



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

**“CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS  
MARINAS RECUPERADAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN  
COMERCIALES DE POSTLARVAS (*Litopenaeus vannamei*), MAR  
BRAVO - SANTA ELENA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO MARINO**

AUTOR:

**ERMEL ROLANDO VITERI SANTANA**

TUTORA:

BLGA. MARITA MONSERRATE M.Sc.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2015

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

**“CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS  
MARINAS RECUPERADAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN  
COMERCIALES DE POSTLARVAS (*Litopenaeus vannamei*),  
MAR BRAVO - SANTA ELENA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIÓLOGO MARINO

AUTOR:

**ERMEL ROLANDO VITERI SANTANA**

TUTORA:

BLGA. MARITA MONSERRATE M.Sc.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2015

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad por las investigaciones, resultados y discusiones en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal Península de Santa Elena y la empresa BIOGEMAR S.A.”.

---

Ermel Rolando Viteri Santana

## **DEDICATORIA**

De manera especial a mis amados padres Zoila y César, a mi hermosa hermana Marlene quienes gracias a sus consejos diarios, quienes con todo su amor me brindaron apoyo incondicional siempre que los necesite, depositando un granito de arena para que este sueño se haga posible.

Con todo mi corazón gracias

Ermel Viteri Santana.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, mi más grande fortaleza, quien me guió en el sendero de superación y me protegió en todo momento, manteniéndome en pie de lucha.

A la Universidad Estatal Península de Santa Elena y Facultad Ciencias del Mar, a nuestro Decano Ocean. Johnny Chavarría M.Sc y la Directa de Carrera Blga. Dennis Tomalá M.Sc por ser guías claves en este proceso formativo.

A mi tutora tesis que me brindo todo su apoyo incondicional a la Bióloga Marita Monserrate M.Sc, quién confió en todo momento para la realización de mi tesis, incentivándome en todo momento la paciencia y perseverancia, guiándome con entereza y constancia por el camino del conocimiento, y enriquecerme no sólo como profesional sino como ser humano.

Mis más sinceros agradecimientos al Ac. Walter Intriago Díaz, gerente general de Biogemar S.A. Por facilitarme las instalaciones del laboratorio de Microbiología y los equipos en la utilización el proyecto de investigación, además de aportar en la parte presupuestal con el financiamiento de la tesis.

Al M.Sc. Ricardo Cedeño, Director de Investigación de la empresa Biogemar S.A., por ser pilar fundamental en este proceso, y abrirme las puertas, siendo el nexo vinculante entre las Instituciones participantes y brindarme todo su apoyo en la parte logística, quién con sus consejos me alentó a salir adelante, incitándome a desarrollar mis conocimientos y a ser mejor cada día como ser humano.

Al equipo técnico del laboratorio de Microbiología y Biología molecular las Biólogas Mercedes Salinas, Jenny Mejillón y la Lcda. Janeth Otaiza y a los operarios de larvicultura de la base Acuática.

A la Dra. María Herminia Cornejo, por su enseñanza, sugerencias y correcciones en los momentos que más las necesitaba, y aclarando mis ideas en el desarrollo de esta investigación.

A mis docentes blga. Tanya González, Q.F. Mery Ramírez y compañeros de la Facultad, quiénes durante toda mi vida estudiantil universitaria, me brindaron su amistad incondicional y siempre estuvieron apoyándome con sus consejos de que la vida es única y hay que sacarle el mayor provecho.

A la Dra. Nardy Diez, del programa PROMETEO por brindarme sus sabios consejos, orientándome en mi labor científica dentro de mi formación académica.

En especial a Kerly Balón, quien se ha convertido en mi mejor compañera y apoyo durante mi vida estudiantil.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mis más sinceros agradecimientos.

## TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

Ocean. Johnny Chavarría Viteri Ph.D  
Decano Facultad Ciencias del Mar

---

Blga. Dennis Tomalá Solano M.Sc  
Directora de Escuela Biología

---

Blga. Marita Monserrate Vite M.Sc.  
Profesor Asesor

---

Acuic. José Melena Cevallos Ph.D.  
Profesor del Área

---

Acuic. Ricardo Cedeño Campuzano M.Sc.  
Co-Tutor

---

Ab. Joe Espinoza Ayala, Mgt.  
Secretario General

## ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN EXPRESA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN.....	v
SIMBOLOGÍA Y ABREVIATURAS.....	xxi
RESUMEN.....	xxiii
ABSTRACT .....	xxiv
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	6
OBJETIVO GENERAL .....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	6
HIPÓTESIS .....	7
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>8</b>
MARCO TEÓRICO.....	8
1.1. Generalidades del camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931) ..	8
1.1.1. Ciclo de vida del camarón blanco.....	9
1.1.2. Desarrollo larvario del camarón blanco.....	9
1.1.3. Parámetros físico – químicos óptimos para el cultivo del camarón blanco.....	10

1.1.4. Manejo de la nutrición en los estadíos tempranos del camarón blanco.....	11
1.2. Diversidad bacteriana.....	12
1.3. Dinámica bacteriana .....	13
1.4. Las bacterias en la Acuicultura.....	13
1.4.1. Actividad de las comunidades microbianas asociadas al cultivo de camarón blanco <i>L. vannamei</i> , beneficios y perjuicios.....	14
1.5. El Género <i>Vibrio</i> .....	16
1.5.1. Clasificación taxonómica .....	16
1.5.2. El Género <i>Vibrio</i> : Impactos sobre cultivos de camarones Peneidos ..	17
1.6. El Género <i>Pseudomonas</i> .....	20
1.6.1 Clasificación científica.....	20
1.6.2. El Género <i>Pseudomonas</i> : Impactos sobre cultivos de camarones Peneidos .....	21
1.7. Los probióticos .....	21
1.7.1. El Rol de las bacterias probióticas.....	22
1.8. Criterios de selección, aislamiento e identificación bacteriana.....	23
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>25</b>
<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>25</b>
2.1. Área de estudio.....	25
2.2. Metodología .....	25
2.2.1. Fase de campo.....	25

2.2.2. Fase de laboratorio .....	27
2.3. Análisis de datos:.....	30
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>31</b>
<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
3.1. Análisis de parámetros físico - químicos del agua del tanque de cultivo .....	31
3.1.1. Temperatura.....	31
3.1.2. pH.....	32
3.1.3. Oxígeno disuelto .....	33
3.1.4. Salinidad .....	34
3.2. Análisis de la dinámica bacteriana de las muestras de agua, larvas, <i>Artemia salina</i> , algas y probióticos, durante el ciclo de cultivo. ....	36
3.2.1. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Agua durante el periodo de muestreo .....	36
3.2.2. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón durante el periodo de muestreo .....	37
3.2.3. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de Agua durante el periodo de muestreo.....	38
3.2.4. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de Larvas de camarón durante el periodo de muestreo.....	39
3.2.5. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras del masivo de algas durante el periodo de muestreo.....	40
3.2.6. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras de <i>Artemia salina</i> durante el periodo de muestreo.....	41

3.2.7. Crecimiento de Bacterias Marinas Totales en las muestras recolectadas de agua, larvas, masivo de algas y <i>Artemia salina</i> durante la fase de producción..	44
3.2.8. Crecimiento de Vibrios en las muestras recolectadas de agua, larvas, masivo de algas y <i>Artemia salina</i> durante la fase de producción.....	45
3.2.9. Diagrama de cajas de dinámica de crecimiento de Bacterias marinas y Vibrios en muestras de agua y larvas de camarón durante el periodo de muestreo .....	46
3.2.10. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios de las muestras de agua, durante la fase experimental .....	47
3.2.11. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de larvas, durante la fase experimental .....	48
3.2.12. Relación de pH y Oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios de las muestras de agua, durante la fase experimental .....	50
3.2.13. Relación de pH y oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de larvas, durante la fase experimental .....	51
3.3 Relación de la dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios con la supervivencia en el desarrollo larvario de <i>L. vannamei</i> .....	52
3.4. Otros resultados obtenidos .....	54
3.4.1 Cepas bacterianas aisladas de las muestras de agua, larvas, algas y artemia, durante la fase experimental .....	54

<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>55</b>
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	55
5.1. Conclusiones .....	55
5.2. Recomendaciones .....	57
6. Bibliografía .....	58
Referencias de Sitios Web: .....	68
ANEXOS .....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla # 1. Vibrios patógenas aisladas en sistemas de cultivos de <i>L. vannamei</i> de a nivel de laboratorios y camaroneras. ....	19
Tabla # 2. Estadística descriptiva de las concentraciones bacterianas obtenidas en las muestras analizadas, durante el periodo de muestreo .....	43
Tabla # 15. Relación de la dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios con la supervivencia en el desarrollo larvario de <i>L. vannamei</i> .....	52
Tabla # 3. Cepas bacterianas de las diferentes muestras de análisis, durante la fase experimental. ....	54
Tabla # 4 .Preparación de medios de cultivos (Agares).....	70
Tabla # 5. Esquema de las diluciones las muestras para la siembra en Agar Marino (DIFCO <sup>TM</sup> ) y recuento por diluciones seriadas .....	72
Tabla # 6. Esquema de las diluciones las muestras para la siembra en Agar TCBS (DIFCO <sup>TM</sup> ) y recuento por diluciones seriadas .....	73
Tabla # 7. Temperatura °C en los tanques de muestreo durante el periodo de producción.....	74
Tabla # 8. pH en los tanques de muestreo durante el periodo de producción .....	74
Tabla # 9. Oxígeno disuelto en los tanques de muestreo durante el periodo de producción.....	75
Tabla # 10. Salinidad en los tanques de muestreo durante el periodo de producción .....	75
Tabla # 11. Cuantificación bacteriana de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras de aguas y algas durante el periodo de muestreo .....	76

Tabla # 12. Cuantificación bacteriana de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras de Larvas de camarón y Artemia Salina durante el periodo de muestreo	77
Tabla # 13. Codificación para aislamiento de cepas bacterianas de distintos medios	78
Tabla # 14. Supervivencia obtenida en el desarrollo larvario de <i>L. vannamei</i>	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Ciclo de producción de <i>L. vannamei</i> , tomado de <a href="http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es">http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es</a> .....	80
Fig. 2. Ciclo de vida de la Artemia. Tomado de <a href="http://www.fao.org/docrep/field/003/AC410S/AC410S03.htm">http://www.fao.org/docrep/field/003/AC410S/AC410S03.htm</a> .....	81
Fig. 3. Árbol filogenético de la vida, con sus tres dominios y reinos, propuesto por Woese. Tomado de (Beas, et al., 2009). .....	81
Fig. 4. Vibrio sp aislado de las muestras de larvas de <i>L. vannamei</i> , observado al microscopio con aceite de inmersión a 100 X. Foto del Autor. ....	82
Fig. 5. Representación gráfica de las interacciones de Vibrios en diferentes compartimentos del ecosistema costero tomado de <a href="http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572008000300004&amp;script=sci_arttext">http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572008000300004&amp;script=sci_arttext</a> .....	82
Fig. 6. Pseudomonas aeruginosa al microscopio de barrido, con falso color. Tomado de <a href="http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas">http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas</a> .....	83
Fig. 7. Características morfológicas de la colonia y términos descriptivos para las colonias bacterianas halladas con frecuencia. Tomado de (Forves, 2007). .....	83
Fig. 10. Área de estudio: Laboratorio Integral BIOGEMAR S.A., Mar Bravo, Provincia de Santa Elena. Fuente: GOOGLE EARTH, 2015. ....	84
Fig. 11. Recuento de bacterias por diluciones seriadas tomado de (Urmeneta-Alonso, et al., 2000). ....	85

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Foto # 1. Observación al microscopio en lente 10 X de huevos fértiles de camarón blanco <i>L. vannamei</i> , a las 12 horas antes de la eclosión. (Viteri-Santana, 2015).....	86
Foto # 2. Observación al microscopio en lente 10X de etapa Nauplio V de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	86
Foto # 3. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea I de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	87
Foto # 4. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea II de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	87
Foto # 5. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea III de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	88
Foto # 6. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis I de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	88
Foto # 7. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis II de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	89
Foto # 8. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis III de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	89
Foto # 9. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva I de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	90
Foto # 10. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva II de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	90
Foto # 11. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva III de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	91

Foto # 12. Observación al microscopio en lente 10X de <i>Artemia salina</i> , destinada para alimentación de larvas de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	91
Foto # 13. Observación al microscopio en lente 40X de <i>Thalassiosira weissflogii</i> , destinada para alimentación de larvas de <i>L. vannamei</i> . (Viteri-Santana, 2015).....	91
Foto # 14. Tanques de muestreo en proceso de secado, Base Acuática. (Viteri-Santana, 2015). .....	92
Foto # 15. Tanques de muestreo en fase de llenado, Base Acuática. (Viteri-Santana, 2015). .....	92
Foto # 16. Medición de temperatura y oxígeno disuelto en los tanques de muestreo, con el equipo YSI (55 Dissolved oxygen).....	93
Foto # 17. Medición de pH en los tanques de muestreo, con un pH-metro (pHep by HANNA). .....	93
Foto # 18. Medición de salinidad en los tanques de muestreo, con refractómetro (VEE GEE STX-3). .....	93
Foto # 19. Recolección muestras de Nauplios, primer día de siembra en los tanques de cultivo. (Viteri-Santana, 2015). .....	94
Foto # 20. Recolección de muestras de agua, larvas de camarón en los tanques de cultivo. (Viteri-Santana, 2015).....	94
Foto # 21. Placas de agar y materiales listos para el proceso de siembra de bacterias, colocados en la cámara de flujo laminar. (Viteri-Santana, 2015). .....	95
Foto # 22. Proceso de secado por método de barrido por asa de vidrio. (Viteri-Santana, 2015). .....	95
Foto # 23. Proceso de siembra de bacteria por método de barrido por asa de vidrio. (Viteri-Santana, 2015).....	95

Foto # 24. Realizando el conteo de Unidades Formadora de Colonia (UFC), de las placas de Agar Marino y Agar TCBS. (Viteri-Santana, 2015). .....	96
Foto # 25. Realizando el conteo de Unidades Formadora de Colonia (UFC), de las placas de Agar TCBS, en muestras de algas, tanques de agua, larvas y artemia. (Viteri-Santana, 2015).....	96
Foto # 26. Proceso de incubación de 24 horas a 35°C de bacterias en agares selectivos y específicos. ....	97

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico # 1. Variaciones de temperatura °C, en los tanques de muestreo y el masivo de algas, durante el periodo de producción. ....	32
Gráfico # 2. Valores de pH obtenidos en los tanques de cultivo y el masivo de algas, durante el periodo de muestreo.....	33
Gráfico # 3. Fluctuaciones de Oxígeno Disuelto obtenidos en los tanques de cultivo y el masivo de algas, durante el periodo de producción. ....	34
Gráfico # 4. Valores de salinidad en los tanques de muestreo durante el periodo de producción. ....	35
Gráfico # 5. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.....	36
Gráfico # 6. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.....	37
Gráfico # 7. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de agua de los tanques muestreo, durante la fase experimental.....	38
Gráfico # 8. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.....	39
Gráfico # 9. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras del masivo de algas, durante la fase experimental. ....	41
Gráfico # 10. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras de Artemia salina, durante la fase experimental. ....	42

Gráfico # 11. Comparación de Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales en muestras de agua y larvas de tanques de muestreos, larvas, masivo de algas Artemia salina, durante la fase experimental. ....	44
Gráfico # 12. Comparación de Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de agua y larvas de tanques de muestreos, larvas, masivo de algas Artemia salina, durante la fase experimental. ....	46
Gráfico # 13. Box Plot de diferencias comparativas en dinámica de Bacterias marinas y Vibrios en muestras de agua y larvas de camarón durante el periodo de muestreo. ....	47
Gráfico # 14. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de agua de los tanques de muestreo, durante la fase experimental. ....	48
Gráfico # 15. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en las muestras de larvas de los tanques de muestreos. ...	49
Gráfico # 16. Relación de pH y Oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales en las muestras de agua y larvas, durante la fase experimental. ....	50
Gráfico # 17. Relación de pH y oxígeno disuelto con la dinámica de Vibrios en las muestras de agua y larvas de los tanques de producción, durante la fase experimental. ....	51
Gráfico # 18. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios vs la supervivencia en el desarrollo larvario de <i>L. vannamei</i> .....	53
Gráfico # 19. Cepas bacterianas aisladas de dos medios de cultivo. ....	54

## GLOSARIO

**Acuicultura:** Técnica de criar y fomentar la reproducción de especies animales o vegetales en agua dulce o salada.

**Alcalinidad:** Basicidad del agua se puede definir como una medida de su capacidad para neutralizar ácidos.

**Anaerobia:** Organismo que es capaz de vivir o desarrollarse en un medio sin oxígeno.

**Conservadas:** Las regiones conservadas de un gen son las partes que, con el tiempo, han acumulado muy pocas mutaciones o cambios en la secuencia de nucleótidos.

**Desnaturalización:** Es la separación de las dos cadenas de la doble hélice del ADN, o la ruptura severa de una molécula compleja sin que se destruyan los enlaces principales de sus cadenas.

**Heterotrófica:** Proceso de formación de materia orgánica sobre la base de carbono orgánico y nutrientes inorgánicos.

**Micra ( $\mu\text{m}$ ):** Unidad de longitud correspondiente a la milésima parte del milímetro.

**Microbiana:** Relativo al microbio: las enfermedades infecciosas las provoca una invasión microbiana del organismo, y son contagiosas, ya que pueden transmitirse de un organismo enfermo a otro sano.

**Microbiota:** También conocida como microflora es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo humano.

**Patógeno:** Agente que produce una enfermedad.

**pH:** Valor numérico que describe la intensidad de ácido o base (alcalina) de una solución. Técnicamente, pH es un logaritmo recíproco (negativo) de la concentración de iones en el hidrógeno (actividad hidrógeno ión) en moles por litro.

**Postlarva:** Es un estadio del ciclo biológico del camarón marino, alcanzado después de haber evolucionado a través de los diferentes estadios larvales. Es en este estadio cuando logra crecer a un tamaño de 7 a 12 mm, para ser utilizado en el cultivo en estanques de producción de las fincas.

**Probióticos:** Son alimentos con microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes, pueden tener efectos beneficiosos, como contribuir al equilibrio de la microbiota intestinal del huésped y potenciar el sistema inmunitario.

**Salinidad:** Contenido de sales minerales disueltas en un cuerpo en agua es válida la expresión salinidad para referirse al contenido salino en suelos o en agua.

## **SIMBOLOGÍA Y ABREVIATURAS**

<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>μl</b>	Microlitro
<b>g</b>	Gramo
<b>h</b>	Hora
<b>m</b>	Metro
<b>mg</b>	Miligramo
<b>min</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>Na OH</b>	Hidróxido de sodio
<b>NaCl</b>	Cloruro de Sodio
<b>ng</b>	Nanogramos
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>OD</b>	Oxígeno disuelto
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>PI</b>	Postlarva
<b>ppm</b>	Parte por millón
<b>ppt</b>	Parte por mil
<b>S</b>	Segundo
<b>TSA</b>	Tripticasa soya agar
<b>TSB</b>	Triptona Soja Caldo
<b>UFC</b>	Unidad formadora de colonia

**um** Micra  
**CNA** Cámara Nacional de Acuicultura

## RESUMEN

La mayor producción de Postlarvas de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* se concentra en la provincia de Santa Elena específicamente en los sectores de Mar Bravo y Punta Carnero pertenecientes al Cantón Salinas. Son mínimos los estudios publicados relacionados a la dinámica de crecimiento de Bacterias marinas y Vibrios en este sector. La presente investigación se enfocó en la caracterización a nivel cuantitativo de Bacterias marinas totales y Vibrios a través de técnicas microbiológicas en sistemas de producción comerciales de Postlarvas *L. vannamei*, evaluando las concentraciones de Vibrios, durante la fase de cultivo. Se recolectaron muestras diarias de agua y larvas en 5 tanques desde estadíos Nauplio V hasta Postlarva III; además se recolectaron muestras de algas y *Artemia salina* que forman parte de la dieta alimenticia. Se obtuvieron como resultado que las larvas de *L. vannamei* registran conteos de Bacterias marinas totales máximos de  $5.23E+08$  UFC/g; mientras que los Vibrios se cuantificó  $6.09E+05$  UFC/g. La inclusión de *Artemia salina* en la dieta a partir de Zoea III a Mysis I, es uno de los alimentos de mayor concentración de Bacterias marinas totales con  $6.40E+07$  UFC/g y de Vibrios con  $6.16E+06$  UFC/g. En el estadío PI I se determinó un incremento de temperatura, disminución de oxígeno disuelto y pH aumentando la concentración de Bacterias marinas y Vibrios. El incremento de Bacterias marinas totales y Vibrios incidió en el aumento de mortalidad obtenido entre los estadíos de Nauplio V a Zoea I y de Postlarva I a Postlarva III de *L. vannamei*.

