHHNV e iniciadores AP4-F/R desarrollados por Sritunyalucksana et al. (2015) para AHPND. La mezcla de reacción de PCR estuvo compuesta por: 200 µl buffer PCR (1x), MgCl₂ (3 mM), dNTPs (0.2 mM), iniciadores, Taq DNA polimerasa (Invitrogen ®), agua Mili-Q y 200 µl ADN extraído. Las amplificaciones se realizaron en un equipo termociclador denominado Applied Biosystems (Betancourt et al., 2017).

En cuanto a las alícuotas de los productos de PCR fueron revelados mediante la técnica de electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% suplementado con 3 µl de

tinción SYBR® Safe de la marca Invitrogen, con una demanda eléctrica de 100 V durante 30 minutos. Para la observación de los productos amplificados se empleó un trans-iluminador con luz ultravioleta.

8.5 Supervivencia

Para evaluar el rendimiento del ácido hipocloroso en agua de cultivo, se calculó el índice de supervivencia de las larvas de camarón en estadio de post larva VIII, empleando la siguiente fórmula matemática que nos dará el siguiente indicador (Membreño et al., 2014):

$$Supervivencia = \frac{Cantidad\ cosecha}{Cantidad\ sembrada} \times 100$$

Para el conteo se pesó 1 gramo de larvas y posteriormente se contó los organismos. Se hicieron 5 réplicas. Posteriormente se hizo una relación final con el peso total cosechado y se aplicó la formula antes descrita.

8.6 Análisis estadísticos

En primera instancia para la recolección y almacenamiento de los datos base se empleó el programa Excel 365, haciendo uso de una matriz que luego fue exportada al programa Minitab Statistical Software versión 19.0. donde a cada variable se le realizó una estadística descriptiva para tener una visión general de los datos. Posteriormente se realizó pruebas de normalidad, seguido de un Anova con Tukey para datos paramétricos y en no paramétricos se empleó la prueba de Kruskal-Wallis.

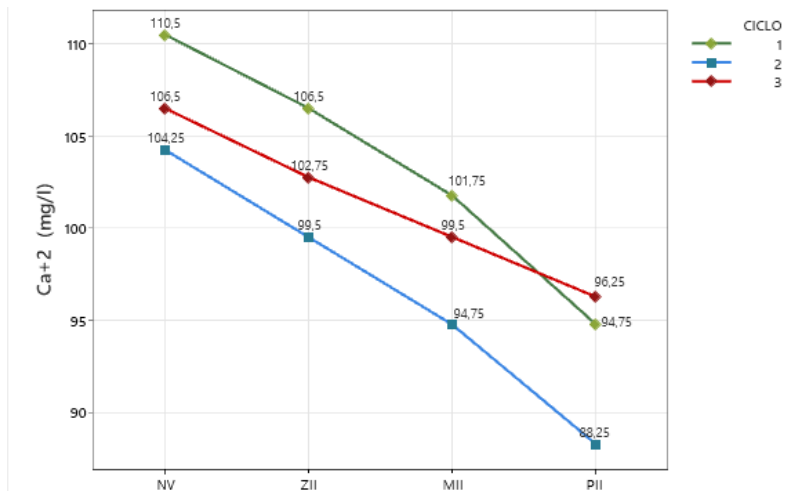
9. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

9.1 Concentración de iones

Se midieron las concentraciones de iones y alcalinidad en el agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso, el calcio, magnesio y potasio presentaron una decadencia en sus valores descritos en mg/l (Figura 10, 11, 12) y la alcalinidad manifestó valores en aumento (Figura 13), conforme trascienden los estadios larvarios, donde las pruebas estadísticas de Tukey (Anexo 8) y Kruskal-Wallis (Anexo 9) muestran las diferencias entre las medias de cada grupo.

Figura 10

Concentraciones del ion calcio

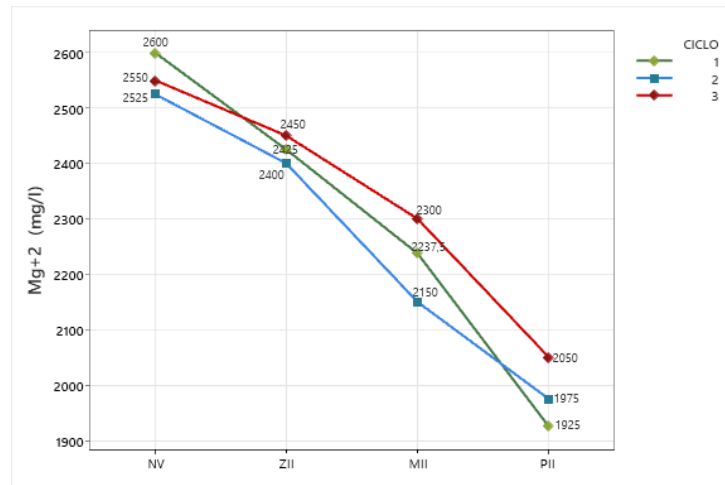


Nota: Los datos fueron colectados en diferentes estadios larvarios, donde cada línea representa un ciclo de análisis, con un tamaño de cuatro muestras por estadio.

En la figura 10 se ilustran las concentraciones en mg/l de calcio en el agua de cultivo en las diversas etapas larvarias durante los tres ciclos de análisis, mismos valores que van presentando una disminución gradual del ion calcio conforme avanzan los estadios larvarios, resaltando el ciclo 1 que mantiene concentraciones de calcio más altas en todos los estadios, seguido por el ciclo 3 y el ciclo 2, este último muestra las concentraciones más bajas, donde la concentración pasó de 104.25 mg/L en el estadio de Nauplio V a 88.25 mg/L para el estadio de Postlarva II. La decadencia de patrón similar en los tres ciclos de análisis podría estar relacionada al tratamiento previo con ácido hipocloroso al agua de cultivo presentado influencia en los iones de calcio presentes.

Figura 11

Fluctuación del ion Magnesio.

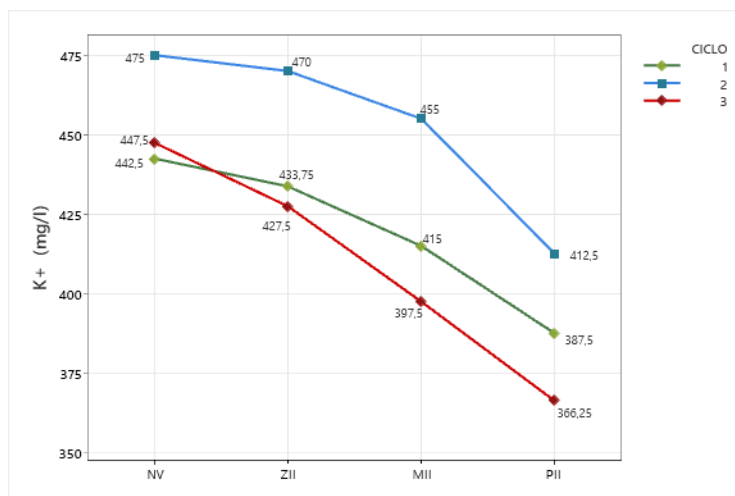


Nota: Los datos fueron recolectados en diferentes estadios larvarios a partir de tres ciclos de análisis. Cada línea corresponde a un ciclo de análisis.

La figura 11 muestra la concentración en mg/l del ion magnesio misma que presenta variaciones en cada estadio larvario, presentando en el ciclo 1 para el estadio de Mysis II concentraciones que pasan de 2237 mg/l a 1925 mg/l en el estadio de Postlarva II, donde la oscilación en la concentración tiende a caer en una pendiente pronunciada. Así mismo el ciclo 2 y 3 presentan la mayor diferencia dentro de estos dos estadios. Cabe recalcar que durante los tres ciclos se visualiza un patrón semejante en cuanto a la tendencia de disminución del ion en análisis.

Figura 12

Fluctuación del ion Potasio.

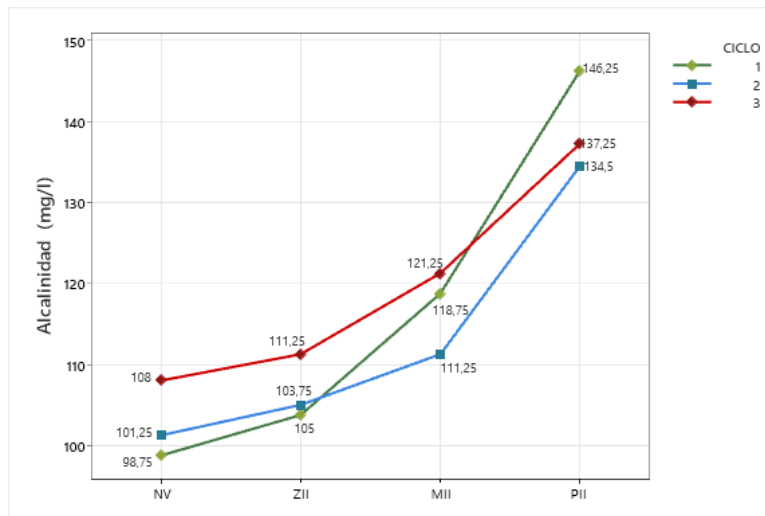


Nota: Los datos fueron recolectados en diferentes estadios larvarios a partir de tres ciclos de análisis, las líneas muestran ciclos independientes.

La Figura 12 visualiza las concentraciones del ion potasio (K⁺) en cada uno de los estadios larvarios en agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso, donde cada línea representa un ciclo en específico, la tendencia de cada uno de los ciclos tiende a disminuir conforme avanzan los estadios larvarios. Se observa que en el ciclo 3 del estadio de Nauplio presenta concentración de 447 mg/l y disminuye a 427 mg/l para el estadio de Mysis, teniendo el rango más amplio con respecto al ciclo 1 (442 mg/l ; 433 mg/l) y el ciclo 2 (475 mg/l; 470 mg/l) que visualizan concentraciones más estables.

Figura 13

Fluctuación de los niveles de alcalinidad.



Nota: Los datos fueron recolectados en diferentes estadios larvarios a partir de tres ciclos de análisis, con un tamaño de cuatro muestras por estadio.