**Palabras clave:** *Litopenaeus vannamei*, larvicultura, Vibrios, microbiología, dinámica bacteriana.

## ABSTRACT

The increased production of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Pacific are concentrated in the province of Santa Elena specifically in the areas of Mar Bravo and Punta Carnero belonging to Salinas Canton. Are very few published studies related to the dynamics of growth of marine bacteria and Vibrio in this sector. This research focused on characterizing quantitatively and Total Marine bacteria Vibrio through microbiological techniques in commercial production systems *L. vannamei* postlarvae evaluating Vibrio concentrations during the growth phase. Daily samples of water and 5 tanks larvae were collected from Nauplio stages V to Postlarva III; and further samples *Artemia salina* algae which are part of the diet were collected. were obtained as a result larvae counts recorded *L. vannamei* maximum total marine bacteria  $5.23E + 08$  CFU / g; whereas Vibrio quantified  $6.09E + 05$  CFU / g. The inclusion of *Artemia salina* in the diet from Mysis I Zoea III, is one of the foods with the highest concentration of total marine bacteria with  $6.40E + 07$  CFU / g of Vibrio with  $6.16E + 06$  CFU / g. In stage Pl I increased temperature, decreased dissolved oxygen and pH was determined by increasing the concentration of marine bacteria and Vibrio. The increase in total and Marine bacteria Vibrio affected the increase in the mortality obtained between stages of Nauplius Zoea I to V and Postlarva I to III of *L. vannamei*.

**Keywords:** *Litopenaeus vannamei*, larviculture, Vibrio, microbiology, bacterial dynamics.

## INTRODUCCIÓN

El camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), es considerado como recurso de gran valor económico, según datos de la (Cámara Nacional de Acuacultura, 2014) “representa el 13,2% de las divisas que ingresan al Ecuador, después de la actividad petrolera, según informe en uno de sus artículos de prensa. Tomando como referencia el contexto mundial, se encuentra en el cuarto puesto como productor (después de China, Tailandia e Indonesia) y el primer productor del Hemisferio Occidental” (FAO, 2010).

Es de relevancia destacar que la mayor producción de Postlarvas de camarón blanco se encuentra concentrada dentro de la provincia de Santa Elena, específicamente en los sectores de Mar Bravo y Punta Carnero pertenecientes al Cantón Salinas (Espinoza, 2014).

Encuestas realizadas por Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) a inicios de octubre del 2014, indican que están en funcionamiento 114 laboratorios de cultivo (106 de larviculturas, 7 maduraciones y 1 reserva de reproductores) y 12 laboratorios integrales. Cabe indicar que existen laboratorios integrales que solo están funcionando como maduración (Marogal o Ecuasemillas), o solo como larvicultura (Somicosa). Para el área de estudio en el sector Mar Bravo se encuentran 45 laboratorios (2 maduraciones, 5 integrales y 38 de semicultivo), sumando un total de 2630 millones de nauplios de siembra por corrida, con un promedio de 12,5 corridas al año, con un 57.6 % de sobrevivencia y una oferta

mensual de larva al mercado de 1590 millones de larvas; en lo que respecta a nauplios los laboratorios de Mar Bravo ofreciendo alrededor de 200 millones de nauplios diarios. Villón, 2014 (com per).

Tal es el caso que la gran demanda de Postlarvas de *L. vannamei* incrementa los procesos de cultivo y disminuye los periodos denominados etapa de secado, para la preparación de los tanques en los ciclos posteriores, sumado esto a las bacterias provenientes de los ecosistemas costeros (Riquelme & Avedaño-Herrera, 2003; Leyton & Riquelme, 2008), transportadas a las instalaciones de producción a través del agua que se utiliza como medio de cultivo (Zhi *et al.*, 2008).

Es de relevante importancia mencionar que las enfermedades bacterianas como vibriosis (Gomez-Gil *et al.*, 2004) y las *Pseudomonas sp* (Cornelis, 2008), se han convertido en un factor de permanente limitación. Para lo cual se buscan estrategias como los probióticos (Lastras, 2009), bacterias con características morfo fisiológicas benefician a los organismos de cultivo, colonizando el medio y los organismos presentes y compitiendo por el espacio y mejorando su sistema inmune (Martínez, 2013).

El presente trabajo de investigación se enfoca al análisis cuantitativo dinámica de crecimiento de bacterias marinas entre ellas incluidas los *Vibrios* por presentar especies patógenas (López *et al.*, 2013), las cuales causan altas mortalidades sobre los sistemas de larvicultura (Espinoza, 2014) comerciales en las fases *L. vannamei* (Almanza *et al.*, 2008).

El presente proyecto pretende determinar a través de la caracterización microbiológica de bacterias marinas, recuperadas en sistemas de producción comerciales de Postlarvas (*Litopenaeus vannamei*), Mar Bravo - Santa Elena. El propósito principal es caracterizar bacterias marinas en muestras de agua, larvas, algas, *Artemia salina*, empleadas en sistemas de producción de Postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, a través de análisis microbiológicos, evaluando la prevalencia de los *Vibrios*, durante la fase de cultivo.

## JUSTIFICACIÓN

La realización del tema investigación denominado **“Caracterización microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistemas de producción comerciales de Postlarvas (*Litopenaeus vannamei*), Mar Bravo - Santa Elena”**, se basa principalmente en caracterizar a través de técnicas microbiológicas por medio de cultivos específicos para Bacterias marinas totales y Vibrios, durante el desarrollo de las Pl de camarón blanco *L. vannamei*, en los sistemas de cultivo.

Los resultados obtenidos permitieron determinar que la inclusión de alimentos a través de dietas naturales como las microalgas, artificiales como piensos alimenticios, *Artemia salina* (Agurto *et al.*, 2014); la adición de bacterias probióticas y otros productos comerciales empleados en producción afectan el equilibrio bacteriano presente en el medio de cultivo.

Los laboratorios de producción cada vez buscan mecanismos para hacer más eficientes sus sistemas de control y manejo nivel de procesos de larvicultura (Cruz, 2000). Fomentando en los protocolos de manejo se incluyan el uso de probióticos y ácidos orgánicos contra patógenos ya que según estudios realizados por Agurto y colaboradores 2014, reflejan que el primer semestre del año 2014, alrededor del setenta y cuatro por ciento de mortalidad en los laboratorios de larvas, se originó debido a infecciones bacterianas como los Vibrios, entre ellos la especies de *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbelli*, *V. fluvialis*, *V. harveyi*, *V. penaeicida*, *V. vulnificus* y *V. damsela*. (Ibarra *et al.*, 2007), que han generado grandes pérdidas en las producciones de este sector acuícola (Hernández *et*

*al.*, 2005); siendo estos las más comunes debido a que estas bacterias proliferan hábitats naturales marinos y de estuarios (Gomez-Gil *et al.*, 2004), en especial los vibrios que están perennes en el medio marino (Leyton & Riquelme, 2008).

El agua que proviene del mar como medio de cultivo para el desarrollo de las postlarvas de camarón blanco, sufre cambios ecológicos importantes a nivel de la flora bacteriana, debido a la adición de dietas a base de microalgas, *Artemia salina*, alimento peletizado, entre otros; provocando aumento de la materia orgánica en descomposición y proliferación bacterias oportunistas en la mayoría de los casos patógenas causando problemas de salud sobre los organismos de cultivo (Aguirre *et al.*, 2013).

La caracterización bacteriana sobre esta zona no se ha desarrollado, se han publicado trabajos a nivel de cuantificación microbiológica y en puntos estratégicos de circulación de agua en procesos de larvicultura como el efectuado por Espinoza (2014).

Existen estudios para comunidades bacterianas en sistemas de producción de piscinas camaroneras donde se caracterizo y determino la diversidad de géneros y especies de la flora bacteriana sobre estos tipos de sistemas de cultivo (Bórbor, 2005; Hernández *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2009).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar bacterias marinas en muestras de agua, larvas, algas, *Artemia salina*, empleadas en sistemas de producción de Postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, a través de análisis microbiológicos, evaluando las concentraciones de Bacterias marinas totales y Vibrios, durante la fase de cultivo.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Efectuar cuantificaciones microbiológicas de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de agua, larvas, algas, *Artemia salina*, empleadas en sistemas de producción de Postlarvas de *Litopenaeus vannamei*.
- Comparar la carga entre bacterias marinas y Vibrios en las muestras analizadas.
- Relacionar los parámetros físico - químicos con la dinámica bacteriana de las muestras obtenidas en el ciclo de cultivo de larvas de *L. vannamei*.
- Analizar las cuantificaciones de Bacterias marinas totales y Vibrios en función de la supervivencia de Postlarvas de *L. vannamei*.

## **HIPÓTESIS**

**H<sub>0</sub>:** Existe un incremento en la concentración de Bacterias marinas totales y Vibrios relacionados al desarrollo de los estadios larvarios de *L. vannamei* en los sistemas de producción comerciales.

**H<sub>a</sub>:** No existen fluctuaciones en la concentración de Bacterias marinas totales y Vibrios relacionados al desarrollo de los estadios larvarios de *L. vannamei* en los sistemas de producción comerciales.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Generalidades del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

(Boone, 1931)

#### **Clasificación taxonómica:**

**Phylum:** Arthropoda

**Clase:** Malacostraca

**Orden:** Decapoda

**Suborden:** Dendobranchiata

**Superfamilia:** Penaeoidea

**Familia:** Penaeidae

**Género:** Litopenaeus

**Especie:** vannamei (Boone, 1931)

### **1.1.1. Ciclo de vida del camarón blanco**

La meta de alcanzar grandes producciones sostenibles, sin afectar el medio marino era la domesticación del camarón blanco (Miranda *et al.*, 2010), fue un objetivo cumplido y estandarizado, debido a que en los actuales momentos ya se ha cerrado el ciclo de vida de la especie.

Este ciclo comienza con la fase reproductiva de las hembras adultas con una característica distintiva que son los ovarios de pigmentación color verde, (Van Olst, 1972); posteriormente desovan y los huevos fértiles maduran (Anexo. Fotos # 1), atraviesan por fases larvales hasta llegar a adultos. (Anexo. Fig. 1).

### **1.1.2. Desarrollo larvario del camarón blanco**

Cuando la hembra desova los huevos, llevando un proceso de fertilización de 14 a 16 horas eclosionan, viene el primer estadio larvario denominado Nauplio en esta etapa atraviesa 5 sub-estadios denominados Nauplios I, II, III, IV y V, “los animales no se alimentan externamente solo de sus reservas, realizan la locomoción con ayuda de las antenas, son planctónicos” (Morales, 1990), (Anexo. Foto # 2). El siguiente estadio Zoea, este presenta tres sub-estadios larvales, Zoea I, II y III; cuyo proceso culmina luego de cuatro a cinco días, inicia alimentación externa con microalgas (Fenucci, 1989) (Anexo. Fotos # 3, 4 y 5). Posterior a esto las larvas mudan y procede la fase de Mysis igual que con tres sub-estadios los cuales son Mysis I, II y III con un tiempo de duración de tres días, la morfología del cuerpo se torna curva, consumen rotíferos y pequeños crustáceos como la *Artemia salina* (Anexo. Fotos # 6, 7 y 8), justamente antes en este periodo desarrollan diminutos pleópodos.

Progresivamente llega la etapa de Postlarva donde se hace referencia a un camarón minúsculo de lo que será los adultos con el desarrollo de pereiópodos con funciones tan esenciales como las de desplazarse y sostenerse sobre el sustrato (FAO, 2010). (Anexo. Fotos # 9, 10 y 11).

### **1.1.3. Parámetros físico – químicos óptimos para el cultivo del camarón blanco**

En cuanto a las condiciones físicas que se requieren para cultivar *L. vannamei*, la temperatura debe presentar rangos mínimos estándares de entre los 28 °C, pero puede soportar de 20 °C hasta 35 °C (FAO, 2010).

La salinidad optima es de 25 ppt, aunque se han descrito cultivos de esta especie que los rangos pueden definir desde 2.5 ppt con tasas de supervivencia superior al cincuenta por ciento de la población (Miranda et al., 2010), hasta 35 ppt en ambientes marinos (Espinoza, 2014).

Dentro de los parámetros químicos el oxígeno disuelto en promedio el nivel óptimo es 6 mg/L, esto ayuda en la reducción de la materia orgánica aumentando la capacidad de carga (Vinatea, 2014), los rangos mínimos para el cultivo 4 mg/L y los máximos de 10 mg/L (INAPESCA, 2012).

El pH es el potencial de hidrógeno, los valores de 7 a 9 en el agua está considerada como apta para los sistemas de cultivo de camarones peneidos (FAO, 2010), si estos niveles llegasen a estar no más de 5 se considera ácida para los cuales se efectúan tratamientos de cal en polvo (Fenucci, 1989).

La alcalinidad siempre debe estar 80 – 140 ppm, si estos rangos aumentan el pH se torna alcalino afectando en los procesos de muda y si baja de estos estándares acidifican el agua causando estrés oxidativo (Boyd, 1998).

#### **1.1.4. Manejo de la nutrición en los estadios tempranos del camarón blanco**

El camarón blanco se caracteriza por sus diferentes hábitos alimenticios en su medio natural de acuerdo al estadio en el que se encuentre. La vida como zoea, es filtradora alimentándose solo de fitoplancton y demás materia orgánica particulada suspendida en el agua; en la etapa de mysis, ya consume diminutos crustáceos como la *Artemia salina*, rotíferos, copépodos; luego ya en fase de postlarva a juvenil, pastorean el sustrato marino como adaptaciones morfológicas y se hacen netamente bentónicos convirtiéndose en omnívoros (Almanza *et al.*, 2008).

Un manejo adecuado en la nutrición de los primeros estadios del camarón asegura la eficiencia en la producción y buenas tasas de supervivencia. Generalmente las dietas se reparten seis dosis por día dependiendo del protocolo de cada laboratorio. Las

dietas basadas principalmente en microalgas *Thalassiosira weissflogii*, (Anexo. Foto # 12) y *Tetraselmis sp*, *Artemia salina* decapsulada (Anexo. y Fig. 2 y Foto # 13) y alimento balanceado microparticulado.

## **1.2. Diversidad bacteriana**

El hecho de relacionar la amplia gama, mega diversidad microbiana requiere de una concepción acerca de los paradigmas evolutivos celulares, desarrollado a través del tiempo en la vida en el planeta, una ruta funcional estructural para resolver los resultados exitosos de la denominada “supervivencia del más apto” (Darwin, 1880), entre los millones de organismos presentes (Kirchman & Williams, 2000).

En los actuales momentos se logran identificar en precisas modificaciones el tamaño celular y la morfología, estrategias metabólicas, movilidad, división celular, biología del desarrollo (Migula, 1894), adaptación a ambientes extremos y muchos otros aspectos estructurales y funcionales comprendiendo la compleja y gran diversidad de microorganismos existentes (Pacini, 1854); de todo este enrolamiento de la ciencia se encarga la taxonomía o clasificación biológica (Van Olst, 1972) (Anexo. Fig. 3).

### **1.3. Dinámica bacteriana**

Las connotaciones evolutivas de los microorganismos a través de los estudios morfológicos, fisiológicos y genéticos; son una gran herramienta para lograr comprender la amplia diversidad bacteriana que se propaga en los actuales momentos. Estas a su vez juegan un rol importante dentro de la red trófica (Woese, 1987). Al estudiar sus funciones biológicas nos damos cuenta de la eficiencia que poseen para “adaptarse a las condiciones de oxidación de la atmósfera, se abrieron nuevos y mucho más modos de utilización de sustratos” (Kirchman & Williams, 2000). Con respecto a la caracterización microbiana se han categorizado en cinco niveles “oligotrófica, oligotrófica con tendencias mesotróficas, mesotrófica, mesotrófica con tendencias eutróficas y eutrófica” (Miravet, 2003).

### **1.4. Las bacterias en la Acuicultura**

Las comunidades bacterianas juegan un rol de meritoria importancia en los ambientes marinos y dulceacuícolas (Aguirre *et al.*, 2013). Estas proliferaciones microbianas pueden favorecer al cultivo de peces y crustáceos o a su vez generar graves problemas de salud al medio si se desarrollan como agentes patógenos acuicultura (Riquelme & Avedaño-Herrera, 2003).

Existen asociaciones de tipo simbiótico en las comunidades bacterianas sobre columna de agua, sustratos inherentes a las variaciones ambientales por su gran capacidad de adaptación (Araya *et al.*, 2008); bajo esta misma definición aplicada en piscinas creadas para cultivos acuícolas; así mismo Bórbor, 2005 indica que existe

una gran diversidad de comunidades microbianas en agua y sedimento de piscinas camaroneras con sistemas de cultivos semi – intensivos.

El propósito principal de la Acuicultura de camarón blanco se encamina al punto de vista de mejorar el manejo técnico en los procesos de producción en el cultivo, considerando de relevante importancia la relación de la flora bacteriana durante todo el periodo de cultivo de estos organismos (Aguirre *et al.*, 2013). Las asociaciones microbianas en este caso pueden ejercer rol positivo en el desarrollo y supervivencia de la especie si se llevasen las condiciones sanitarias adecuadas, pero a su vez generar un impacto negativo como las altas mortalidades si se permiten la proliferación de microbios patógenos (Medigan, et al., 1996).

#### **1.4.1. Actividad de las comunidades microbianas asociadas al cultivo de camarón blanco *L. vannamei*, beneficios y perjuicios**

“Las comunidades bacterianas que están presentes en el agua de mar pueden responder de formas diferentes, dando como resultado beneficios para la producción o perjuicios en la digestión de los estadios larvarios desde cuando se comienza su nutrición externa que empieza en la fase de Zoea I” (Simões *et al.*, 2002), más la posibilidad de generar respuestas para combatir agentes patógenos presentes sobre el medio de cultivo (Thompson & Polz, 2006).

Diversos estudios realizados por López y colaboradores (2013), mencionan que las condiciones de los nutrientes favorecen al desarrollo de bacterias heterótrofas sobre estanques de cultivos camaroneros, determinando la carga bacteriana midiendo entre

flujos y reflujos; el aporte de recambios constantes de agua diseminan las concentraciones microbianas, pero cuando no existe los adecuados sistemas de recirculación provoca incremento de la materia orgánica en estado de descomposición, en ese momento emerge la posibilidad de afectación de cultivos comerciales mantenidos con un potencial efecto negativo en la salud de los consumidores” (Cruz, 2000).

Durante el proceso de producción se dan significativos aportes de nutrientes principalmente por la acumulación de alimento que no es ingerido por los organismos en el cultivo así mismo estos sirven de medio de nutritivo que permite la proliferación microbiana, la cual está directamente relacionado con el aumento de la materia orgánica (Solórzano, 2009; Lightner, 2003); estas condiciones pueden provocar eutrofizaciones y dar paso al desarrollo de bacterias y algas nocivas; otros factores importantes para que se den estas alteraciones sobre el cultivo, es por la reducción de oxígeno y el incremento de temperatura (Pillay, 2004); “generando mortalidades en los primeros estadios larvarios en periodo de aclimatación” (Pérez *et al.*, 2009).

Los géneros que son perjudiciales en el cultivo de camarón identificados en diferentes ciclos de producción son “*Vibrios.*, *Pseudomonas* y *Aeromonas*, de estos el género *Vibrio* tiene más especies patógenas; como son *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*,” (Ibarra *et al.*, 2007 y Morales, 2008).