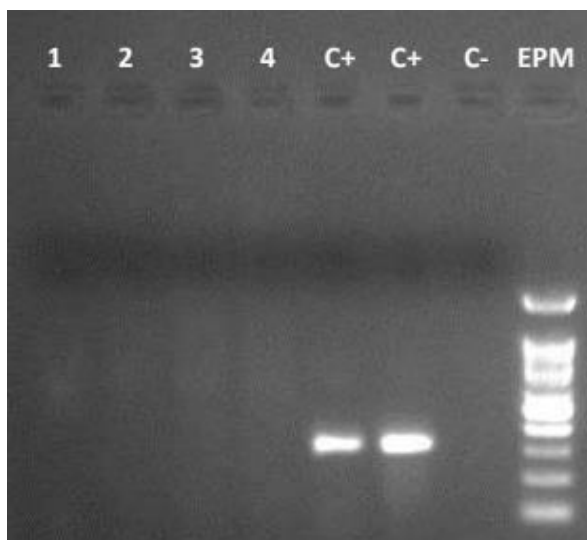
La figura 13 muestra los niveles de alcalinidad en concentraciones de mg/l, en los estadios larvarios respectivos, manifestando valores en aumento desde Nauplio V hasta el pico más alto en Postlarva II. Donde el mayor aumento en la concentración de Alcalinidad se da en el ciclo 1 (118 mg/l a 146 mg/l) en los estadios antes mencionados. Manteniendo concentraciones estables durante los estadios de Nauplio V y Zoea II, en los tres ciclos de análisis.

9.2 Salud de las larvas de camarón

Las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), mostraron una negatividad universal, presentado los controles (c-) negativo destacando que no existieron productos de contaminación, a excepción de los controles positivos con un producto amplificado característico de los cebadores empleados que fueron migrados en el gel de electroforesis para los tres patógenos evaluados WSSV, IHNV y AHPND. Indicando la ausencia de infecciones virales y bacterianas en los estadios de Nauplio V, Zoea II, Mysis II y Postlarvas II.

Figura 14

Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para WSSV.

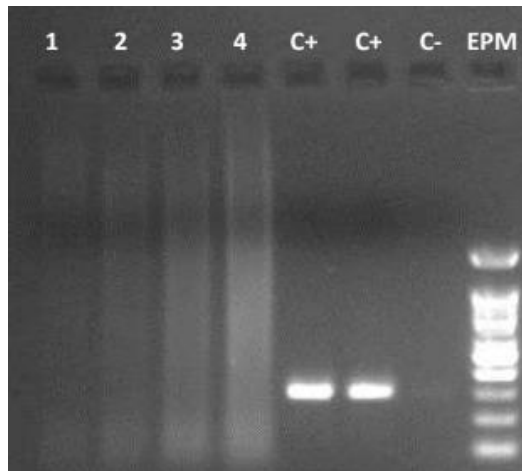


Nota: Se procesaron dos controles positivos y un control negativo. EPM = Estándar de peso molecular (Gene Ruler 100 pb DNA Ladder).

La figura 14 muestra los productos amplificados para la detección del patógeno WSSV, donde los carriles del número 1 al 4 no presentan material amplificado, los carriles C+ siendo los controles positivos, mismos en los que se observa un producto amplificado de 310 pb en referencia a que se situó al medio del tercer amplicón del carril EPM y el carril C-, control negativo de igual forma no muestra productos amplificados, lo que garantiza que no existió productos de contaminación.

Figura 15

Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para IHHNV.

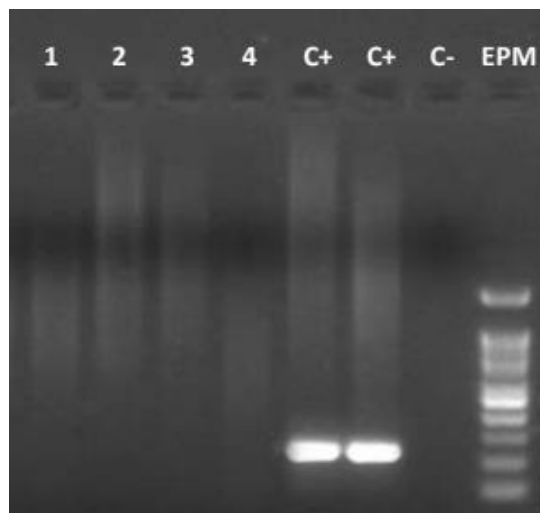


Nota: Se procesaron dos controles positivos y un control negativo. EPM = Estándar de peso molecular (Gene Ruler 100 pb DNA Ladder).

La figura 15 muestra el gel de electroforesis para la detección del patógeno IHNV, donde los carriles del 1 al 4, fueron cargados con el material genético, mismos no presentan productos amplificados por ende las muestras estuvieron libre del virus, para los carriles C+ como controles positivos se observa un producto amplificado de 309 pb en referencia a que se situó sobre el tercer amplicón del carril EPM. Y el carril C- como control negativo no muestra amplificación lo que sugiere que no existió productos de contaminación en los resultados.

Figura 16

Amplificación en gel de agarosa al 1.5% utilizando los iniciadores específicos para AHPND.



Nota: Se procesaron dos controles positivos y un control negativo. EPM = Estándar de peso molecular (Gene Ruler 100 pb DNA Ladder).

La figura 16 muestra los productos amplificados para la detección del patógeno AHPND, donde los carriles del número 1 al 4 no presentan material amplificado, los carriles C+ siendo los controles positivos se observa un producto amplificado de 230 pb en referencia a que se situó del tercer amplicón del carril EPM, característico de los iniciadores empleados y el carril C-, control negativo de igual no muestra productos amplificados, lo que garantiza que no existió productos de contaminación en los análisis.

9.3 Supervivencia larvaria

A través de la prueba paramétrica de Tukey (tabla 2) se afirmó la uniformidad de los valores obtenidos, no siendo estadísticamente diferentes manifestando un valor p 0,620 con lo que se pudo argumentar que el agua de cultivo electrolizada no presentó un impacto en la supervivencia de las larvas de camarón.

Tabla 2. Prueba de Tukey.