## 1.5. El Género *Vibrio*

“El género *Vibrio* fue uno de los primeros grupos bacterianos en ser reconocidos y descritos taxonómicamente en la naturaleza” (Pacini, 1854); “se clasifican en la familia Vibrionaceae, abarcando diversos grupos de bacterias marinas heterótrofas; son gama proteo bacterias, Gram negativa, oxidasa positivos, mesófilos, generalmente móviles por medio de un simple flagelo polar” (Thompson & Polz, 2006). “Toleran un amplio rango de salinidades, el óptimo requerimiento de NaCl es de ~ 2,0 a 2,5% (peso/volumen), algunas especies (halófilas), requieren al menos una concentración del 0,5% de NaCl en el medio para crecer, mientras que especies no halófilas como *Vibrio cholerae*, *V. mimicus* o *V. hispanicus*, pueden crecen con concentraciones mínimas de sal” (Gomez-Gil *et al.*, 2004) (Anexo. Fig. 4).

### 1.5.1. Clasificación taxonómica

**Dominio:** Bacteria

**Filo:** Proteobacteria

**Clase:** Gammaproteobacteria

**Orden:** Vibrionales

**Familia:** Vibrionaceae

**Género:** *Vibrio* (Pacini, 1854)

## 1.5.2. El Género *Vibrio*: Impactos sobre cultivos de camarones

### Peneidos

La enfermedad que produce las especies patógenas del género *Vibrio* se denomina vibriosis, considerada como una de las bacterias gram - negativas más estudiadas en los cultivos a nivel mundial. “Este tipo de infecciones se dan con mucha frecuencia en hatcheries o criaderos” (Venkateswara, 2012).

“Los problemas por enfermedades en los laboratorios de larvicultura y piscinas de engorde en camarón se dan principalmente por las infecciones causadas por Vibrios, las cuales son las más comunes debido a que estas bacterias proliferan de hábitats naturales marinos y de estuarios” (Gomez-Gil *et al.*, 2004).

La *Artemia salina* se considera como el principal vector de Vibrios en especial de la *V. parahaemolyticus* (Morales, 2008). Las bacterias pertenecientes al género *Vibrio* están enmarcadas dentro de la “microflora normal de los camarones peneidos y son también agentes patógenos oportunistas que pueden tomar ventaja de éstos cambios ecológicos generados en los cultivos acuícolas causando diferentes enfermedades, sobrevivencias bajas y pérdidas económicas en la producción de camarón” (Hernández *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2008; Yamazaki & Esiobu, 2012; Aguirre *et al.*, 2013; Agurto *et al.*, 2014; Espinoza, 2014).

Las afecciones en el desarrollo del camarón blanco *L. vannamei* están asociadas a las “presencias de Vibrios patógenos en los estanques de larvicultura; las cuales generando mortalidades hasta un cien por ciento en menos de veinticuatro horas post infecciones” (Ibarra *et al.*, 2007). Yukari y colaboradores (2007), expresan en sus estudios científicos en donde se logra aislar “las cepas de *V. vulnificus* de cultivos de Vibrios marinos, las cuales originan la *necrosis* en camarones peneidos, la infección que produce latencia y altas tasas de mortalidades”. Otras especies de Vibrios a su vez pueden ser perjudiciales en cultivos de moluscos, crustáceos y peces como infecciones graves es la especie *V. parahaemolyticus* (Alcívar, 2004).

Moreno en el 2002 expresa que al margen de las condiciones ambientales los ecosistemas marino costeros el *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*; se relacionan con *V. cholerae*, esta simbiosis entre especie y especie se considera con niveles de patogenicidad y amplios rangos de infecciones, pero si se presentan por si solos no necesariamente se consideraría como especie nociva o realmente perjudicial. Regularmente suelen presentar en las denominadas mareas rojas (Anexo. Fig. 5).

**Tabla # 1. Vibrios patógenas aisladas en sistemas de cultivos de *L. vannamei* de a nivel de laboratorios y camaroneras.**

N	Origen	Especie	Concentración	Referencia
1	<b>Larva/adulto</b>			
	<b>Tracto Digestivo, branquias</b>	<i>Vibrio harvey</i>	1.0E+07 UFC/mL	(Aguirre <i>et al.</i> , 2013).
		<i>V. splendidus</i>	2.0E+06UFC/mL	Gomez-Gil <i>et al.</i> , 2004)
		<i>V. campbelli</i> , <i>V. owensii</i>	-	(Agurto <i>et al.</i> , 2014)
	<b>Hepatopáncreas</b>	<i>V.frotis</i> , <i>V. hepatarius</i> <i>V. vulnificus</i>	-	
<b>Hemolinfa</b>	<i>V. harvey</i> <i>V. nigripulchritudo</i> <i>V. shilonii</i> <i>V. natriegens</i> <i>V. vulnificus</i> <i>V. parahemolyticus</i> <i>V. sinaloensis</i>	-	(Suárez, 2008)	
2	<b>Agua</b>	<i>Vibrio sp</i>	1000UFC/mL	(Ching <i>et al.</i> ,2014)
		<i>V. fischeri</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. anguillarum</i>	-	(Koizumi, 2003)
		<i>Vibrio alginolyticus</i>	1.0E+06UFC/mL	(Riquelme y Albedaña <i>et al.</i> , 2003)
3	<b>Microalgas</b>			
	<i>Navicula germanopolonica</i> y <i>Amphora sp</i>	<i>V.anguillarum</i> <i>V. campbellii</i> <i>V. metschnikovii</i> <i>V. ordalii</i> <i>V. parahemolyticus</i> <i>V. splendidus</i> <i>V. vulnificus</i>	-	(Hernández-Zulueta <i>et al.</i> , 2014)
4	<b>Artemia salina</b>	<i>V. paraahaemolitycus</i>	1.0E+04UFC/g	(Gomez-Gil <i>et al.</i> , 2004)
	<b>Metanauplios</b>	<i>Vibrios sp</i>	1.0E+06UFC/g	

**Fuente: Elaborado por el Autor.**

## **1.6. El Género *Pseudomonas***

El género *Pseudomonas*, es considerado como “bacilos rectos, semicurvos o curvos, Gram negativos, oxidasa positivos. Algunos de sus géneros son psicrófilos, mientras que otros sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso con gran valor taxonómico. Es común la presencia de plásmidos y no forman esporas” (Cornelis, 2008) (Anexo. Fig. 6).

### **1.6.1 Clasificación científica**

**Reino:** Bacteria

**Filo:** Proteobacteria

**Clase:** Gammaproteobacteria

**Orden:** Pseudomonadales

**Familia:** Pseudomonadaceae

**Género:** *Pseudomonas* (Migula, 1894).

### **1.6.2. El Género *Pseudomonas*: Impactos sobre cultivos de camarones Peneidos**

Las *Pseudomonas*, son microorganismos considerados de alto riesgo (patógenos) en el cultivo de camarón blanco, en especial en los estadios tempranos (Arguello, 2014); generalmente tomar acción como oportunistas y afectan principalmente a camarones con defensas bajas “generando exotoxinas causantes de necrosis tisular y alteración del epitelio de ciertos órganos” (Lastras, 2009).

Se demuestra la presencia del género *Pseudomonas* en los tanques de producción de larvas *L. vannamei* debido a que en el fondo se observan manchas de color rosado, un análisis observatorio genera información para determinar la aparición de este patógeno; Almanza y colaboradores en el 2008 definieron la solución para disminuir y lograr contrarrestar el problema de este patógeno es el recambio constante del agua en el fondo del estanque y más aun con mucha prioridad si están en fases de muda el camarón.

### **1.7. Los probióticos**

La definición conceptual de probiótico es "un suplemento alimenticio microbiano vivo que beneficia al animal de cultivo mediante el mejoramiento de su equilibrio microbiano intestinal" (Yegani, 2010). Típicamente se usan en los laboratorios de larvas de camarón blanco estimulando el desarrollo de las mismas sobre las paredes intestinales.

“La mayoría de las preparaciones comerciales de probióticos pueden ser de cepa única o múltiple y también como una mezcla de varias especies de bacterias” (Martínez, 2013). Presenta grandes ventajas y efectividad porque actúa por competencia sobre otras bacterias, coloniza en su mayoría todo el tracto digestivo que a su vez pueden tener presentes microorganismos patógenos o inocuas.

Las producciones a nivel comercial para los laboratorios de larviculturas de camarón blanco utilizan probióticos comerciales que contienen “*Bacillus sp*, *Saccharomyces sp*, *Nitrosomonas sp* y *Nitrobacter sp*” (Thimmalapura *et al.*, 2002).

Innumerables son los beneficios que se le atribuyen al uso de productos naturales como son los probióticos ya que son catalizadores que favorecen el crecimiento y desarrollo de los animales de cultivo, mejoran la resistencia inmunológica poblando el tracto digestivo como huéspedes y desplazando las bacterias patógenas, entre ellos tenemos algunas especies *Lactobacillus acidophilus*, *L bulgaris*, *Bifidobacterium bifidum*, y *B. infantis* (Milian, 2005).

### **1.7.1. El Rol de las bacterias probióticas**

El rol más importante que juegan los probióticos, es la evitar que microorganismos bacterianos de tipo exógenos y con potencial de generación de patogenicidad se desarrollen y logren colonizar el tracto intestinal de los organismos superiores.

Su utilidad principal se centra en su uso en el cultivo de animales para mejorar la flora intestinal deteniendo el establecimiento de patógenos, a su vez también busca la

reestructuración de la flora bacteriana, clave en la reducción de los daños por estrés en el animal (Salvador & Cruz, 2009).

“Las bacterias probióticas pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* generan ácido láctico y acético modificando las condiciones de pH del tracto digestivo que desempeña la función de mecanismos de asepsia, esta es la pieza clave para impedir la proliferación de bacterias” (Botero, 2008; Lastras, 2009).

### **1.8. Criterios de selección, aislamiento e identificación bacteriana**

Para efectuar selección y aislamiento de cepas bacterianas las técnicas microbiológicas clásicas son las más aplicadas a través de medios de cultivos sólidos donde se separan los microorganismos que acompañan a la bacteria de interés (Kirchman & Williams, 2000). Uno de las dificultades que se presenta al momento de la selección es la connotación de la práctica a nivel empírico y la limitada evidencia científica (Gullian, 2001), para realizarlo con eficiencia para el trabajo del microorganismo de investigación.

Cuando la colonia bacteria se encuentra en mayor proporción comparada con el resto microorganismos, se procede a realizar la búsqueda de la misma realizando conteos del número representativo de la población de interés o determinando características morfológicas, se la aísla y se siembra por el método de barrido por estrías descrito por Urmeneta-Alonso y colaboradores (2000). Tal es el caso de un estudio realizado por Morales (2008) de *Vibrios* sembrados en Agar TCBS los

cuales fueron aislados y posteriormente purificados para sus identificación a través de análisis moleculares (Yukari *et al.*, 2007).

Existen criterios de diferenciación para las cepas bacterianas entre ellos “el aspecto de las colonias, su coloración y tamaño. Permiten diferenciar bacterias. En cuanto a la pigmentación las colonias pueden ser opacas, translucidas o transparentes. Generar pigmentos fluorescentes cuando se iluminan con luz ultravioleta; con superficie pulverulenta, cremosa, lisa, rugosa, o presentando anillos concéntricos. Además el olor es representativo en ciertas ocasiones” (Forves, 2007) (Anexo. Fig. 7).

Las bacterias en general presentan un sistema metabólico parecido, en base a este concepto la actividad enzimática y metabólica no difiere entre sí, haciendo un poco más complicado el hecho de expresarse a nivel fenotípico (Zhi *et al.*, 2008).

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **2.1. Área de estudio**

El área de estudio referente se realizó en las instalaciones del laboratorio integral Biogemar S.A. ubicado en el sector de Mar Bravo, perteneciente al cantón Salinas de la Provincia de Santa Elena (Anexo. Fig. 10).

#### **2.2. Metodología**

El estudio se aplica el método experimental, partiendo de la revisión bibliográfica técnica y científica, metodológicamente se desarrolla en dos fases, la misma que se detalla a continuación:

##### **2.2.1. Fase de campo**

###### **2.2.1.1. Sitios de muestreos**

El área de recolección de muestras de (agua, larvas, algas, *Artemia salina*), se llevó a cabo dentro de las instalaciones del laboratorio Biogemar S.A., Modulo de producción denominado Acuática # 1, se consideraron 5 tanques de cultivos de Postlarvas de camarón blanco *L. vannamei*, 20 toneladas métricas de capacidad máxima, sembrando 4 millones de nauplios por tanque, tomados al azar y un tanque

de masivo de algas en la fase de producción, durante 1 ciclo que comprende desde el estadio de Nauplio V hasta Postlarva III, fase de recolección de muestras duró 10 días (Anexo. Foto #13 y #14).

### **2.2.1.2. Medición de parámetros físico - químicos**

Se registró diariamente en horarios de 9 de la mañana en cada uno de los tanques, datos de Temperatura °C, y Oxígeno disuelto mg/L en un YSI (55 Dissolved Oxygen), Salinidad (ppt) se utilizó un refractómetro (VEE GEE STX-3) y el pH, se midió a través de un pH-metro (pHep by HANNA). (Anexo. Fotos # 15, # 16 y # 17).

### **2.2.1.3. Recolección de las muestras (agua, larvas, algas, *Artemia salina*) para análisis microbiológico**

Las muestras de agua, larvas y algas se colectaron diariamente desde el primer día de siembra en frascos plásticos estériles de 100 mL, la colecta de las muestras de *Artemia salina* se realizó de la misma forma a partir de los estadios Zoea I a Zoea III (Anexo. Fotos # 18).

La colecta de las muestras de agua de los tanques de producción y las algas de los géneros (*Thalassiosira sp* y *Tetraselmis sp*) del tanque masivo, se realizó colocando el recipiente sobre la superficie del agua en el tanque, sumergiendo hasta la altura

del codo (profundidad de 50 cm), sin abrirlo, una vez sumergido, se destapó el frasco para posteriormente cerrarlo cuando se halla llenado obteniendo aproximadamente 100 mL de la muestra.

Las muestras de nauplios se recogieron pasando varias veces el tamiz de 60 micras entre 5 a 10 cm sobre la columna de agua del tanque; luego fueron transferidos a recipientes estériles de 100 mL; para el caso desde estadio de Mysis I se utiliza tamices de 100 micras (Anexo. Fotos # 20).

La *Artemia salina*, fue colectada en recipientes estériles de manera diaria antes de se procediera a la alimentación.

## **2.2.2. Fase de laboratorio**

### **2.2.2.1. Análisis microbiológicos**

Una vez colectadas todas las muestras fueron llevadas al laboratorio y mantenidas en refrigeración hasta su análisis microbiológico.

Se utilizaron como medios de cultivos bacterianos agares específicos como Agar TCBS (Thiosulfato Citrato Bilis Sacarosa), marca (DIFCO™) para el crecimiento específico de *Vibrios.*; mientras que en los agares universales el Agar Marino marca (DIFCO™) y el Agar TSA (Tryptona de Soya), marca (DIFCO™) para crecimiento de bacterias marinas totales. (Anexo. Tabla # 4).

### **2.2.2.2. Procedimiento de siembra en agares de las muestras de agua, larvas, algas y *Artemia salina***

Se empleó las técnicas microbiológicas clásicas descritas por (Urmeneta-Alonso et al., 2000), procediendo en la cámara de flujo laminar, realizando diluciones seriadas con solución salina al 2% de NaCl, en diferentes relaciones variadas de acuerdo al tipo de muestra que se analizó (Anexo. Tablas #5 y #6). Posteriormente se efectuó la siembra por el método directo (barrido) con asa de vidrio colocando 100 µl de la dilución en su respectiva caja Petri con Agar TCBS y Agar Marino (Anexo. Foto # 22). Las placas se incubaron en posición invertida ente 28-30 °C por 24 horas (Espinoza, 2014) (Anexo. Fig. 6).

### **2.2.2.3. Estimación de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC)**

Se efectuó el conteo total de Unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en cada placa para cada muestra con la ayuda de una lupa.

Para el cálculo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) / mL o g, se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = \text{N} / \text{D V}$$

**Dónde:**

**N:** Número de colonias cuantificadas

**D:** Dilución utilizada

**V:** Volumen sembrado

“La muestra se diluyó para obtener colonias puras en la placas. El grado de dilución se consideró de gran importancia, ya que un exceso de dilución podría dar como resultado ningún crecimiento o en caso contrario el crecimiento excesivo haría imposible de cuantificar las UFC. Para ello se siguieron las recomendaciones metodológicas donde la mejor dilución es aquella que permite que se obtengan entre 30 y 300 colonias por placa” (Urmeneta-Alonso *et al.*, 2000; Moreno, 2002) (Anexo. Fig. 6, Foto # 23 y # 24).

- Ejemplo.

$$X = (100 \mu\text{L} * 1 \text{ mL o g}) / (1\ 000 \mu\text{L})$$

$$X = 0.1 \text{ mL}$$

$$\text{UFC} = 30 / (10^{-3}) (0.1 \text{ mL}) = 300.000 / \text{mL} \cong \mathbf{30 \times 10^4 \text{ UFC / mL ó g}}$$

#### **2.2.2.4. Selección y aislamiento de cepas bacterianas dominantes de las muestras de agua, larvas, algas y *Artemia salina***

Se escogieron cepas dominantes tanto de Agar TCBS y Agar Marino analizando el crecimiento bacteriano de las UFC/mL, UFC/g, una por cada muestra (agua, larvas, algas y artemia), de manera diaria. Los aislados se obtuvieron tomando con una Asa de platino estéril (Solis, 1996), dos colonias predominantes y sembradas en Agar TSA a través del método rayado agotamiento de estrías (Aliaga *et al.*, 2010); mientras que para el caso de los probióticos comerciales se aislaron una sola vez y se tomaron todas las cepas presentes en la placa de agar; de tal manera que se logró aislar la cepa bacteriana; luego de las placas con los aislados fueron incubados en posición invertida ente 28-30 °C por 24 horas. (Anexo. Fotos # 25, y # 26).

#### **2.3. Análisis de datos:**

Las cuantificaciones de Bacterias marinas totales y Vibrios obtenidas posterior a los estadios microbiológicos fueron analizadas a través de estadísticos descriptivos (máximos, mínimos, medias, error típico y desviación estándar), para diferenciar los valores en UFC/mL ó g de las muestras analizadas se procedió a la elaboración de box plots (Diagramas de cajas), con ayuda de la herramienta estadística del software IBM SPSS Statistics versión 20.

## CAPÍTULO III

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

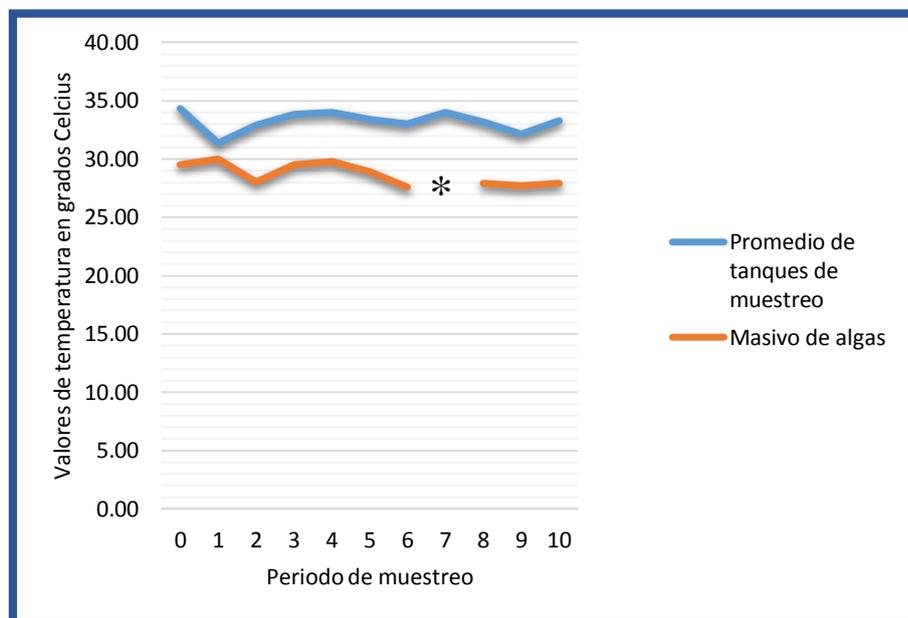
#### 3.1. Análisis de parámetros físico - químicos del agua del tanque de cultivo

Los resultados de parámetros físico – químicos fueron promediados de los cinco tanques de muestreos en cada ciclo de cultivo. A continuación se detalla la información:

##### 3.1.1. Temperatura

El valor promedio más bajo fue de 31.4 °C, en el segundo día de siembra. Los valores máximos se obtuvieron en los tanques de muestreo al tercer día con un valor promedio de 34.82 °C (Gráfico # 1). Investigaciones elaborados por Agurto y colaboradores (2014), reportan que la temperatura ideal para larvicultura y raceways podría ser a 31°C; para el caso de la larvicultura del camarón café *Farfantepenaeus californiensis* en el Sur de México, se mantuvieron temperaturas de  $25.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  en el desarrollo larvario, durante la fase experimental (Porchas et al., 2000). Balbi y colaboradores (2005) determinaron que existieron fluctuaciones en la supervivencia de Postlarvas de *L. vannamei* 12 aclimatadas y fueron de (12%) en de 30 a 26 °C.