CICLO	N	Media	Agrupación
1	4	84,00	A
3	4	82,75	A
2	4	81,25	A

Nota: las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La evaluación de la tasa de supervivencia de las larvas de camarón expuestas al agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso reveló un porcentaje de supervivencia detallada a continuación durante los tres ciclos de producción ($84 \pm 3,91$; $81,25 \pm 2,98$; $82,75 \pm 4,57$).

10. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos mostraron que el agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso (HClO) influyó significativamente en los parámetros fisicoquímicos del agua de cultivo, evidenciándose una disminución progresiva en las concentraciones de calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}) y potasio (K^{+}), mientras que la alcalinidad aumentó a lo largo de los estadios larvarios. Estos resultados son consistentes con los descritos por Rodríguez & Rolando (2022), quienes señalan que los cambios en los niveles de cationes pueden deberse a reacciones químicas inducidas durante el proceso de oxidación del agua.

La alcalinidad en el presente estudio aumentó desde 102 mg/L en Nauplio hasta 137 mg/L en Postlarva, coincidiendo con lo descrito por Vera & Mendoza (2020), quienes destacaron que este incremento estabiliza el pH del agua, reduciendo el estrés larvario y mejorando las condiciones de cultivo.

Los resultados negativos de las pruebas de PCR para los patógenos WSSV, IHNV y AHPND reflejan la efectividad del agua de cultivo electrolizada en los sistemas de cultivo larvario de *Penaeus vannamei*, donde estudios previos, como el de Liu et al. (2024), han demostrado que el agua electrolizada puede eliminar bacterias patógenas como *Vibrio parahaemolyticus*, sin comprometer la calidad del agua, respaldando los hallazgos del presente estudio. Ye Zhangying et al. (2014) también reportaron el amplio espectro bactericida del HClO, atribuyéndolo a su fuerte acción desinfectante sobre la superficie del camarón.

El efecto combinado bactericida y viricida del agua electrolizada es superior al de los desinfectantes químicos convencionales, como lo destacó Kasai et al. (2000), respaldando los datos obtenidos en el presente estudio, donde las pruebas de PCR no mostraron material genético amplificado en las muestras, a excepción de los controles positivos, lo que confirma la ausencia de contaminación por agentes virales y bacterianos. Pattama & Naruemon (2014) también destacan la capacidad del agua electrolizada prevenir patógenos y mejorar la calidad del agua en cultivos acuícolas.

Por otro lado, los estudios de Takeda et al. (2021) reportaron una actividad viricida del 40% en cultivos tratados con HClO, mostrando alteraciones en el genoma

viral detectadas mediante PCR. Aunque en nuestro estudio no se detectan amplificaciones virales, se indica una eliminación completa de los agentes patógenos, obteniendo únicamente un rango de 200-300 pb en los controles positivos.

La supervivencia larvaria en nuestro estudio fue del 84% ,81% y 82%, lo que demuestra que la aplicación controlada de HClO no solo mejora la calidad del agua al eliminar contaminantes y microorganismos dañinos, sino que también proporciona un ambiente estable para el desarrollo larvario. Park et al. (2004), destacaron que bajas concentraciones de HClO previenen eficazmente la mortalidad en cultivos de camarón, resultados que son consistentes con nuestras observaciones.

Israel & Stanislaus (2023) informaron que concentraciones de HClO a 1 ppm no afectan la supervivencia de las larvas, mientras que Yeh et al. (2012) reportaron mortalidades variables (0%, 12%, 27%, y 42%) en Zoea de camarón cultivada en agua electrolizada. Datos semejantes con los resultados de supervivencia del 82% obtenidos en el presente estudio.

11. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

11.1 Conclusiones

- El agua de cultivo tratada con ácido hipocloroso presentó disminución gradual de los iones Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} , excepto la alcalinidad que mostró valores en aumento a medida que avanzan los estadios larvarios. Estos resultados sugieren que el ácido hipocloroso tiene un impacto significativo en el equilibrio iónico del agua de cultivo.
- Las pruebas de PCR resultaron negativas para los patógenos WSSV, IHNV y AHPND en todos los estadios larvarios, lo que indica una adecuada prevención de enfermedades virales y bacterianas en los cultivos con agua electrolizada.
- Los datos de supervivencia mostraron valores porcentuales altos y estables durante los ciclos de análisis, lo que sugiere que el ácido hipocloroso ejerce una influencia positiva en la salud larvaria que permite tasas de supervivencia óptimas.

11.2 Recomendaciones

- Ajustar la concentración de ácido hipocloroso según sea necesario para las diferentes etapas larvarias y así poder mantener el equilibrio iónico óptimo y evitar cambios que puedan ser perjudiciales para el desarrollo larvario.
- Continuar con el uso del agua de cultivo electrolizada como medida preventiva ante patógenos y reforzar los protocolos de bioseguridad, mismos que incluyen pruebas periódicas y pre-ensayos con patógenos nuevos.
- Realizar evaluaciones regulares con equipos de alta precisión para medir concentraciones iónicas y la densidad real de organismos en el agua, permitiendo ajustes inmediatos basados en los resultados de supervivencia.