Para el caso del masivo de algas la temperatura mínima fue de 27.6 °C, obtenida en el séptimo día de cultivo.



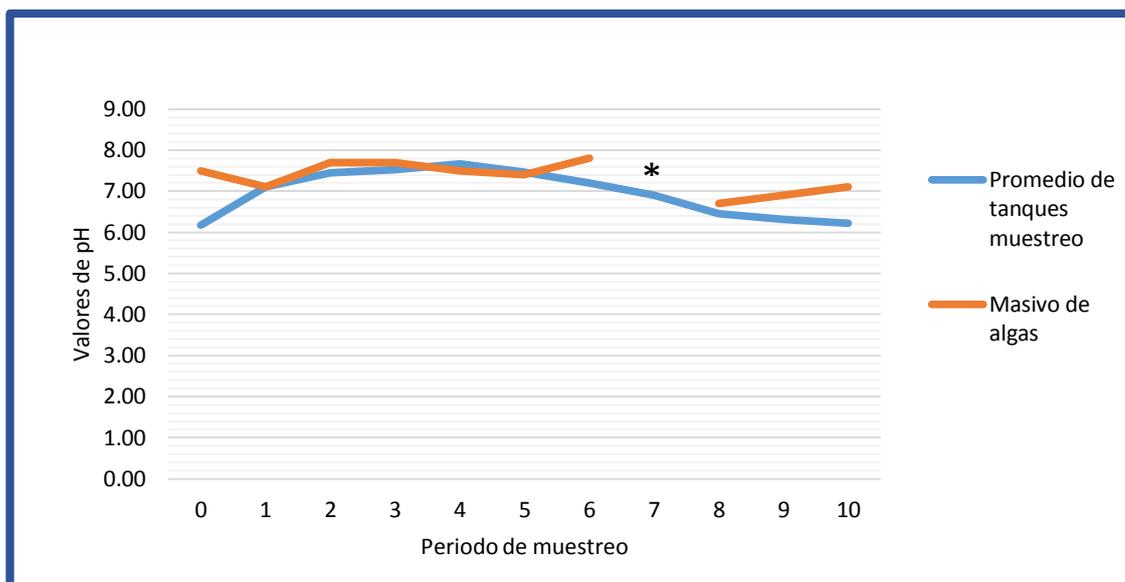
\* Dato no determinado

**Gráfico # 1. Variaciones de temperatura °C, en los tanques de muestreo y el masivo de algas, durante el periodo de producción.**

### 3.1.2. pH

El valor máximo más promedio más bajo de 6.2 al primer día de siembra. Los valores máximos promedios se obtuvo al séptimo día en los tanques de muestreo con un valor promedio de 7.5 (Gráfico # 2). Merchán (2014), obtuvo rangos de pH entre 7.02 a 7.80 en sistemas de raceways durante dos ciclos de cultivos; mientras que Vera (2010), obtuvo valores desde 7.5 a 8.73 en una fase de larvicultura desde Nauplio V hasta Post-larva IV.

En el masivo de algas el valor de pH mínimo fue de 6.9 obtenida en el noveno día de cultivo.

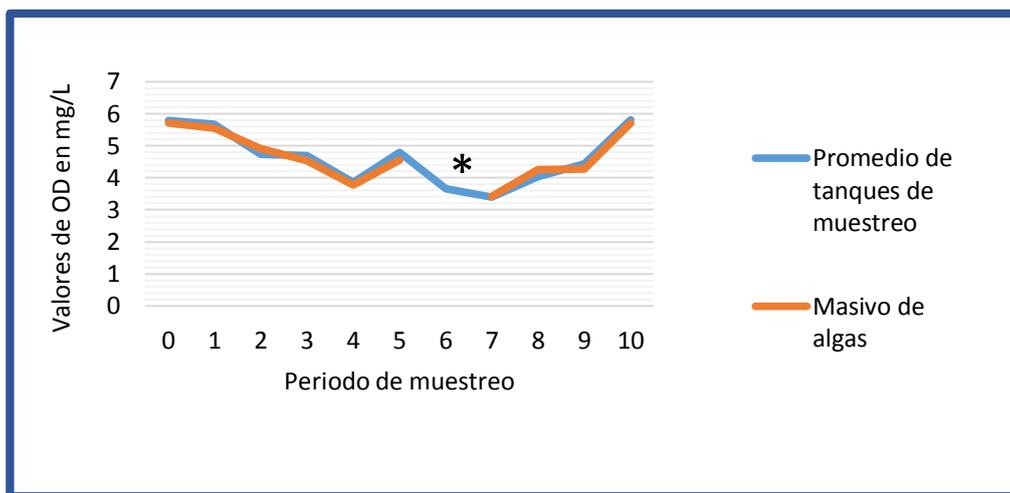


\* Dato no determinado

**Gráfico # 2. Valores de pH obtenidos en los tanques de cultivo y el masivo de algas, durante el periodo de muestreo.**

### 3.1.3. Oxígeno disuelto

A pesar de que el sistema mantiene aireación continua existieron fluctuaciones de Oxígeno disuelto entre los días de cultivos, sin embargo las concentraciones promedio de 5.7 mg/L en el primer de siembra y en el décimo día de muestreo. A partir del día uno de siembra comenzó a bajar progresivamente hasta llegar a un valor promedio de 3.36 mg/L, este valor se observó al quinto día de la producción (Gráfico # 3); mientras que Merchán (2014), muestra datos de O.D los cuales durante sus corridas de cultivo en raceways no superaron los 5.9 mg/L.



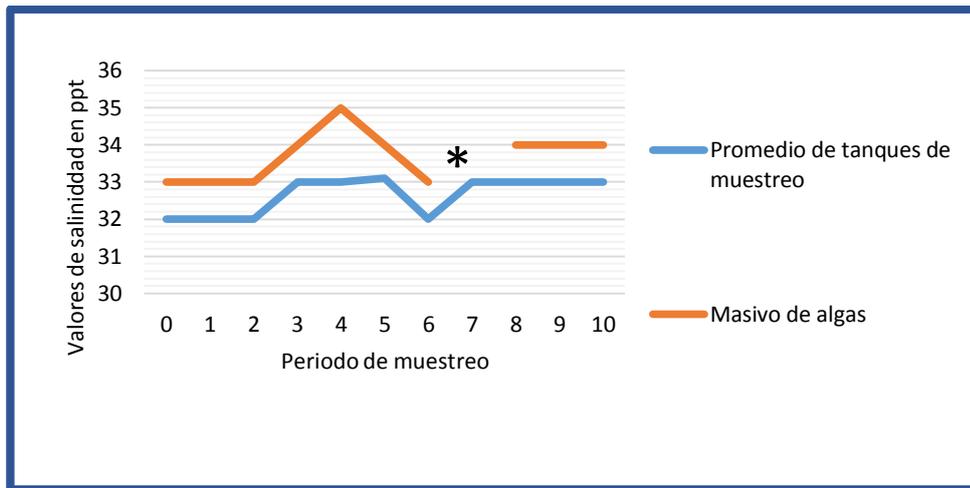
\* Dato no determinado

**Gráfico # 3. Fluctuaciones de Oxígeno Disuelto obtenidos en los tanques de cultivo y el masivo de algas, durante el periodo de producción.**

### 3.1.4. Salinidad

El parámetro físico de salinidad en los tanques de producción fue similar entre los tanques. Con valores el día de siembra con 32 ppt en todas las tanques de muestreo, al cuarto día de siembra subió a 33 ppt, y al séptimo descendió 31 ppt y posteriormente subió a 33 ppt y se mantuvo hasta terminar el ciclo de cultivo. Porchas y colaboradores (2000) evaluaron la supervivencia de larvas de camarón café *Farfantepenaeus californiensis* a 30, 33 y 36 ppt, donde no encontraron diferencias significativas en relación de la supervivencia, pero al subir a 38ppt disminuyó al 15 % de la tasa de supervivencia. Investigaciones realizadas por Balbi y colaboradores (2005), aclimataron Postlarvas (Pl<sub>12</sub> y Pl<sub>19</sub>) de *L. vannamei* de disminuyendo salinidades de 35 a 5ppt sin sufrir mortalidad alguna.

El tanque de masivo de algas presentó al primer día de muestreo con 33 PPT manteniéndose así hasta el 5 día de muestreo donde aumentó a 35 ppt, a partir de esta fecha las fluctuaciones se dieron entre 1 y 2.2 ppt de salinidad. (Gráfico # 4).



\* Dato no determinado

**Gráfico # 4. Valores de salinidad en los tanques de muestreo durante el periodo de producción.**

### 3.2. Análisis de la dinámica bacteriana de las muestras de agua, larvas, *Artemia salina*, algas y probióticos, durante el ciclo de cultivo.

#### 3.2.1. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Agua durante el periodo de muestreo

Durante los 7 primeros días de muestreo la carga de bacterias marinas reportó valores de exponente a la cuarta, al octavo día se presentó el valor más alto con  $3.89E+05$  UFC/mL, al noveno día se mantuvo en exponente a la quinta y para el décimo día reportó una disminución semejante a la de los días iniciales de muestreo (Gráfico # 5); en contraste durante el quinto día de muestreo Merchán (2014), expresa que se evidenció la mayor carga de bacterias marinas  $1,30E+06$  UFC/mL; López y colaboradores (2013), mencionan que en la etapa de postlarvas se presencia el mayor incremento de carga bacteriana marina por la adición de pellets en la dieta alimenticia.



**Gráfico # 5. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.**

### 3.2.2. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón durante el periodo de muestreo

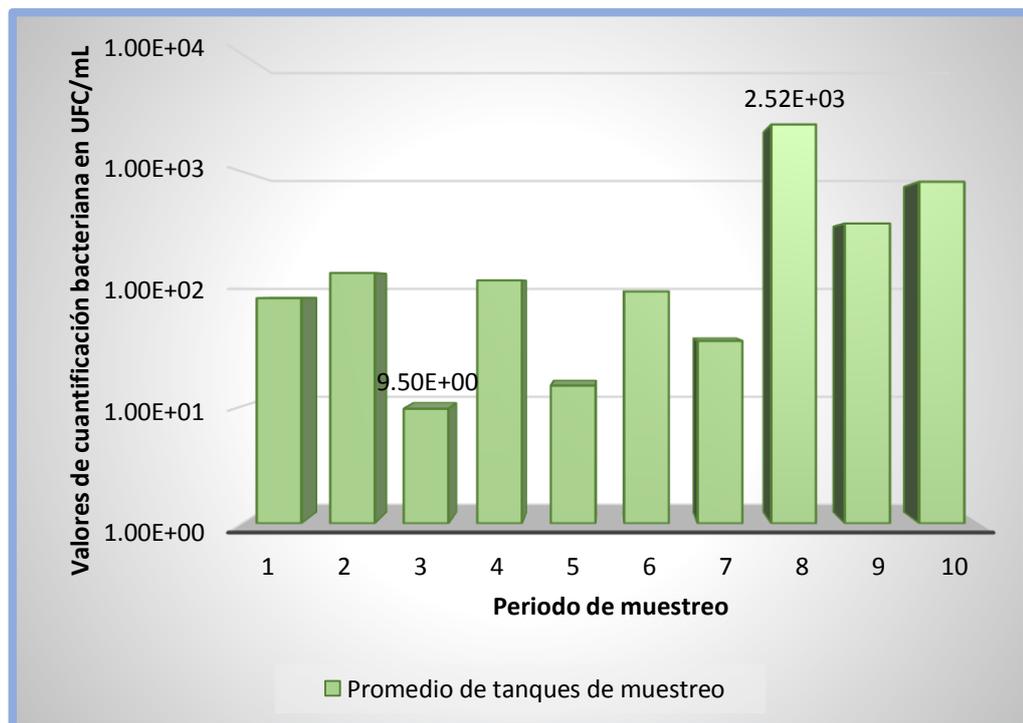
En la etapa de Nauplio V, los organismos ingresan a los tanques de cultivos con  $3.05E+06$  UFC/g de bacterias marinas, se observó una fluctuación de crecimiento en el estadio de Zoea III de  $9.49E+07$  UFC/g, en Mysis I se presentó la carga mínima durante toda la fase de muestreos con  $2.40E+06$  UFC/g, de Mysis II en adelante la carga bacteriana se mantuvo entre exponente a la séptima y octavo hasta el último día de muestreo (Gráfico # 6); mientras que resultados mostrados en sistemas de raceways con concentraciones de  $2.00E+08$  UFC/mL a los 8 días post siembra en larviculturas de México (Ibarra *et al.*, 2007).



**Gráfico # 6. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.**

### 3.2.3. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de Agua durante el periodo de muestreo

Para el caso del crecimiento de Vibrios en el agua de los tanques de producción, se registraron valores mínimos de carga bacteriana al tercer y quinto con  $1.00E+01$  UFC/mL, se observaron valores máximos  $2.52E+03$  UFC/mL al octavo día de muestreo (Gráfico # 7); en comparación un muestreo realizado por Espinoza en abril 2014 mostró un promedio máximo en  $2.22E+04$  UFC/mL de Vibrios en el agua de tanque en fase de cultivo en laboratorios de larvicultura en la zona de Mar Bravo, Santa Elena.



**Gráfico # 7. Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de agua de los tanques muestreo, durante la fase experimental.**

### 3.2.4. Dinámica de crecimiento de *Vibrios* en muestras de Larvas de camarón durante el periodo de muestreo

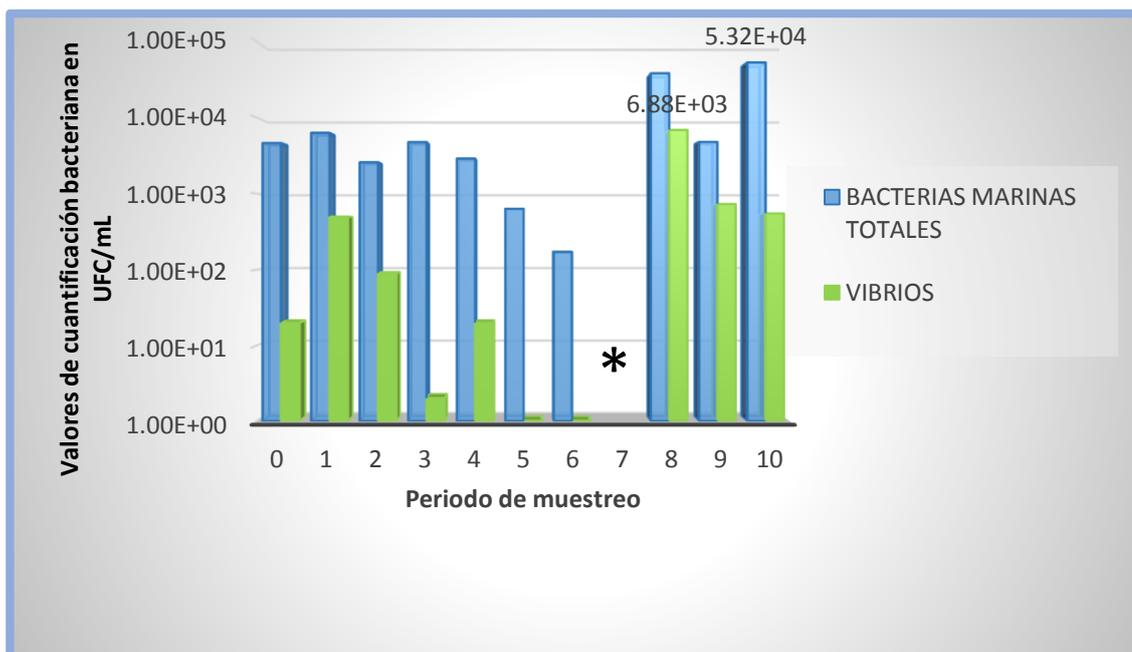
Los Nauplios V, ingresaron con una carga *Vibrios* de  $2.45E+05$  UFC/g. En el estadio de Mysis I se observó los valores mínimos de  $3.70E+03$  UFC/g, estos valores fueron elevándose hasta el límite mayor en Post-larva III con una carga bacteriana de  $3.64E+05$  UFC/g; mientras que se han reportado para Postlarvas concentraciones mayores a  $1.0E+04$  UFC/g (Agurto *et al.*, 2014) (Gráfico # 8). Ibarra y colaboradores (2007); y Merchán (2014), reportan  $1.00E+3$  UFC/g, en chequeo de Postlarvas de camarón. Gullian (2001) Publicó resultados en Zoea II de *Vibrios* a  $1.00E+07$  UFC/g, de los cuales se aisló *Vibrios* patógenos. Aguirre y colaboradores (2013) obtuvieron concentraciones de *V. Harvey* de  $1.0E+07$  UFC/g durante los estadios de Nauplio, Zoea I-III, Mysis I-III de *L. vannamei*. Gomez-Gil y colaboradores (2004) infectaron a Postlarvas III con *V. splendidus* hasta concentraciones máximas de  $2.0E+06$  UFC/mL con el fin determinar la sensibilidad y resistencias del organismo de estudio.



Gráfico # 8. Dinámica de crecimiento de *Vibrios* en muestras de Larvas de camarón, durante la fase experimental.

### **3.2.5. Dinámica de crecimiento de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras del masivo de algas durante el periodo de muestreo**

Se presenta en este gráfico de barras comparativo del crecimiento bacteriano en el masivo de algas tomando a consideración que cada día ingresa un lote de algas a los tanques de masivos, las bacterias marinas obtuvieron una concentración superior de  $9.63E+04$  UFC/mL, frente a la de los Vibrios con  $8.16E+03$  UFC/mL; en correlación a los días de muestreos los valores más altos de bacterias de los dos grupos comenzaron ser notorios a partir del noveno día de muestreo; Solano, 2015 (com per), argumentó que por experiencia de campo las concentraciones de bacterias marinas totales en el masivo de algas cuando se observan resultados de concentraciones  $1.0E+0.3$  UFC/mL, es necesario tomar medidas para reducir esta carga ya que podría tornarse perjudicial al adicionar a los tanques de producción en los estadios de entrada (Nauplio V), además que para Vibrios con exponentes de  $1.0E+0.2$  UFC/mL, con 50% de presencia de Vibrios verdes lo recomendable es no adicionar a las larvas de *L. vannamei* cultivadas (Gráfico # 9).