12. BIBLIOGRAFÍA:

- Ahmed, M., Hua, Z., Green, T., Hanrahan, I., Saadia, H., El-kholy, G., & Zhu, M. (2018). Efficacy of Ozonated Water, Chlorine, Chlorine Dioxide, Quaternary Ammonium Compounds and Peroxyacetic Acid Against *Listeria Monocytogenes* Biofilm on Polystyrene Surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02296>
- Aider, M., Gnatko, E., Benali, M., Plutakhin, G., & Kastyuchik, A. (2012). Electro-activated aqueous solutions: Theory and application in the food industry and biotechnology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 15, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.02.002>
- Aranguren, L., Gómez, M., Piedrahita, Y., Mai, H., Cruz, R., Alenton, R. & Dhar, A. (2022). Estado actual de la infección por el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV) en la industria camaronera peruana y ecuatoriana. *Global Seafood Alliance*. <https://www.globalseafood.org/advocate/estado-actual-de-la-infeccion-por-ihhmv-en-las-industrias-camaroneras-de-peru-y-ecuador/>
- Balakrishnan, P., Rai, P., Mohan, S., Shekhar, M. & Indrani, K. (2012). Biology, Host Range, Pathogenesis and Diagnosis of White spot syndrome virus. *Indian Journal of Virology*, 23(2), 161–174. <https://doi.org/10.1007/s13337-012-0079-y>
- Bardera, G., Usman, N., Owen, M., Pountney, D., Sloman, K. A., & Alexander, M. (2018). The importance of behaviour in improving the production of shrimp in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1104–1132. <https://doi.org/10.1111/raq.12282>

- Betancourt, I., Angeles, M. & Bajaña, L. (2017). Caracterización molecular de bacterias patógenas asociadas a enfermedades emergentes en camarones *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. *Espol.edu.ec*.
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56047>
- Borbor, K., & Stanislaus, S. (2023). Determinación de parámetro de eficiencia de un sistema de electro-cloración de agua de mar para la desinfección de sistema de cultivo comercial de larvas de camarón *Penaeus vannamei*. *Espol.edu.ec*.
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/58154>
- Bores, G., Vizcaino, A., Civera, A., & Cadena, K. (2023). Manual para la identificación de estadios larvales del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Cibnor.mx*.
<https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/2743>
- Boyd, C. (2017). Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. Alabama.
https://www.academia.edu/31961115/CONSIDERACIONES_SOBRE_LA_CALIDAD_DEL_AGUA_Y_DEL_SUELO_EN_CULTIVOS_DE_CAMAR%C3%93N_CALIDAD_DEL_AGUA_Temperatura
- Cárcamo-Aréchiga, N., José Manuel Grijalva-Chon, Hernández-López, J., Varela-Romero, A., Marco Antonio López-Torres, & Luis Ángel Medina-Juárez. (2016). Mecanismos de defensa de los camarones peneidos durante un proceso infectivo: una revisión/ defense mechanisms of penaeid shrimp during the infective process: a review. *Biotechnia*, 18(1), 32–32.
<https://doi.org/10.18633/bt.v18i1.242>
- Cervantes, F. & Moreno, V. (2023). Diseño de un sistema de tratamiento de agua para su recirculación en laboratorios de larvas de camarón. *Espol.edu.ec*.
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/4639>

- Cheng, X., Tian, Y., Zhao, C., Qu, T., Ma, C., Liu, X., & Yu, Q. (2016). Bactericidal Effect of Strong Acid Electrolyzed Water against Flow Enterococcus faecalis Biofilms. *Journal of Endodontics*, 42(7), 1120–1125.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.04.009>
- Cobo, R., & Pérez, L. (2018). Aspectos generales del cultivo y la genética del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquadocs.org*. <https://doi.org/0138-8452>
- Comisión Europea. (2021). *Penaeus vannamei*. Europa.eu. https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species/penaeus-vannamei_es
- Cuellar, J. (2013). Necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHN). The Center the Food Security & Public Health.
<https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/infectious-hypodermal-and-hematopietic-necrosis-es.pdf>
- Cuellar, J. (2023). *Enfermedad de las manchas blancas*. The Center The Food Security & Public Health. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/white-spot-disease-es.pdf>
- Da Silva, M., Ramiro, B., Neto, O. & Guerra, R. (2019). Moulting cycle stages in *Macrobrachium rosenbergii* by setogenesis method. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45(2), e428. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.2.428>
- Dangtip, S., Sirikharin, R., Sanguanrut, P., Thitamadee, S., Sritunyalucksana, K., Taengchaiyaphum, S., Mavichak, R., Proespraiwong, P. & Flegel, T. (2015). AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquac. Rep.* 2, 158–162. <https://doi.org/10.1016/j>

- Dantas, D. A., Teixeira, D. G., Cássia, R., Soares, E. T., Paulo, J., Agnez-Lima, L. F., & Carlos, D. (2018). Direct sequencing of the white spot syndrome virus from Brazil: Genome assembly and new insights on phylogeny. *Virus Research*, 245, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.12.006>
- De Gryse, G., Thuong, V., Descamps, B., Den, V., Vanhove, C., Pieter, S., Bossier, P., & Nauwynck, H. (2020). The shrimp nephrocomplex serves as a major portal of pathogen entry and is involved in the molting process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(45), 28374–28383. <https://doi.org/10.1073/pnas.2013518117>
- Devadas, S., Banerjee, S., Yusoff, S., Bhassu, S. & Shariff, M. (2019). Experimental methodologies and diagnostic procedures for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*, 499, 389–400. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.042>
- Ding, T., Xuan, X.-T., Li, J., Chen, S.-G., Liu, D.-H. & Ye, X. (2016). Eficacia y mecanismo de desinfección del agua electrolizada ligeramente ácida sobre *Staphylococcus aureus* en cultivo puro. *Food Control*, 60, 505–510. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.037>
- FAO. (2020). FishStatJ software for fisheries and aquaculture statistical time series. Fisheries Division: FAO (Food and Agriculture Organization). <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/>
- Figueroa, L., Uribe, E., & Figueroa, T. (2018). Ventajas e inconvenientes del uso de alimento vivo en la nutrición de peces. *Inventio*, 14(33), 39–43. <https://inventio.uaem.mx/index.php/inventio/article/view/128>

- Fukuzaki, S. (2006). Mechanisms of Actions of Sodium Hypochlorite in Cleaning and Disinfection Processes. *Biocontrol Science*, 11(4), 147–157.
<https://doi.org/10.4265/bio.11.147>
- González, C. & Brown, J. (2017). Effects of alkalinity and total hardness on growth and survival of postlarvae freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879). *Aquaculture*, 473, 521–527.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.016>
- Guerrero, J. (2021). *Detección del virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV) mediante análisis de PCR en Penaeus vannamei*. Ug.edu.ec; Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil. <https://repositorio.ug.edu.ec/items/fced41cd-f599-4771-9725-00e47e00e7f9>
- Gurrola, H. (2016). Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado. *Cibnor.mx*.
<http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/42>
- Han, J., Tang, K., Pantoja, C., White, B. & Lightner, D. (2015). qPCR assay for detecting and quantifying a virulence plasmid in acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) due to pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture* 442, 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.024>.
- Harsha, R. & Allen, D. (2020). The effects of magnesium concentration in low-salinity water on growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research*, 52(2), 589–597. <https://doi.org/10.1111/are.14916>
- Herrera, A., Herrera, A., & Betancourt, V. (2021). Análisis de la proyección de las exportaciones de camarón del Ecuador. *Revista Científica*

Agroecosistemas, 9(2), 7–12.

<https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/462>

- Hunt, D., Gevers, D., Vahora, N. & Polz, M. (2008). Conservation of the Chitin Utilization Pathway in the *Vibrionaceae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 44–51. <https://doi.org/10.1128/aem.01412-07>
- Huynh, T.-B., Thuy-Dung Mai-Hoang, Tram-Anh Bui-Nguyen, Thi, T., Phan, M.-D., & Hieu Tran-Van. (2023). Characteristics and diversity of *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in Vietnam. *Aquaculture and Fisheries*. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2023.10.004>
- Israel, K. & Stanislaus, S. (2023). Determinación de parámetro de eficiencia de un sistema de electro-cloración de agua de mar para la desinfección de sistema de cultivo comercial de larvas de camarón *Penaeus vannamei*. *Espol.edu.ec*. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/58154>
- Kasai, H., Ishikawa, A., Hori, Y., Watanabe, K., & Mamoru, Y. (2000). Disinfectant Effects of Electrolyzed Salt Water on Fish Pathogenic Bacteria and Viruses. *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 66(6), 1020–1025. <https://doi.org/10.2331/suisan.66.1020>
- Kimura, T., Yamano, K., Nakano, H., Momoyama, K., Hiraoka, M., & Inouye, K. (1996). Detection of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathology*, 31(2), 93-98.
- Liu, H., Zhang, X., Tan, B., Lin, Y., Chi, S., Dong, X., & Yang, Q. (2013). Effect of dietary potassium on growth, nitrogen metabolism, osmoregulation and immunity of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in low salinity seawater. *Journal of Ocean University of China*, 13(2), 311–320. <https://doi.org/10.1007/s11802-014-2118-3>

- Loayza, C., Tóala, J., Salcedo, V. & Sotomayor, J. (2022). Efecto covid-19 en las determinantes de las exportaciones del sector camaronero del Ecuador, año 2020. *ECA Sinergia*, 13(1), 21–32.
<https://www.redalyc.org/journal/5885/588569800002/html/>
- Mai, T., Tien, H., Hai, M., Nguyen, K., Quoc, P., Linh, T. & Tran, H. (2021). A novel PCR method for simultaneously detecting Acute hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) and mutant-AHPND in shrimp. *Aquaculture*, 534, 736336–736336. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736336>
- Membreño, L., Morales, S. & Martínez, E. (2014). Crecimiento de camarones blancos *Litopenaeus vannamei* en juveniles con dos tipos de alimentos: uno comercial con 25% de proteína vrs experimental con 18% de proteína a densidad de siembra de 12 ind/m² (Sistema semi-intensivo). 5(2), 102–117.
<https://doi.org/10.22004/ag.econ.208072>
- Mero, R. (2021). Principales agentes infecciosos asociados al cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei* reportados en Ecuador durante el periodo 2010-2021. *Upse.edu.ec*. <https://doi.org/UPSE-TBI-2021-0016>
- Navaneeth, K., Bhuvaneswari, T., Rajan, J., Alavandi, S., Vijayan, K. & Otta, S. (2020). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from shrimp farms of Southeast coast of India with special reference to Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) status. *Aquaculture*, 518, 734813–734813. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734813>
- Oliveira, J., Jhonatas, T. & Maggioni, R. (2024). Quantitative real-time PCR reveals viral interference between white spot syndrome virus (WSSV) and infectious myonecrosis virus (IMNV) in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 579, 740159–740159. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740159>