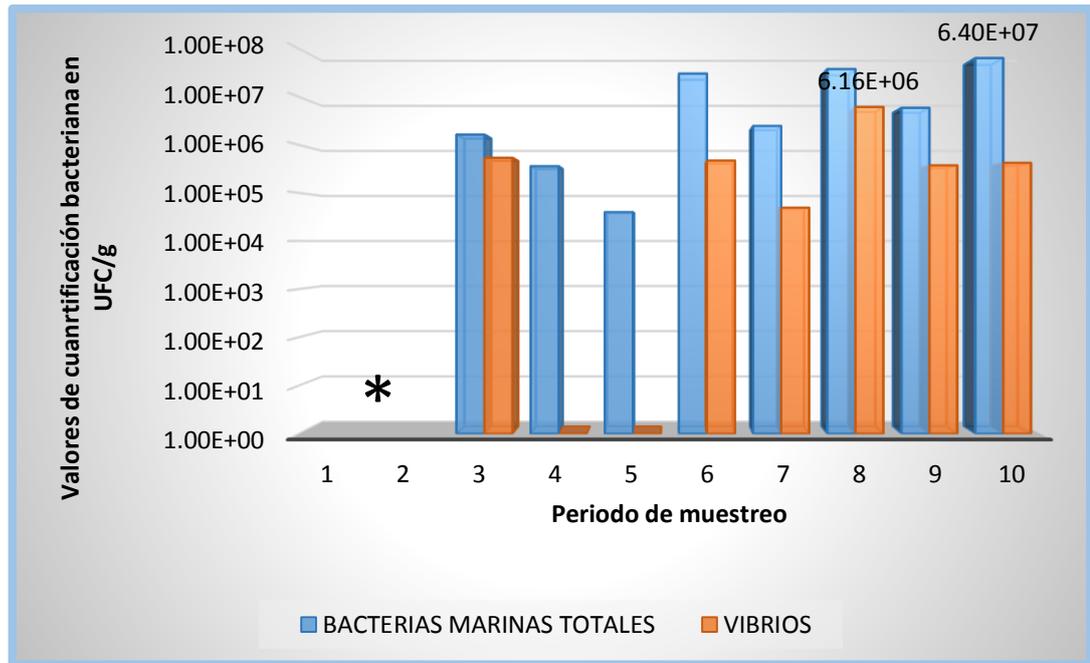
\*No determinado

**Gráfico # 9. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras del masivo de algas, durante la fase experimental.**

### **3.2.6. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras de *Artemia salina* durante el periodo de muestreo**

La adición de *Artemia salina* como parte de la alimentación se inició al tercer día de siembra en el estadio de Mysis I; las bacterias marinas totales presentaron un mayor valor de crecimiento  $1.78E+07$  UFC/g, que los *Vibrios* con  $1.00E+06$  UFC/g; mientras que en el cuarto y quinto día no hubo presencia alguna de *Vibrios* en las muestras de analizadas. (Gráfico # 10); en contraste a la investigación de Quiroz (2005), quien evaluó en el proceso de descapsulación de *Artemia franciscana* con adición de probiótico A el crecimiento bacterias marinas fue de  $1.0E+03$  UFC/g y

*Vibrios*  $2.5E+02$  UFC/g; mientras que probiótico B  $3.5E+03$  y  $0.0E+00$  UFC/g respectivamente. Otra investigación realizada por López y colaboradores (2000), registraron valores máximos en nauplios de *A. franciscana*  $1.0E+0.7$  Y  $1.0E+0.8$  UFC/g y en el agua cultivo  $1.0E+0.6$  y  $1.0E+0.7$  UFC/mL.



\*No determinado

**Gráfico # 10. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios en muestras de Artemia salina, durante la fase experimental.**

**Tabla # 2. Estadística descriptiva de las concentraciones bacterianas obtenidas en las muestras analizadas, durante el periodo de muestreo**

Estadísticos descriptivos					
	Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
<b>Bacterias marinas del Agua</b>	0.00E+000	6.26E+005	8.5980E+004	2.14633E+004	1.51769E+005
<b>Bacterias marinas de Larvas</b>	3.33E+005	5.23E+008	6.1092E+007	1.73760E+007	1.22867E+008
<b>Bacterias marinas de masivo de Algas</b>	1.70E+002	5.32E+004	1.2630E+004	6.41460E+003	1.92438E+004
<b>Bacterias marinas de Artemia</b>	4.00E+004	6.40E+007	1.7851E+007	8.40598E+006	2.37757E+007
<b>Vibrios del Agua</b>	0.00E+000	4.99E+003	3.2764E+002	1.21035E+002	8.55846E+002
<b>Vibrios de Larvas</b>	1.00E+003	6.09E+005	1.1110E+005	2.34473E+004	1.65798E+005
<b>Vibrios de masivo de Algas</b>	0.00E+000	6.88E+003	9.7467E+002	7.44223E+002	2.23267E+003
<b>Vibrios de Artemia</b>	0.00E+000	6.16E+006	1.0023E+006	7.40944E+005	2.09571E+006

### 3.2.7. Crecimiento de Bacterias Marinas Totales en las muestras

recolectadas de agua, larvas, masivo de algas y *Artemia salina*

durante la fase de producción

En el gráfico combinado se observa que las muestras de larvas y *Artemia salina* se reportaron valores máximos de concentraciones de bacterias marinas con  $6.40E+07$  UFC/g; mientras que el agua de los tanques de muestreo obtuvo un valor máximo  $6.26E+05$  UFC/mL; los días de muestreo que se observaron los valores más altos de dinámica microbiana a partir del cuarto día hasta el día diez. (CESASIN, 2003 y Gomez-Gil, *et al.*, 2004), argumentan en base a pruebas de infecciones en peneidos que las cocentraciones de Vibrios verdes luminiscentes con mas del 50% y sobre  $1.0E+0.3$  UFC/g es un caso grave de patología de Postlarvas. El masivo de algas con una carga bacteriana promedio máxima en todo el periodo de muestreo con  $5.32E+04$  UFC/mL (Gráfico # 11).

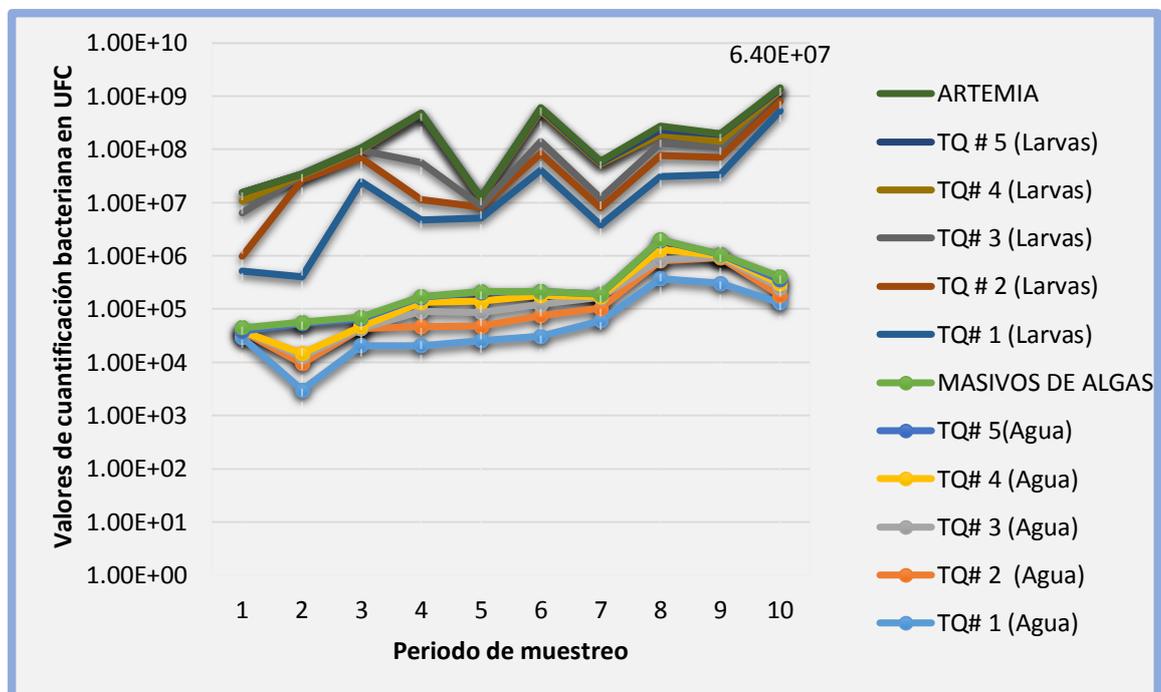


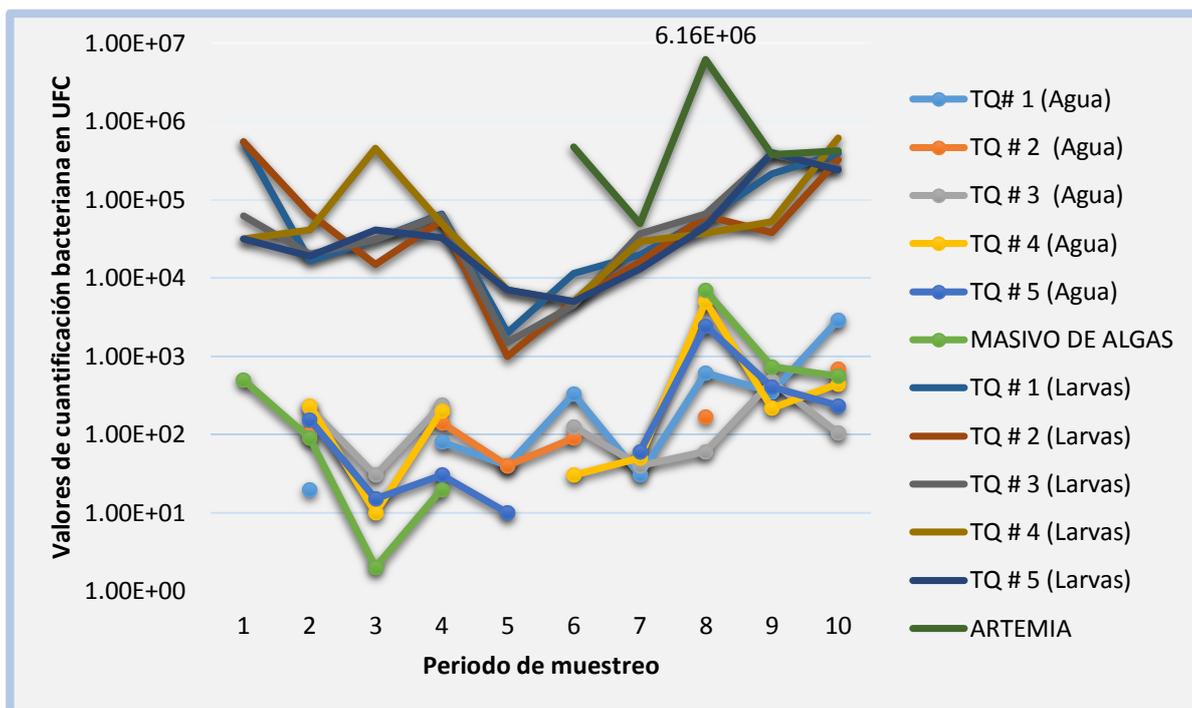
Gráfico # 11. Comparación de Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales en muestras de agua y larvas de tanques de muestreo, larvas, masivo de algas *Artemia salina*, durante la fase experimental.

### **3.2.8. Crecimiento de Vibrios en las muestras recolectadas de agua, larvas, masivo de algas y *Artemia salina* durante la fase de producción**

El crecimiento de los Vibrios en la *Artemia salina* registró una concentración máxima con  $6.16E+06$  UFC/g para el noveno día de muestreo y la mínima concentración con  $4.9E+04$  UFC/g al séptimo día de muestreo; mientras que las muestras de larvas de camarón presentaron valores máximos con  $3.64E+05$  UFC/g al décimo día y el valor mínimo observado con  $3.70E+03$  UFC/g para el quinto día; en tanto se registró concentraciones elevadas de Vibrios durante los muestreos, por tal razón es considerada como vector de contaminación en las dietas de Mysis y Postlarvas de *L. vannamei* Cedeño, 2015 (com per).

Con lo que respecta a las muestras de agua se registró un valor máximo de  $1.65E+03$  UFC/mL y un mínimo de  $1.00E+01$  UFC/mL al octavo día (Gráfico # 12).

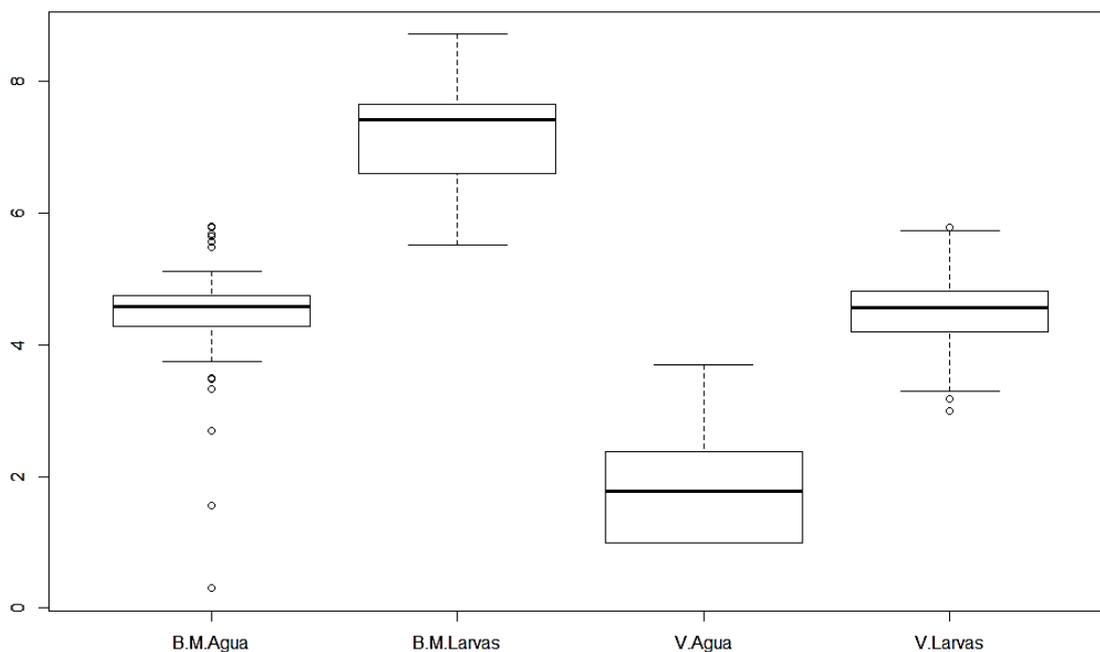
El masivo de alga registra valor máximo de muestreo con  $6.88E+03$  UFC/mL al octavo día.



**Gráfico # 12. Comparación de Dinámica de crecimiento de Vibrios en muestras de agua y larvas de tanques de muestreos, larvas, masivo de algas Artemia salina, durante la fase experimental.**

### 3.2.9. Diagrama de cajas de dinámica de crecimiento de Bacterias marinas y Vibrios en muestras de agua y larvas de camarón durante el periodo de muestreo

De acuerdo a los resultados de la cuantificación bacteriana durante la fase experimental se observa que las concentraciones de Bacterias marinas totales del agua de cultivo se encuentran en valores similares a los observados en los conteos para Vibrios de las larvas de camarón con  $1.0E+04$  UFC. En tanto los conteos de Bacterias marinas en las muestras de larvas presentaron valores mayores con  $1.0E+07$  UFC en comparación con los conteos de Vibrios en el agua de los tanques reportados como mínimos de  $1.0E+02$  UFC (Gráfico # 13).



Valores de cuantificación bacteriana se expresan en logaritmo natural.

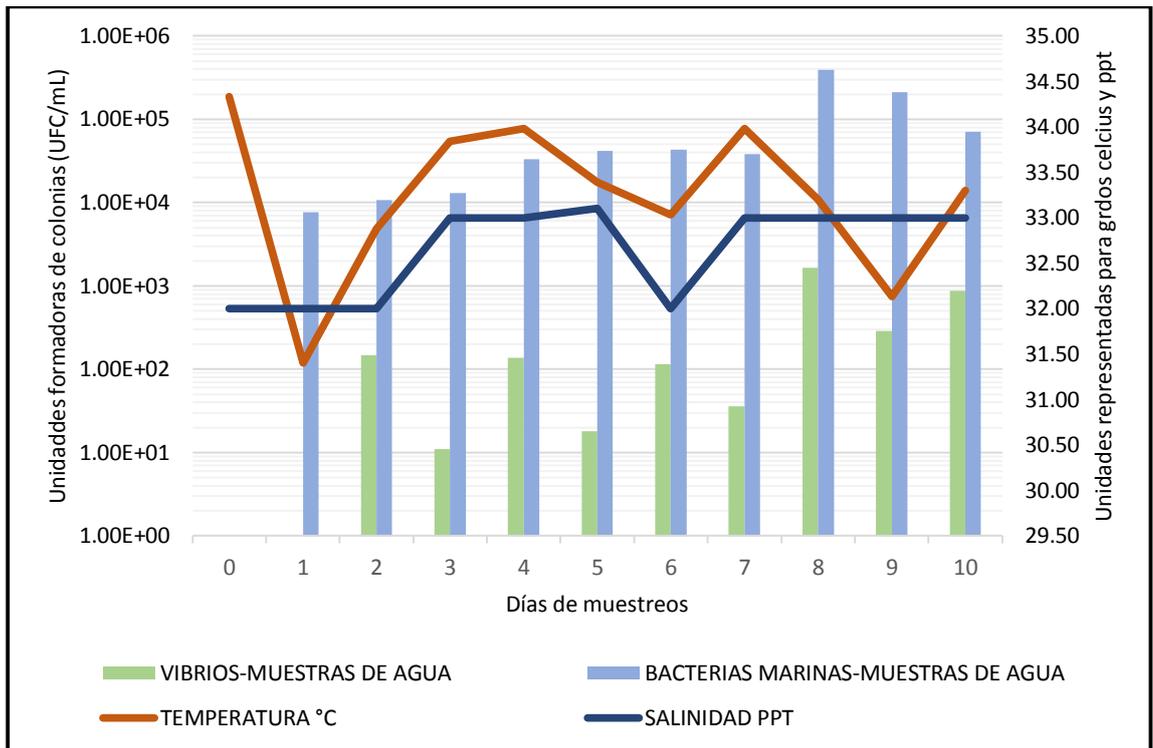
° Representan valores atípicos -B.M. Bacterias marinas, -V. Vibrios

**Gráfico # 13. Box plot de diferencias comparativas en dinámica de Bacterias marinas y Vibrios en muestras de agua y larvas de camarón durante el periodo de muestreo.**

### **3.2.10. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios de las muestras de agua, durante la fase experimental**

Se registró un incremento de la temperatura en los días 1, 2, 3 y 4 que corresponden a los estadíos Nauplio V, Zoea I, II y III, donde se registró un incremento solo de Bacterias marinas totales; mientras que, existió una baja de temperatura en los días 8, 9 y 10 que corresponden a los estadíos de Pl I, II y III, donde se reportaron las mayores concentraciones de Bacterias marinas totales y Vibrios.

La salinidad no refleja relación alguna con la dinámica bacteriana (Gráfico # 14).

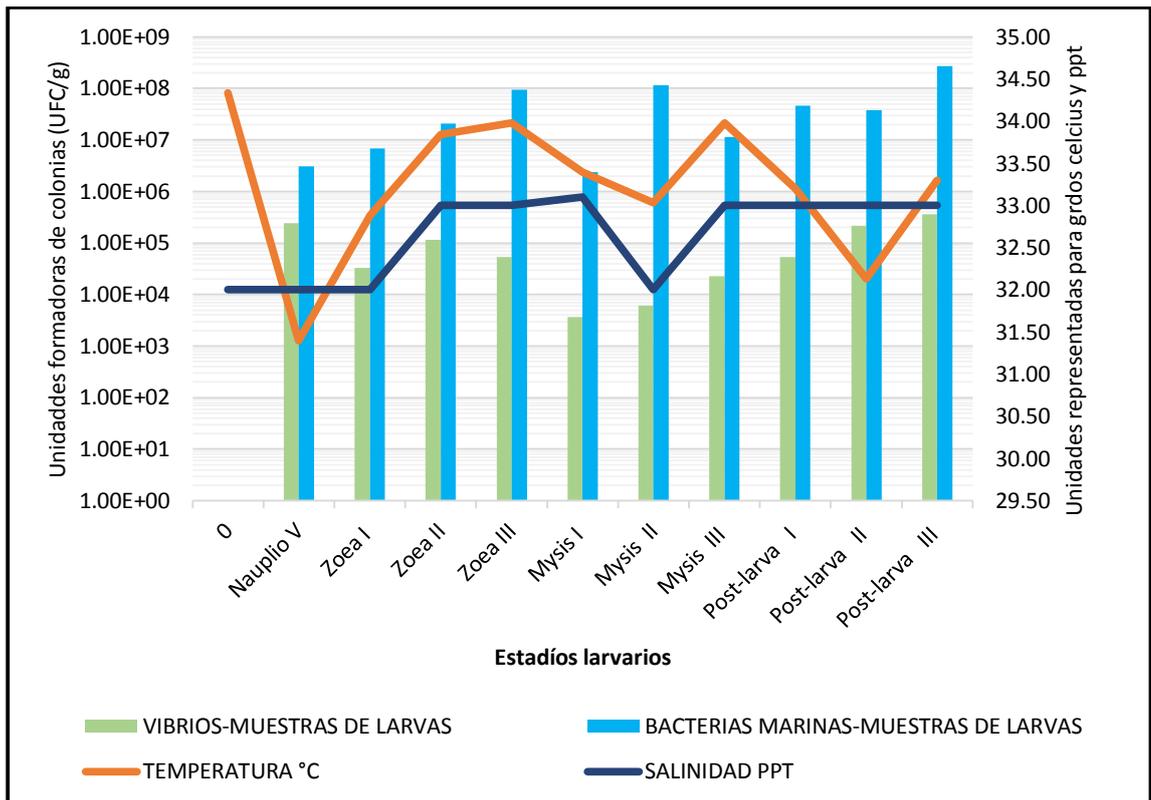


**Gráfico # 14. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de agua de los tanques de muestreo, durante la fase experimental.**

### **3.2.11. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de larvas, durante la fase experimental**

Se observó un incremento de la temperatura en los estadios Nauplio V, Zoea I, II y III donde se registró un incremento solo de Bacterias marinas totales; mientras que, existió una baja de temperatura en los estadios de Pl I, II y II, donde se reportaron las mayores concentraciones de Bacterias marinas totales y Vibrios.

La salinidad no refleja relación alguna con la dinámica bacteriana. (Gráfico # 15).

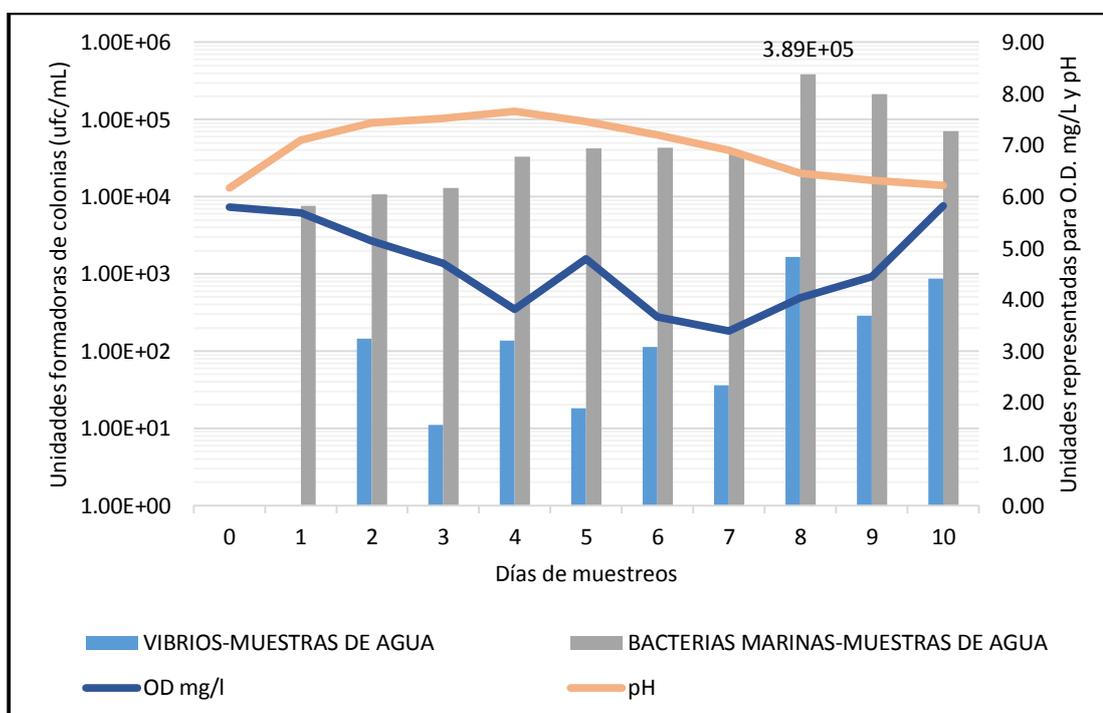


**Gráfico # 15. Relación de salinidad y temperatura con la dinámica de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en las muestras de larvas de los tanques de muestreos.**

### 3.2.12. Relación de pH y Oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios de las muestras de agua, durante la fase experimental

Se registró una disminución de oxígeno disuelto en los días 1, 2, 3 y 4 que corresponden a los estadios Nauplio V, Zoea I, II y III, donde se observó un incremento solo de Bacterias marinas totales; mientras que, existió un incremento de oxígeno disuelto en los días 8, 9 y 10 que corresponden a los estadios de Pl I, II y III, donde se reportaron las mayores concentraciones de Bacterias marinas totales y Vibrios.

Valores de pH disminuyen a partir de los días 7, 8, 9 y 10 que corresponden a los estadios de Mysis III, Pl I, II y III, llegando hasta 6,22; argumentaciones de Cedeño, 2015 (com per), niveles de pH registrados presentes en (Gráfico # 16), son considerados como peligrosos en el cultivo.

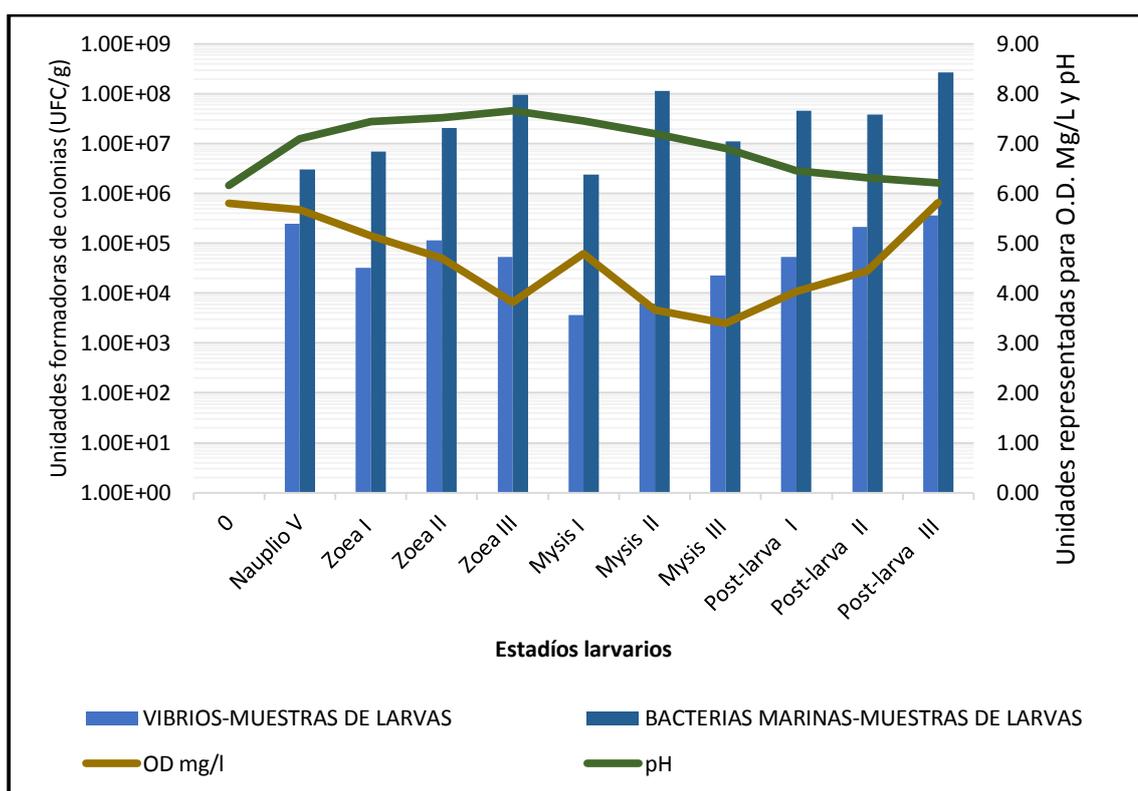


**Gráfico # 16. Relación de pH y Oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales en las muestras de agua y larvas, durante la fase experimental.**

### 3.2.13. Relación de pH y oxígeno disuelto con la dinámica de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de larvas, durante la fase experimental

Se observó una disminución de oxígeno disuelto en los estadios Nauplio V, Zoea I, II y III, donde se observó un incremento solo de Bacterias marinas totales; mientras que, se reportó un incremento de oxígeno disuelto en los estadios de Pl I, II y III, donde se registró las mayores concentraciones de Bacterias marinas totales y Vibrios.

Valores de pH disminuyen a partir de los estadios de Mysis III, Pl I, II y III, llegando hasta 6,22 (Gráfico # 17).



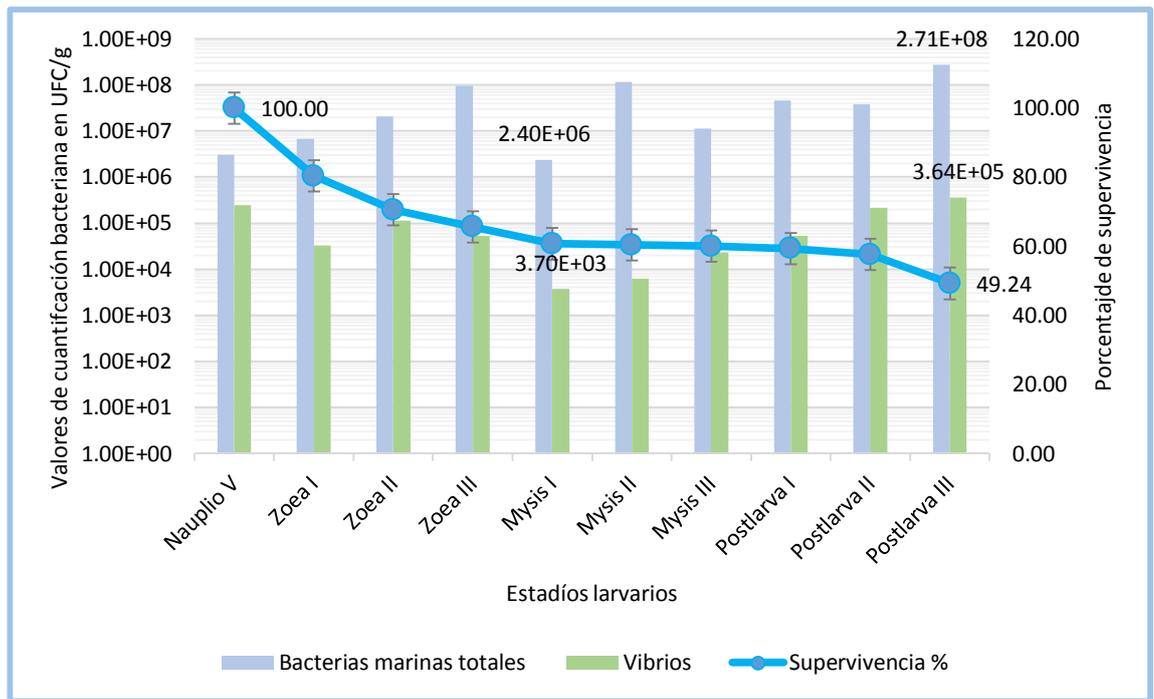
**Gráfico # 17. Relación de pH y oxígeno disuelto con la dinámica de Vibrios en las muestras de agua y larvas de los tanques de producción, durante la fase experimental.**

### 3.3. Relación de la dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios con la supervivencia en el desarrollo larvario de *L. vannamei*

Se cuantificó la mínima concentración de Bacterias marinas totales en el estadio larvario Mysis I con 2.40E+06 UFC/g, el valor máximo en Postlarva III con 2.71E+08 UFC/g; mientras que en los Vibrios se observó un valor mínimo en Mysis I con 3.70E+03 UFC/g y un máximo en Pl III con 3.64E+05 UFC/g. En tanto se observó un incremento de la mortalidad de 19.66% en el transcurso del estadio de Nauplio V a Zoea I y 10.75% en Pl I a Pl III, en base a los resultados observados, se relacionó el mayor porcentaje de mortalidad en las fases iniciales fue causado por el incremento de Vibrios, corroborando con la investigación realizada por Gomez-Gil y colaboradores (2004), en sistemas de producciones en larvas de *L. vannamei* (Gráfico # 18).

**Tabla # 3. Relación de la dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios con la supervivencia en el desarrollo larvario de *L. vannamei***

Estadio larvario	Supervivencia %	Bacterias marinas totales	Vibrios	Mortalidad %
Nauplio V	100.00	3.05E+06	2.45E+05	0
Zoea I	80.34	6.86E+06	3.28E+04	19.66
Zoea II	70.52	2.07E+07	1.15E+05	9.83
Zoea III	65.60	9.49E+07	5.29E+04	4.91
Mysis I	60.69	2.40E+06	3.70E+03	4.91
Mysis II	60.34	1.16E+08	6.20E+03	0.34
Mysis III	60.00	1.13E+07	2.28E+04	0.34
Postlarva I	59.31	4.59E+07	5.34E+04	0.69
Postlarva II	57.59	3.82E+07	2.16E+05	1.72
Postlarva III	49.24	2.71E+08	3.64E+05	8.34



**Gráfico # 18. Dinámica de crecimiento de Bacterias marinas totales y Vibrios vs la supervivencia en el desarrollo larvario de *L. vannamei***

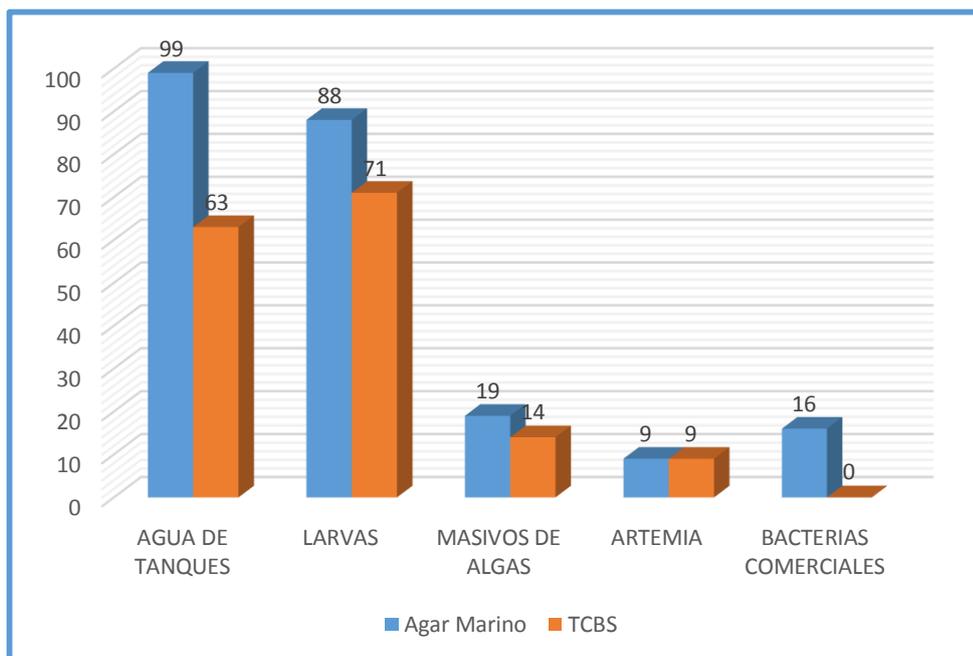
### 3.4. Otros resultados obtenidos

#### 3.4.1 Cepas bacterianas aisladas de las muestras de agua, larvas, algas y artemia, durante la fase experimental

Se obtuvieron 388 cepas bacterianas aisladas, de las cuales se detalla en el gráfico # 19 el medio de cultivo utilizado y el origen de la muestra:

**Tabla # 4. Cepas bacterianas de las diferentes muestras de análisis, durante la fase experimental.**

	<b>Agar Marino</b>	<b>TCBS</b>
<b>Agua de tanques</b>	99	63
<b>Larvas</b>	88	71
<b>Masivo de algas</b>	19	14
<b>Artemia</b>	9	9
<b>Bacterias comerciales</b>	16	0
<b>Suma total</b>	388	



**Gráfico # 19. Cepas bacterianas aisladas de dos medios de cultivo.**

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Las Bacterias marinas totales y los Vibrios están presentes durante todo el cultivo, pero se registró un incremento a partir de los estadíos de Postlarva, debido a la adición de dieta animal y alimento microparticulado.

Comparando la carga de bacterias marinas totales se determinó que las larvas de *L. vannamei* presentan mayor carga microbiana y el mayor aporte de Vibrios se presentó en la inclusión *Artemia salina* en la dieta a partir de Zoea III a Mysis de *L. vannamei* en la fase de cultivo.

El aumento de las concentraciones en UFC de bacterias marinas totales como de Vibrios a partir del octavo día de muestreo que corresponde al estadío de Postlarva I, se relacionan con el incremento de la temperatura; mientras que la salinidad presentó rangos mínimos de variación por lo que no se evidenció relación específica con los resultados obtenidos de la carga bacteriana durante la fase experimental.

El incremento de los valores obtenidos en la cuantificación de Bacterias marinas totales y Vibrios en las muestras de agua y larvas de *L. vannamei*, se asocian a las variaciones de oxígeno disuelto a inicios de los estadíos de Postlarva; el pH no mostró relación puntual entre la carga bacteriana analizada durante la fase experimental.

Las cargas en UFC de Bacterias marinas totales y Vibrios incidieron en el porcentaje de mortalidad obtenido entre los estadios de Nauplio V a Zoea I y de Postlarva I a Postlarva III de *L. vannamei*. A partir de los estadios de Zoea II a Mysis III, claramente se observa que no existe mortalidad alguna, en estas fases es cuando los organismos se adaptan en su totalidad al cultivo.

Con lo respecta al análisis de las hipótesis planteadas, se acepta la Hipótesis nula que expresa que existe un incremento de concentración de Bacterias marinas totales y de Vibrios con relación al desarrollo de los estadios larvarios del *L. vannamei* en los sistemas de producción comerciales, de acuerdo a la cuantificación en UFC/mL ó g de las muestras de agua de los tanques de cultivo de larvas, microalgas (*Thalassiosira sp* y *Tetraselmis sp*) y *Artemia salina* en la fase experimental de la investigación.

## 5.2. Recomendaciones

- Realizar estudios sobre dinámica bacteriana en sistemas de cultivos en la estación seca y en diferentes sectores de la provincia de Santa Elena, comparando las especies descritas en este trabajo de investigación y los posibles problemas identificados a nivel de salud del organismo de cultivo.
- Enfocar análisis comparativos a nivel bacteriano de las especies presentes en los sistemas de producción acuícola vs el perfil costero abundancia, caracterizando las especies patógenas a través de estudios moleculares y análisis filogenéticos.
- Efectuar análisis de materia orgánica total durante los procesos de cultivos de larvicultura para inferir si existe disminución alguna por aplicación de las bacterias probióticos comerciales.
- Evaluar en los diferentes sistemas de cultivos de especies acuáticas no solo la dinámica de las especies bacterianas, sino también de hongos, protozoarios, microalgas u otros microorganismos que asociados.

## 6. Bibliografía

- Aguirre, G., López, A., & Vázquez, S. (2013). Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Tamaulipas. México, Revista Scientia Agropecuaria Sitio en internet: [www.sci-agropecu.unitru.edu.pe](http://www.sci-agropecu.unitru.edu.pe) Scientia Agropecuaria , 4(1), 121 – 127.
- Agurto, G., Rodríguez, J., Bayot, B., Betancourt, I., Chalén, B., Domínguez, C., Panchana, F. (2014). Reporte de problemas asociados a *Vibrios* Luminiscentes en larvicultura de camarón. CENAIM - ESPOL, 1 - 45.
- Alcívar, R. (2004). Estudio y caracterización microbiológica de las guas del puerto de pesca de Santa Rosa. Universidad de Guayaquil. Facultad de ciencias químicas. Previo a la obtención del título Doctora en química y farmacia, 120.
- Aliaga, R., Miranda, J., & Zevallos, J. (2010). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado de Lima, Perú. Revista Médica Hered (21), 139-145.
- Almanza, M., Barracco, M., Cuéllar-Anjel, J., & Lightner, D. S. (2008). Guía técnica de patología e inmunología de camarones peneidos.
- Araya, r., Leiva, J., & Valdés, J. (2008). Caracterización molecular de las comunidades bacterianas asociadas a sedimentos de un sistema costero del norte de la corriente de Humboldt, bahía de Mejillones del Sur, Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 43(3), 547-557.