- Park, J., Seok, S., Cho, S., Baek, M., Lee, H., Kim, D., Kim, H., Chang, S., & Park, J. (2004). Safety and protective effect of a disinfectant (STEL water) for white spot syndrome viral infection in shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60, 253–257. <https://doi.org/10.3354/dao060253>
- Pattama, R. & Naruemon, J. (2014). Efficacy of Neutral Electrolyzed Water for Reducing Pathogenic Bacteria Contaminating Shrimp. *Journal of Food Protection*, 77(12), 2176–2180. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-14-161>
- Pénzes, J., Pham, H., Chipman, P., Bhattacharya, N., McKenna, R., Agbandje, M., & Tijssen, P. (2020). Molecular biology and structure of a novel penaeid shrimp densovirus elucidate convergent parvoviral host capsid evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(33), 20211–20222. <https://doi.org/10.1073/pnas.2008191117>
- Peña, N. & Varela, A. (2016). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*, 51(3), 553–564. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572016000300007>
- Pimentel, O., De Oliveira, Q. & Do Rêgo, O. (2024). Compuestos nitrogenados y patrones de alcalinidad en viveros y preengorde de *Penaeus vannamei* con agua de baja salinidad y sistema simbiótico: un estudio de caso. *Aquacult Int* 32, 1703–1718 <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01237-x>
- Quéré, R., Thérèse, C., Marti, J., Bonami, J. & Piquemal, D. (2002). White spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus simultaneous diagnosis by miniarray system with colorimetry detection. *Journal of Virological Methods*. [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(02\)00106-](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00106-4)

- Rodriguez, R. & Rolando, R. (2022). Incidencia de los niveles de calcio, magnesio, potasio y su impacto en el desarrollo larvario del *Litopenaeus vannamei* en los meses de marzo a junio en la zona de Chanduy - provincia de santa elena. *Espol.edu.ec*. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56511>
- Sánchez, A. (2010). White spot syndrome virus: an overview on an emergent concern. *Veterinary Research*, 41(6), 43–43.
<https://doi.org/10.1051/vetres/2010015>
- Saúl, R. (2020). *Relevancia del balance iónico para la cría de camarones* -. Molinos Champion. <https://www.molinoschampion.com/relevancia-del-balance-ionico-para-la-cria-de-camarones/>
- Shirahata, S., Hamasaki, T. & Teruya, K. (2012). Advanced research on the health benefit of reduced water. *Trends in Food Science & Technology*. ELSEVIER.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.009>
- Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sritunyalucksana, K., Thitamadee, S., Flegel, T., Mavichak, R., & Proespraiwong, P. (2014). A new and improved PCR method for detection of AHPND bacteria. *Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA)*, 7(9).
- Sirintip Dangtip, Ratchanok Sirikharin, Piyachat Sanguanrut, Siripong Thitamadee, Kallaya Sritunyalucksana, Suparat Taengchaiyaphum, Rapeepat Mavichak, Porranee Proespraiwong, & Flegel, T. W. (2015). AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Reports*, 2, 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.10.002>
- Skretting. (2023). Manual de maduración *Litopenaeus vannamei*.
[https://libreriascretting.ec/admin/public/uploads/catalogos/Manual_de_cria_de_Langostino_\(Esp\)_Ecuador.pdf](https://libreriascretting.ec/admin/public/uploads/catalogos/Manual_de_cria_de_Langostino_(Esp)_Ecuador.pdf)

- Takeda, Y., Dulamjav, J., Yoshimasa, K., Kaneko, A., Matsuda, S., Ogawa, H., & Oh, H. (2021). Inactivation Activities of Ozonated Water, Slightly Acidic Electrolyzed Water and Ethanol against SARS-CoV-2. *Molecules*, 26(18), 5465–5465. <https://doi.org/10.3390/molecules26185465>
- Tamaki, S., Bui, V., Ngo, L., Ogawa, H. & Imai, K. (2013). Virucidal effect of acidic electrolyzed water and neutral electrolyzed water on avian influenza viruses. *Archives of Virology*, 159(3), 405–412. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1840-2>
- Tang, K. & Lightner, D. V. (2000). Quantification of white spot syndrome virus DNA through a competitive polymerase chain reaction. *Aquaculture*, 189(1-2), 11–21. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(00\)00367-7](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(00)00367-7)
- TEXCUMAR. (2019). TEXCUMAR Centro de Reproducción y Mejoramiento Genético de Camarón. Obtenido de <http://www.textcumar.com/Productos.aspx>.
- Toral, C. (2017). *Rol de los iones Na^+ , K^+ y Cl^- en el camarón - Clásico y Élite*. Clásico Y Élite. <https://www.balnova.com/rol-de-los-iones-na%E2%81%BA-k%E2%81%BA-y-cl%C2%AF-en-el-camaron/>
- Valenzuela, I., Wenceslao, Q., Esparza, H., Rodríguez, G. & Aragón, N. (2017). Effects of ionic composition on growth and survival of white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture at low-salinity well water. *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*, 52(1), 103–112. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572017000100008>
- Vera, C. & Mendoza, J. (2020). Evaluación de parámetros físico-químicos de aguas de pozo para cultivo intensivo de camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* con baja tasa de recambio. Escuela Superior Politécnica Del Litoral.

<https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/51448/1/T-76728%20Vera-Mendoza.pdf>

Xiao, J., Liu, L., Ke, Y., Li, X., Liu, Y., Pan, Y., Yan, S., & Wang, Y. (2017). Shrimp AHPND-causing plasmids encoding the PirAB toxins as mediated by pirAB-Tn903 are prevalent in various *Vibrio* species. *Scientific Reports*, 7(1).
<https://doi.org/10.1038/srep42177>

Ye, Z., Qi, F. & Pei. (2014). Efecto bactericida y cinética del agua electrolizada ligeramente ácida en camarones [J Chinese Jornal of Agriculture Engineering, 2014(3):223-230. 1002-6819.2014 03.029.