- Arguello, B. (2014). Identificación molecular de comunidades bacterianas Gram negativas . Previo a la obtención de Título Ingeniero en Acuicultura. Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales, ESPOL, 1-88.
- Balbi, F., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., & Maneiro, C. (2005). Aclimatación de postlarvas de diferentes edades y criaderos del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) a baja salinidad. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 40(2), 109-115.
- Boone. (1931). taxonomy of *Litopenaeus vannamei*. World Register of Marine Species. <http://www.marinespecies.org/>.
- Borbor, M. (2005). Caracterización de Comunidades Bacterianas en sistemas de engorde de camarón mediante electroforesis en geles de gradiente desnaturalante (DGGE). Tesis de Biólogo Marino, UPSE, Ciencias del Mar, Santa Elena, Ecuador.
- Bou, G., Fernández-Olmosb, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezated, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades infecciosas en microbiología clínica*, ELSEVIER DOYMA, 29(8), 601-608.
- Boyd, C. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Boston, EE.UU.: Kluwer Academic Publishers.
- Cámara Nacional de Acuicultura, (. (12 de septiembre de 2014). Actualidad de las divisas de camarón blanco. *El Telégrafo*.

- Ching, R., Ahmed, K., Boutros, P., Penn, L., & Bazett-Jones, D. (2014). Identifying gene locus associations with promyelocytic leukemia nuclear bodies using immuno-TRAP. *American Society of Clinical Oncology*, 192-199.
- Cornelis, P. (2008). *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology* (Primera ed.). Caister Academic Press.
- Cruz, T. (2000). Pink Gold Rush: Shrimp Aquaculture, Sustainable. *México: Journal of Political Ecology* 7.
- Darwin, C. (1880). *Origen de las especies por medio de la selección natural o Conservación de las razas en su lucha por la existencia* (2ª edición ed.). Madrid: Lucuix y Compañí.
- Espinoza, J. (2014). Estudio microbiológico del agua en diferentes puntos de recorrido de un laboratorio de larvicultura. Previo a la obtención de título de Acuacultor, Facultad de Ingeniería Marítima, Escuela Superior Politécnica del Litoral, 1-84.
- FAO. (2010). Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei* (Boone, 1931).
- Fenucci, J. (1989). Cultivo de camarones. FAO. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab466s/AB466S00.htm#TOC>.
- Forves, B. (2007). *Diagnóstico microbiológico* (Doceava ed.). Madrid: Editorial Medica Panamericana.
- Gomez-Gil, B., Thompson, F., Thompson, C., Garcia-Gasca, A., Roque, A., & Swings, J. (2004). *Vibrio hispanicus* sp. nov., isolated from *Artemia* sp. and

sea water in Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 261-265.

Gullian, M. (2001). "Estudio del efecto inmunoestimulante de bacterias probióticas asociadas al cultivo de *Penaeus Vannamei*. . Previo a la obtención de título Magister en ciencias especialidad Acuicultura, 28-64.

Hernández, G., Ullo, P., Vergara, O., E. T., & Cabello, C. (2005). Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. *Revista médica de Chile*, 133(9), 1081-1088.

Hernández-Zulueta, J., Leal, S., Lugioyo, M. S., Rafael, & Curbelo, O. E. (2014). Bacterial microbiota associated to the cultures of two species of benthic microalgae. *Revista De Investigaciones Marinas*, 34(1), 104-120.

Ibarra, G., González, G., Galavíz, S., Zinnia, J, Molina, G., & Luna, B. (2007). *Vibriosis Asociadas al Cultivo de Camarón Litopenaeus vannamei*. Instituto Tecnológico de Sonora, Dirección de Recursos Naturales, Laboratorio de Acuicultura. México, 56.

INAPESCA. (2012). Organismos destinados a Acuicultura commercial. . 45 - 47.

Kirchman, D., & Williams, J. (2000). Introduction . En: *Microbial Ecology of the Oceans*. Kirchman (eds)., 542.

Koizumi, Y. (2003). Characterization of depth-related microbial community structure in lake sediment by denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S rDNA and reversely transcribed 16S rRNA fragments. *FEMS Microbiology Ecology*, 46, 147 – 1.

- Lastras, P. (2009). Probióticos, *Lactobacillus acidophilus*.  
[dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4866000.pdf](http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4866000.pdf).
- Leyton, Y., & Riquelme, C. (2008). Vibrios en ecosistemas marino - costeros .  
*Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3), 441-456.
- Lightner, D. (2003). Exclusion of specific pathogens for disease prevention in a penaeid shrimp biosecurity program. In: Lee CS, O'Bryen PJ (eds) *Biosecurity in aquaculture production systems: exclusion of pathogens and other undesirables*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 81-116.
- López Torres, M. A., Lizárraga Partida, M. L., Correa, F., & Castro, T. (2000). Bacterias y porcentaje de eclosión de quistes de artemia franciscana kellogg, 1906, de cuatro poblaciones naturales de México. *Ciencias Marinas*, 26(2), 215-223 .
- López, T., Chomina, H., Haros, M., Barraza, G., & Valdez, H. (2013). Determinación de la carga de bacterias en zona de efluente camaronícola. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Blvd. Colosio s/n entre Reforma y Sahuaripa. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, 6(1), 33-38.
- Mariñelarena, A. (1996). Cuantificación de bacterias heterotróficas viables. 85-95.
- Martínez, F. (2013). Cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* utilizando ácidos orgánicos y bacterias ácido lácticas en el alimento balanceado. Tesis sometida a consideración del H. Consejo Directivo de la facultad de ciencias

Aagropecuarias como requisito previo para optar el grado de Ingeniero en Acuicultura, 13-49.

Medigan, M., Marttinko, J., & Paker, J. (1996). Biología de microbiología de Brock. (9 edición ).

Merchán, A. (2014). Dinámica del biofloc en cultivo intensivo de post- larva del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un sistema de raceways, Taura. Tesis de grado, previo a la obtención de Título de Biologo marino, Universidad Estatal Peninsula de Santa Elena, Ecuador , 109-110.

Migula. (1894). Taxonomis status Pseudomonas. <http://www.gbif.org/species/3219881>.

Milian, G. (2005). Empleo de probióticos a base de Bacillus sp y sus endosporas en la producción agrícola. Instituto de Ciencia Animal. Apartado Postal 24. La Habana. 16.

Miranda, I., Valles, J. L., Sánchez, R., & Álvarez, Z. (2010). Cultivo del camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) en agua dulce . Revista Científica, XX(4), 339-346 .

Miravet, M. (2003). Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadoras ambientales. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 190.

Morales, V. (1990). levantamiento larvario de camarones peneidos. Pradepesca, 1. .

Morales, V. (2008). Incidencia de Vibrio en los diferentes estadios del cultivo de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en un laboratorio de producción de larva

en la PaZ, B.C.S. Área de Conocimientos de Ciencias del Mar Departamento de Ingeniería en Pesquerías, Universidad Autónoma de Baja California Sur, 1 - 68.

Moreno, C. (2002). Polimorfismo intracromosómico de los genes del rRNA 16s y presencia de genes relacionados con patogenicidad en aislados ambientales del género *Vibrio* en la Costa Chilena. Doctorado en Doctor en ciencias con mención en Microbiología. .

Pacini, F. (1854). Osservazioni microscopiche e deduzione patologiche sul colera asiatico. *Gazette Medica de Italiana Toscano Firenze*, 6, 405-412.

Pérez, I., Arencibia, N., & Isla, M. (2009). Influencia del cultivo del camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*) sobre los ecosistemas costeros. *Rev. Fopcana*, 2(1-2), 11-20.

Pillay, T. (2004). *Aquaculture and the Environment*. Second Edition, Ed. Fishing News Books and Blackwell Publishing Ltd. 189.

Porchas, C., Martínez, C., Naranjo, P., Magallón, B., Portillo, G., & Unzueta, B. (2000). . Efecto de la salinidad en la larvicultura de camarón café *farfantepenaeus californiensis* (holmes, 1900) a bajas temperaturas. *Ciencias Marinas*, septiembre, 503-510. .

Quimi, J. (2010). “utilización de bacterias asociadas al perifitón de substratos artificiales en el sistema de cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de grado, previo a la obtención de Título de Biologo Marino, Universidad estatal Península de Santa Elena, 102-106.

- Quiroz, E. (2005). Aislamiento de bacterias y fagos para el control biológico de *Vibrio* spp. durante la eclosión de *Artemia* . Tesis de Maestro en ciencias con especialidad en recursos marinos. Instituto politécnico nacional, México , 88-90.
- Riquelme, C., & Avedaño-Herrera, R. (2003). Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural*(76), 725-736.
- Salvador, F., & Cruz, D. (2009). Nutracentrics. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia México D.F. 88p. .
- Silva, W., Olea, A., Fernández, J., Ibáñez, D., Hormázabal, J., García, J., & Maldonado, A. (2008). Aislamiento, Identificación y Caracterización de *Vibrio parahaemolyticus* . Departamento de Laboratorios Biomédicos, sección de Bacteriología., 1 - 45.
- Simões, N., Jones, D., Soto-Rodríguez, S., Roque, A., & Gómez-Gil, B. (2002). Las Bacterias en el Inicio de la Alimentación Exógena en Larvas de Camarones Peneidos: Efectos de la Calidad del Agua, Tasas de Ingestión y Rutas de Colonización del Tracto Digestivo de Ingestión y Rutas de Colonización del Tracto Digestivo. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, VI(1), 243-267.
- Solis, A. (1996). Miniaturización y simplificación de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias marinas asociadas al camarón. Tesis de grado, previo a la obtención de Título de Acuicultor. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. , 1-83.

- Solórzano, H. (2009). Descripción y análisis de impacto ambiental típicos relacionados a la actividad de producción acuícola en el Ecuador. Tesis. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Ecuador. , 129.
- Suárez, C. (2008). Cuantificación y caracterización molecular. Trabajo de grado para optar el título de microbiólogo industrial molecular de bacterias en el hemolinfa de *L. vannamei*, durante borteos de mancha blanca, 1-233.
- Thimmalapura, D., Fatimah, Y., & Mohamed, S. (2002). Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products. *Aquaculture* (206), 245 -256.
- Thompson, J., & Polz, M. (2006). Dynamics of *Vibrio* populations and their role in environmental nutrient cycling. *The biology of vibrios*, 13, 190-203.
- Urmeneta-Alonso, B., Aragón, V., Bengochea, R., Díaz, C., Gamazo, I., García-Jalón, S., Vitas, A. (2000). Manual práctico de Microbiología (Segunda ed.). Barcelona (España): MASSON, S.A.
- Van Olst, J. (1972). Shrimp farming. *Aquaculture systems international*. Sorrento valley road., San Diego California. .
- Venkateswara, R. (2012). *Vibriosis en la acuicultura del camarón*. India: Corporate Centre. .
- Vera, T. (2010). Utilización de microalgas (diatomeas bentónicas) asociadas al perifiton sobre sustratos artificiales en el sistema de cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) realizado en la estación experimental de la camaronera Marinazul. Tesis de grado previa a la obtención de Título de Biólogo marino, Universidad Estatal Península de Santa Elena, 210.

- Vinatea, L. (2014). Capacidad de carga en el cultivo de camarón. En M. Velarde, S. Stanislaus, & J. Camposano (Edits.), Libro de resúmenes XVI CONGRESO ECUATORIANO DE ACUICULTURA Y AQUAEXPO (págs. 22-23). Guayaquil: Camará Nacional de Acuicultura.
- Woese, C. (1987). Bacterial evolution. *Microbiol . REV*(51), 221-227.
- Yamazaki, k., & Esiobu, N. (2012). Environmental Predictors of Pathogenic Vibrios in South Florida Coastal Waters. Biological Sciences Department, Charles E. Schmidt College of Science, Florida Atlantic University, The Open Epidemiology Journal, 5, 1-4.
- Yegani, M. (2010). Manipulación de la flora intestinal en Aves. Universidad de Alberta Canadá.  
[www./Manipulaci%C3%B3n%20de%20la%20microflora%20int](http://www.Manipulaci%C3%B3n%20de%20la%20microflora%20int).
- Yukari, N., Megumi, O., Kouji, K., Zenzo, N., Osamu, K., & Isao M., K. A. (2007). A Chromogenic Substrate Culture Plate for Early Identification of *Vibrio vulnificus* and Isolation of Other Marine Vibrios. Department of Clinical Laboratory Medicine, Saga University Hospital, Saga; 2 Biochemical Research Laboratory, Eiken Chemical Co., Ltd., Tokyo. *Annals of Clinical & Laboratory Science*,, 37, 276-321.
- Zhi, Y., Forster, I., Conquest, L., Warren, D., Wenhao, C., & Floyd, D. (2008). Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles, 39, 118 -133.

## Referencias de Sitios Web:

- Recuperado el 13 de febrero del 2015, del sitio web:  
<http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/dilucion-bacteriana.html>
- Recuperado el 05 de marzo del 2015, del sitio web:  
[http://es.wikipedia.org/wiki/Vibrio\\_parahaemolyticus](http://es.wikipedia.org/wiki/Vibrio_parahaemolyticus).
- Recuperado el 13 de marzo del 2015, del sitio web:  
[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus\\_vannamei/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es).
- Recuperado el 18 de marzo del 2015, del sitio web:  
<http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/11nutrientes.htm>
- Recuperado el 19 de abril del 2015:  
[http://web.ecologia.unam.mx/laboratorios/fmolina/pdf/Protocolos\\_LABORATORIO.pdf](http://web.ecologia.unam.mx/laboratorios/fmolina/pdf/Protocolos_LABORATORIO.pdf)
- Recuperado el 29 de abril del 2015:  
<http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?c=22>
- Recuperado el 29 de abril del 2015:  
<http://www.ispch.cl/sites/default/files/Caracterizacion%20bioquimica%20y%20molecular%20de%20Vibrio%20cholerae.pdf>
- Recuperado el 29 de abril del 2015: <http://www.diversidadmicrobiana.com/>
- Recuperado el 30 de abril del 2015:  
<https://biologiaupc.files.wordpress.com/2012/07/eubacteria.pdf>
- Recuperado el 30 de abril del 2015:  
[http://www.researchgate.net/publication/235644365\\_Las\\_Bacterias\\_en\\_el\\_Inicio\\_de\\_la\\_Alimentacin\\_Exgena\\_en\\_Larvas\\_de\\_Camarones\\_Peneidos\\_Efect](http://www.researchgate.net/publication/235644365_Las_Bacterias_en_el_Inicio_de_la_Alimentacin_Exgena_en_Larvas_de_Camarones_Peneidos_Efect)

os\_de\_la\_Calidad\_del\_Agua\_Tasas\_de\_Ingestin\_y\_Rutas\_de\_Colonizacin\_d  
el\_Tracto\_Digestivo

- Recuperado el 2 de mayo del 2015:  
[http://apuntesbiologiamol.blogspot.com/2014\\_05\\_01\\_archive.html](http://apuntesbiologiamol.blogspot.com/2014_05_01_archive.html)
- Recuperado el 02 de mayo del 2015:  
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/1902/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-35.pdf>
- Recuperado el 04 de mayo del 2015: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-identificacion-bacteriana-el-laboratorio-90027188>
- Recuperado el 06 de mayo del 2015:  
[http://apps.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=90027188&pident\\_usuario=0&pcontactid=&pident\\_revista=28&ty=134&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v29n08a90027188pdf001.pdf](http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90027188&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=134&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v29n08a90027188pdf001.pdf)
- Recuperado el 08 de mayo del 2015:  
<http://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/4748/130510.pdf?sequence=1>
- Recuperado el 10 de mayo del 2015:  
<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/tesis/import/Identificacion%20caracterizacion%20molecular.pdf>
- Recuperado el 10 de mayo del 2015:  
<http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8544/1/tesis14.pdf>
- Recuperado el 14 de mayo del 2015:  
[https://es.wikipedia.org/wiki/Litopenaeus\\_vannamei](https://es.wikipedia.org/wiki/Litopenaeus_vannamei)
- Recuperado el 15 de mayo del 2015: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Recuperado el 18 de mayo del 2015:  
<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/440/cap5.html>

## ANEXOS

### Anexo de tablas

**Tabla # 5 .Preparación de medios de cultivos (Agares)**

<b>Agar TCBS (DIFCO™)</b>	
<b>Sustancias:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Agar TCBS (DIFCO™)</b></li><li>• <b>Bacto Agar</b></li><li>• <b>Agua destilada</b></li></ul>	<b>Preparación:</b> <p>Colocar 89 gramos de Agar TCBS (DIFCO™) en 1 litro de agua destilada, posteriormente adicionar 5 gramos de Bacto Agar y agitar.</p> <p>Llevar a ebullición inmediatamente colocar a enfriar; realizar este proceso sucesivamente hasta que se forme una espuma blanca.</p>
<b>Agar Marino (DIFCO™)</b>	
<b>Sustancias:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Agar Marino (DIFCO™)</b></li><li>• <b>Bacto Agar</b></li><li>• <b>Agua destilada</b></li></ul>	<b>Preparación:</b> <p>Colocar 55.1 gramos de Agar Marino (DIFCO™) en 1 litro de agua destilada, posteriormente adicionar 5 gramos de de Bacto Agar y agitar.</p> <p>Autoclavar a 120 °C-15 min</p>

### Caldo TSB-Acumedia ® al 10 % de Glicerol

**Sustancias:**

- **Caldo (TSB-Acumedia ®)**
- **Cloruro de sodio**
- **Glicerol**
- **Agua destilada**

**Preparación:**

Colocar 60 gramos de Caldo TSB-Acumedia ® en 1 litro de agua destilada, posteriormente adicionar 10 gramos de cloruro de sodio, posterior adicionar 100 mL de glicerol y agitar.

Autoclavar a 120 °C-15 min

### Agar TSA (DIFCO™)

**Sustancias:**

- Agar TSA (DIFCO™)
- Bacto Agar
- Cloruro de sodio
- Agua destilada

**Preparación:**

Colocar 40 gramos de Agar TSA (DIFCO™) en 1 litro de agua destilada, posteriormente adicionar 5 gramos de Bacto Agar, 15 gramos de cloruro de sodio y agitar.

Autoclavar a 120 °C.