Yeh, S., Hsia, L. & Liu, C. (2012). Usage of electrolytic water system in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) larval hatchery system. *Aquaculture Research*, 44(5), 713–727. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03076.x>

Zhao, L., Li, S., & Yang, H. (2021). Recent advances in research of electrolyzed water and its applications. *Current Opinion in Food Science*, 41, 180–188.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.004>

Zorriehzahra, M. & Banaederakhshan, R. (2015). *Early Mortality Syndrome (EMS) as new Emerging Threat in Shrimp Industry*. ResearchGate; Researchers Links Ltd.
https://www.researchgate.net/publication/273522013_Early_Mortality_Syndro me_EMS_as_new_Emerging_Threat_in_Shrimp_Industry

13. ANEXOS

Anexo 1. Bitácora de recolección de datos

FECHA:					ESTADIO:				
BASE	Nº TANQUE	Ca ⁺² (mg/l)	Alcalinidad	Mg ⁺² (mg/l)	K ⁺ (mg/l)	ORP (Mv)	pH	Salinidad (ppm)	Temp. (°C)

Anexo 2. Parámetros físico químicos de muestras de agua tratadas con ácido hipocloroso en tiempo 0 (Instante).

ORP (Mv)	pH-	SALINIDAD (ppt)	TEMPERATURA (°C)
730	8,11	32,2	24
675	8,15	32,3	28
640	8,17	34,1	24
620	8,2	34,3	27,6
700	8,2	34	24
680	8,33	34,4	24,8
690	8,28	33,9	24,2
680	8,1	34	26,1
700	9	33,4	26,7
703	8,3	32	22,4
640	8,7	32,1	25,6
690	8,6	32,5	24,6

Anexo 3. Parámetros físico-químicos del agua de cultivo por estadios larvarios.

	ORP (Mv)	pH	Salinidad (ppm)	Temperatura (°c)
NAUPLIO V	190	8,2	34	31
	188	8,2	33,6	31
	183	8,2	33,5	31
	185	8,2	33	31
	195	8,5	30,5	31
	195	8,5	30,5	31
	197	8,5	30,5	31
	197	8,5	30,5	31
	243	8,1	32,5	30,6
	240	8,1	32	30
	237	8,1	32,7	31
	228	8,1	32,5	32,7
ZOEIA II	188	8,2	33,2	33,5
	185	8,2	33,4	33,2
	178	8,2	33,4	32
	180	8,2	33,4	33
	189	8,2	30	33
	187	8,2	30	33
	187	8,2	30	32
	178	8,2	30	33
	198	8,28	32,8	30,9
	200	8,18	32,3	32,1
	210	8,13	32,3	30,6
	200	8,15	32,6	30,3
MYSIS II	180	8	30	33,6
	167	8	30	33
	197	8	30	32,7
	180	8	30	33,5
	167	8	30	29
	187	7,8	30	29
	174	8	30	30
	159	8	30	30
	232	7,87	30,8	28,1
	236	7,85	31	27,3
	228	7,43	33	28,4
	234	7,6	33	27,8
POSTLARVA II	257	8,1	29	33,8
	254	8,1	29	34
	250	8,1	30	34
	248	8,1	30	33
	403	8,5	30,8	30
	381	7,9	30,7	30
	370	8	30,6	30
	388	8	30,6	30
	238	7,8	33,1	28
	239	7,9	33	28,5
	241	7,9	33	28
	245	7,9	33	28,1

Nota: El color es distintivo de cada ciclo de producción.

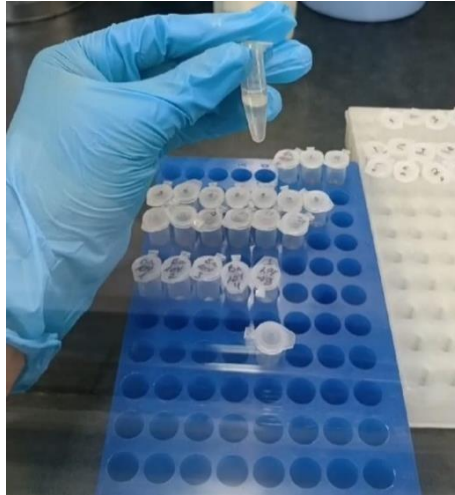
Anexo 4. Practica de análisis de iones empleando espectrofotómetro YSI-9300.



Anexo 5. Diluciones 1/9 para lectura de muestras.



Anexo 6. Practica de extracción de ADN.



Anexo 7. Migración de material genético en cámara de electroforesis.



Anexo 8. Pruebas estadísticas de Tukey en iones calcio, magnesio y potasio.

Calcio				Magnesio			
ORDEN	N	Media	Agrupación	ESTADIO LARVARIO	N	Media	Agrupación
1	12	107,08	A	NAUPLIO V	12	2558,3	A
2	12	102,92	A B	ZOEA II	12	2425,0	A
3	12	98,67	B	MYSIS II	12	2229,2	B
4	12	93,08	C	POSTLARVA II	12	1983,3	C

Potasio				
	ESTADIO LARVARIO	N	Media	Agrupación
	NAUPLIO V	12	455,00	A
	ZOEA II	12	443,75	A B
	MYSIS II	12	422,50	B
	POSTLARVA II	12	388,75	C

Nota: las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 9. Pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis en alcalinidad.

Alcalinidad			
Prueba			
Hipótesis nula	H ₀ : Todas las medianas son iguales		
Hipótesis alterna	H ₁ : Al menos una mediana es diferente		
Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	3	35,64	0,000
Ajustado para empates	3	36,18	0,000

Nota: Hay diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los grupos analizados.