**Tabla # 6. Esquema de las diluciones las muestras para la siembra en Agar Marino (DIFCO <sup>TM</sup>) y recuento por diluciones seriadas**

Tipo de muestra	Diluciones								
	Muestra problema	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
Agua		X	X	X					
Algas		X	X	X					
Larvas de camarón					X	X	X		
Artemia				X	X	X			
Probióticos comerciales							X	X	X

**Tabla # 7. Esquema de las diluciones las muestras para la siembra en Agar TCBS (DIFCO™) y recuento por diluciones seriadas**

Tipo de muestra	Diluciones								
	Muestra problema	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
Agua	X	X	X						
Algas	X	X	X						
Larvas de camarón			X	X	X				
Artemia			X	X	X				
Probióticos comerciales		X	X	X					

**Tabla # 8. Temperatura °C en los tanques de muestreo durante el periodo de producción**

Temperatura °C											
	23/03/2015	24/03/2015	25/03/2015	26/03/2015	27/03/2015	28/03/2015	29/03/2015	30/03/2015	31/03/2015	01/04/2015	02/04/2015
<b>Tanque # 1</b>	34.5	31.8	32.8	32.6	34.9	34.3	33.8	32.6	33.7	33.2	34.6
<b>Tanque # 2</b>	34.5	31.9	33.1	34.2	34.8	34.6	33.5	33.9	33.9	32.3	34.2
<b>Tanque # 3</b>	34	31.5	32.8	34.2	34.7	34.2	34.1	34.5	34	32.9	34.4
<b>Tanque # 5</b>		31.2	32.5	34.01	34.8	34.06	34.3	34.6	35.7	33.3	34.7
<b>Tanque # 6</b>		30.6	33.2	34.2	34.9	34.3	34.9	34.3	34	33.4	34
<b>Masivo de algas</b>	29.5	30	28.01	29.5	29.8	28.9	27.6		27.9	27.7	27.9

**Tabla # 9. pH en los tanques de muestreo durante el periodo de producción**

pH											
	23/03/2015	24/03/2015	25/03/2015	26/03/2015	27/03/2015	28/03/2015	29/03/2015	30/03/2015	31/03/2015	01/04/2015	02/04/2015
<b>Tanque # 1</b>	6.1	7	7.4	7.5	7.6	7.4	7.1	6.9	6.5	6.4	6.2
<b>Tanque # 2</b>	6.1	7.1	7.5	7.5	7.7	7.5	7.2	6.9	6.5	6.3	6.2
<b>Tanque # 3</b>	6.3	7.1	7.4	7.5	7.7	7.5	7.2	6.9	6.5	6.3	6.2
<b>Tanque # 5</b>		7.1	7.5	7.6	7.6	7.4	7.2	6.9	6.5	6.3	6.2
<b>Tanque # 6</b>		7.2	7.4	7.5	7.7	7.5	7.3	6.9	6.3	6.3	6.3
<b>Masivo de algas</b>	7.5	7.1	7.7	7.7	7.5	7.4	7.8		6.7	6.9	7.1

**Tabla # 10. Oxígeno disuelto en los tanques de muestreo durante el periodo de producción**

<b>Oxígeno disuelto</b>											
	23/03/2015	24/03/2015	25/03/2015	26/03/2015	27/03/2015	28/03/2015	29/03/2015	30/03/2015	31/03/2015	01/04/2015	02/04/2015
<b>Tanque # 1</b>	6.2	6.11	5.61	5.48	3.9	5.71	4.28	3.2	3.88	5.02	6.12
<b>Tanque # 2</b>	5.57	5.78	5.21	4.58	3.95	4.81	3.63	3.48	3.3	4.55	5.97
<b>Tanque # 3</b>	5.63	5.77	5.11	4.53	3.83	4.62	3.39	2.97	3.05	4.46	5.84
<b>Tanque # 5</b>		5.27	5.01	4.5	3.71	4.42	3.04	3.63	4.98	4.16	5.52
<b>Tanque # 6</b>		5.47	4.79	4.42	3.7	4.42	3.97	3.67	4.95	4.02	5.65
<b>Masivo de algas</b>	6.8	5.94	6.09	6.15	6.3	6.25	4.04		5.3	5.1	6.42

**Tabla # 11. Salinidad en los tanques de muestreo durante el periodo de producción**

<b>Salinidad</b>											
	23/03/2015	24/03/2015	25/03/2015	26/03/2015	27/03/2015	28/03/2015	29/03/2015	30/03/2015	31/03/2015	01/04/2015	02/04/2015
<b>Tanque # 1</b>	32	32	32	33	33	33.5	32	33	33	33	33
<b>Tanque # 2</b>	32	32	32	33	33	33	32	33	33	33	33
<b>Tanque # 3</b>	32	32	32	33	33	33	32	33	33	33	33
<b>Tanque # 5</b>		32	32	33	33	33	32	33	33	33	33
<b>Tanque # 6</b>		32	32	33	33	33	32	33	33	33	33
<b>Masivo de algas</b>	33	33	33	34	35	34	33		34	34	34

**Tabla # 12. Cuantificación bacteriana de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras de aguas y algas durante el periodo de muestreo**

Fecha	TANQUE # 1		TANQUE # 2		TANQUE # 3		TANQUE # 5		TANQUE # 6		MASIVO DE ALGAS	
	TCBS	AGAR MARINO	TCBS	AGAR MARINO								
24/03/2015	0.00E+00	2.89E+04	0.00E+00	9.28E+03	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	3.67E+01	0.00E+00	2.00E+00	5.00E+02	6.32E+03
25/03/2015	2.00E+01	3.00E+03	1.00E+02	6.42E+03	2.20E+02	3.18E+03	2.35E+02	2.18E+03	1.55E+02	3.86E+04	9.00E+01	2.59E+03
26/03/2015	0.00E+00	2.07E+04	0.00E+00	2.19E+04	3.00E+01	5.00E+02	1.00E+01	3.10E+03	1.50E+01	1.90E+04	2.00E+00	4.77E+03
27/03/2015	8.00E+01	2.07E+04	1.40E+02	2.56E+04	2.40E+02	4.39E+04	2.00E+02	4.29E+04	3.00E+01	3.28E+04	2.00E+01	2.90E+03
28/03/2015	4.00E+01	2.53E+04	4.00E+01	2.31E+04	0.00E+00	3.69E+04	0.00E+00	5.52E+04	1.00E+01	6.97E+04	0.00E+00	6.33E+02
29/03/2015	3.25E+02	3.05E+04	9.00E+01	4.49E+04	1.25E+02	4.65E+04	3.00E+01	5.77E+04	0.00E+00	3.55E+04	0.00E+00	1.70E+02
30/03/2015	3.00E+01	6.02E+04	0.00E+00	4.44E+04	4.00E+01	6.09E+04	5.00E+01	5.50E+03	6.00E+01	1.84E+04		
31/03/2015	6.05E+02	3.66E+05	1.70E+02	4.47E+05	6.00E+01	2.93E+04	4.99E+03	4.78E+05	2.44E+03	6.26E+05	6.88E+03	3.83E+04
01/04/2015	3.45E+02	3.06E+05	0.00E+00	6.11E+05	4.75E+02	4.13E+04	2.17E+02	5.63E+04	4.00E+02	4.97E+04	7.30E+02	4.79E+03
02/04/2015	2.88E+03	1.30E+05	7.00E+02	5.30E+04	1.05E+02	7.15E+04	4.45E+02	4.48E+04	2.35E+02	5.17E+04	5.50E+02	5.32E+04

**Tabla # 13. Cuantificación bacteriana de Bacterias Marinas Totales y Vibrios en muestras de Larvas de camarón y Artemia Salina durante el periodo de muestreo**

Fecha	TANQUE # 1		TANQUE # 2		TANQUE # 3		TANQUE # 5		TANQUE # 6		ARTEMIA	
	TCBS	AGAR MARINO	TCBS	AGAR MARINO								
24/03/2015	5.49E+05	4.67E+05	5.49E+05	4.67E+05	6.20E+04	5.36E+06	3.15E+04	4.47E+06	3.15E+04	4.47E+06		
25/03/2015	1.67E+04	3.50E+05	6.70E+04	2.68E+07	2.00E+04	5.09E+06	4.13E+04	5.93E+05	1.90E+04	1.50E+06		
26/03/2015	3.07E+04	2.47E+07	1.50E+04	4.38E+07	3.10E+04	2.60E+07	4.58E+05	3.89E+06	4.13E+04	5.30E+06	5.39E+05	1.64E+06
27/03/2015	6.50E+04	4.50E+06	5.40E+04	6.60E+06	6.30E+04	4.53E+07	4.93E+04	4.13E+08	3.30E+04	4.90E+06	0.00E+00	3.60E+05
28/03/2015	2.00E+03	4.90E+06	1.00E+03	3.00E+06	1.50E+03	6.33E+05	7.00E+03	3.13E+06	7.00E+03	3.33E+05	0.00E+00	4.00E+04
29/03/2015	1.15E+04	4.01E+07	5.00E+03	4.23E+07	4.50E+03	5.62E+07	5.00E+03	3.95E+08	5.00E+03	4.76E+07	4.72E+05	3.05E+07
30/03/2015	1.97E+04	3.60E+06	1.60E+04	4.20E+06	3.65E+04	4.05E+06	2.90E+04	4.09E+07	1.30E+04	3.60E+06	4.95E+04	2.48E+06
31/03/2015	5.75E+04	2.85E+07	6.15E+04	4.54E+07	6.60E+04	5.39E+07	3.70E+04	5.84E+07	4.50E+04	4.30E+07	6.16E+06	3.79E+07
01/04/2015	2.13E+05	3.25E+07	3.80E+04	3.73E+07	3.80E+05	3.77E+07	5.20E+04	3.23E+07	3.97E+05	5.13E+07	3.75E+05	5.89E+06
02/04/2015	3.90E+05	5.23E+08	3.26E+05	2.75E+08	2.51E+05	4.58E+08	6.09E+05	3.81E+07	2.41E+05	6.31E+07	4.23E+05	6.40E+07

**Tabla # 14. Codificación para aislamiento de cepas bacterianas de distintos medios**

AISLAMIENTO DE CEPAS					MEDIO DE CULTIVO	
TIPO DE MUESTRA		AISLADO			TCBS	AGAR MARINO
AGUA	LARVA					
<b>1</b>	<b>2</b>	A	B	C	T	M

23/03/2015		24/03/2015		25/03/2015		26/03/2015	
Código	Tanque	Código	Tanque	Código	Tanque	Código	Tanque
1	#1	8	#1	15	#1	22	#1
2	#2	9	#2	16	#2	23	#2
3	#3	10	#3	17	#3	24	#3
4	#5	11	#5	18	#5	25	#5
5	#6	12	#6	19	#6	26	#6
6	Alga	13	Alga	20	Alga	27	Alga
7	Artemia	14	Artemia	21	Artemia	28	Artemia

27/03/2015		28/03/2015		29/03/2015		30/03/2015	
Código	Tanque	Código	Tanque	Código	Tanque	Código	Tanque
29	#1	36	#1	43	#1	50	#1
30	#2	37	#2	44	#2	51	#2
31	#3	38	#3	45	#3	52	#3
32	#5	39	#5	46	#5	53	#5
33	#6	40	#6	47	#6	54	#6
34	Alga	41	Alga	48	Alga	55	Alga
35	Artemia	42	Artemia	49	Artemia	56	Artemia

31/03/2015		01/04/2015		02/04/2015	
Código	Tanque	Código	Tanque	Código	Tanque
57	#1	64	#1	71	#1
58	#2	65	#2	72	#2
59	#3	66	#3	73	#3
60	#5	67	#5	74	#5
61	#6	68	#6	75	#6
62	Alga	69	Alga	76	Alga
63	Artemia	70	Artemia	77	Artemia

**Tabla # 15. Supervivencia obtenida en el desarrollo larvario de *L. vannamei***

Supervivencia obtenida en el desarrollo larvario de <i>L. vannamei</i>								
TANQUES	Nauplios V	Mysis I	Mysis II	Mysis III	Postlarva I	Postlarva II	Postlarva III	SUPERVIVENCIA
# 1	5800000	4000000	3900000	3900000	3800000	3800000	3000000	52%
# 2	5800000	3300000	3300000	3300000	3400000	3200000	2780000	48%
# 3	5800000	3700000	3700000	3600000	3500000	3500000	2960000	51%
# 4	5800000	3300000	3300000	3300000	3300000	3200000	3050000	53%
# 5	5800000	3300000	3300000	3300000	3200000	3000000	2490000	43%
							<b>Promedio</b>	49%

## Anexo de figuras

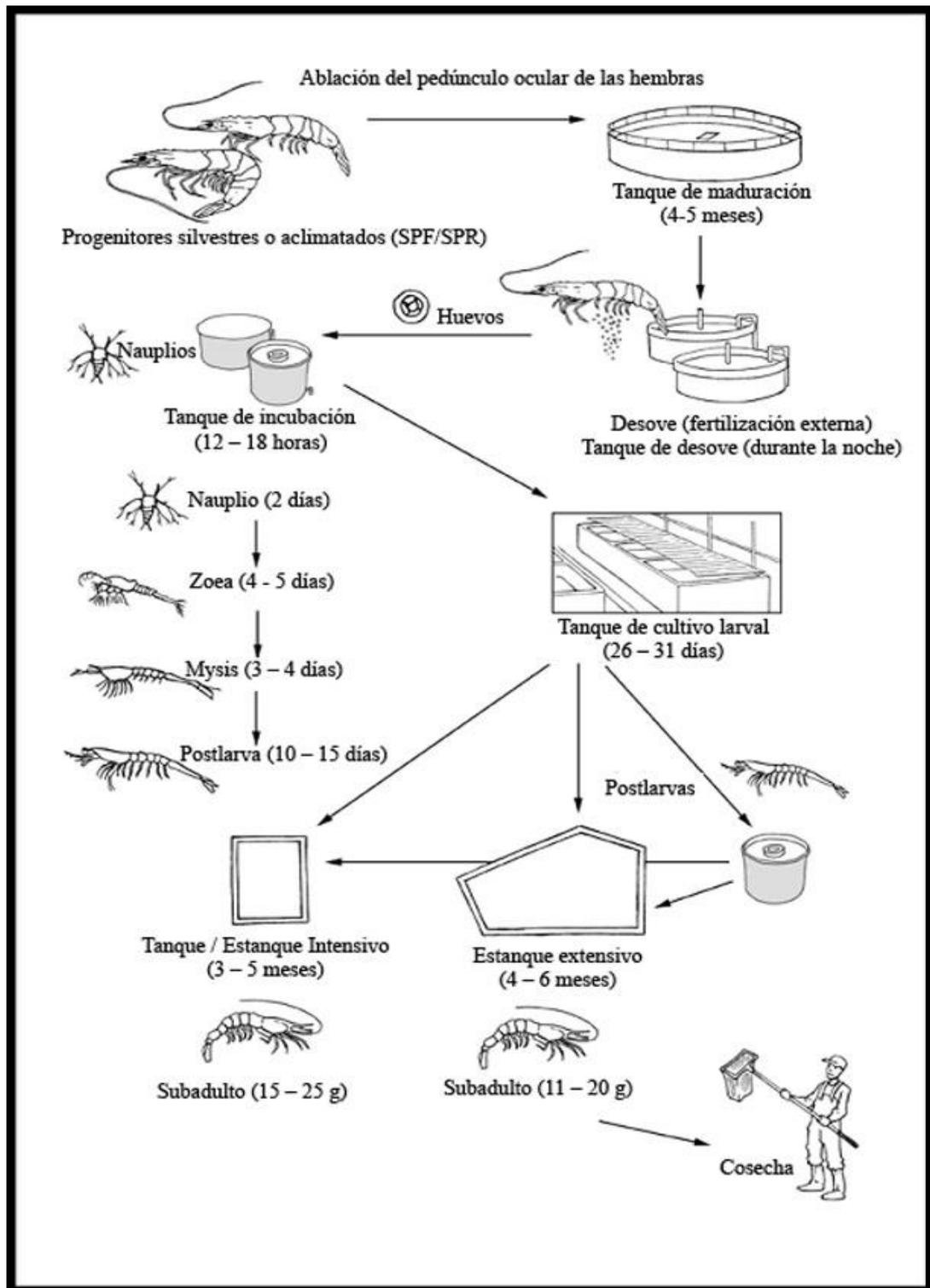


Fig. 1. Ciclo de producción de *L. vannamei*, tomado de [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus\\_vannamei/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es)





Fig. 4. *Vibrio sp* aislado de las muestras de larvas de *L. vannamei*, observado al microscopio con aceite de inmersión a 100 X. (Viteri-Santana, 2015).

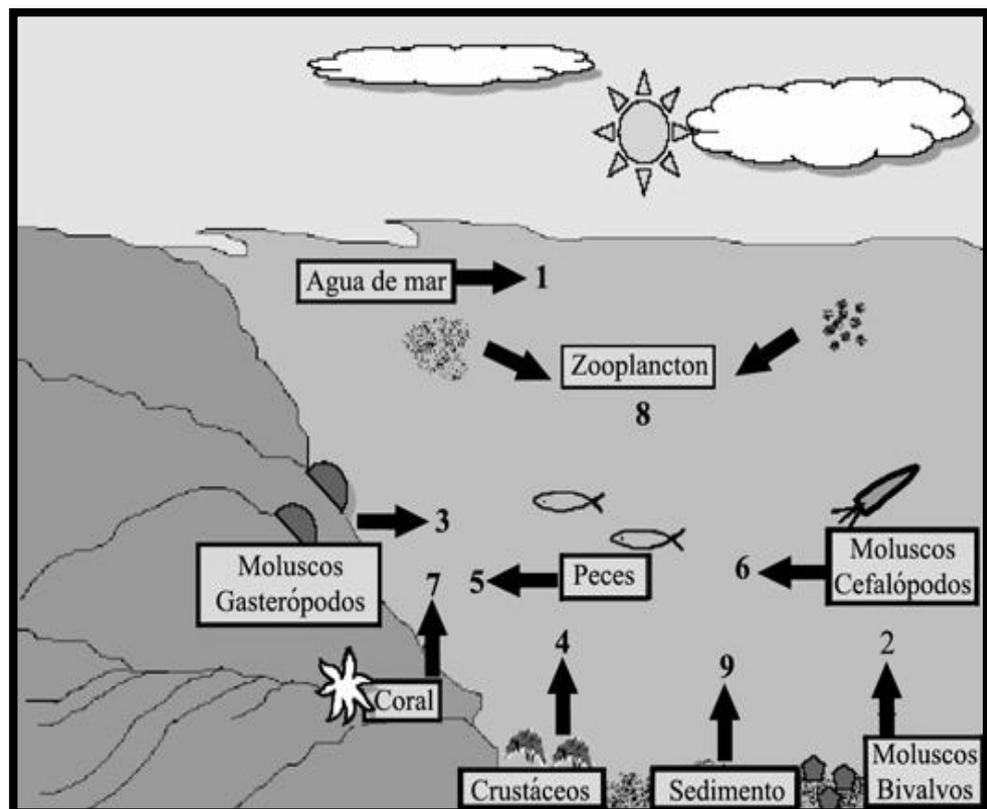


Fig. 5. Representación gráfica de las interacciones de *Vibrios* en diferentes compartimentos del ecosistema costero tomado de [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572008000300004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572008000300004&script=sci_arttext)

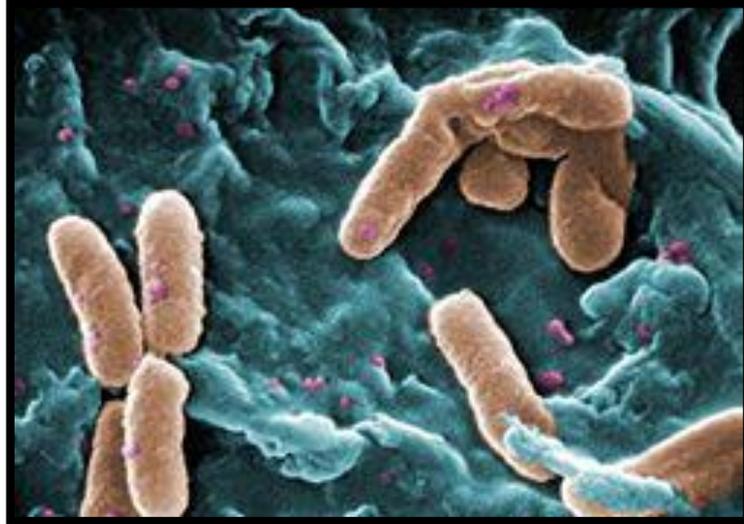


Fig. 6. *Pseudomonas aeruginosa* al microscopio de barrido, con falso color. Tomado de <http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>.

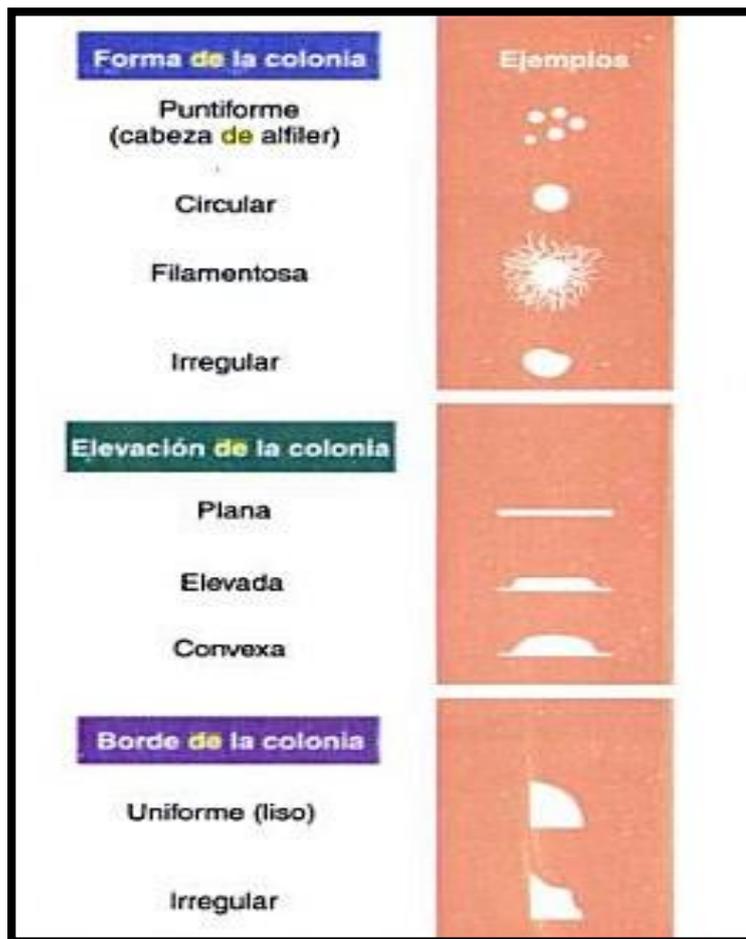
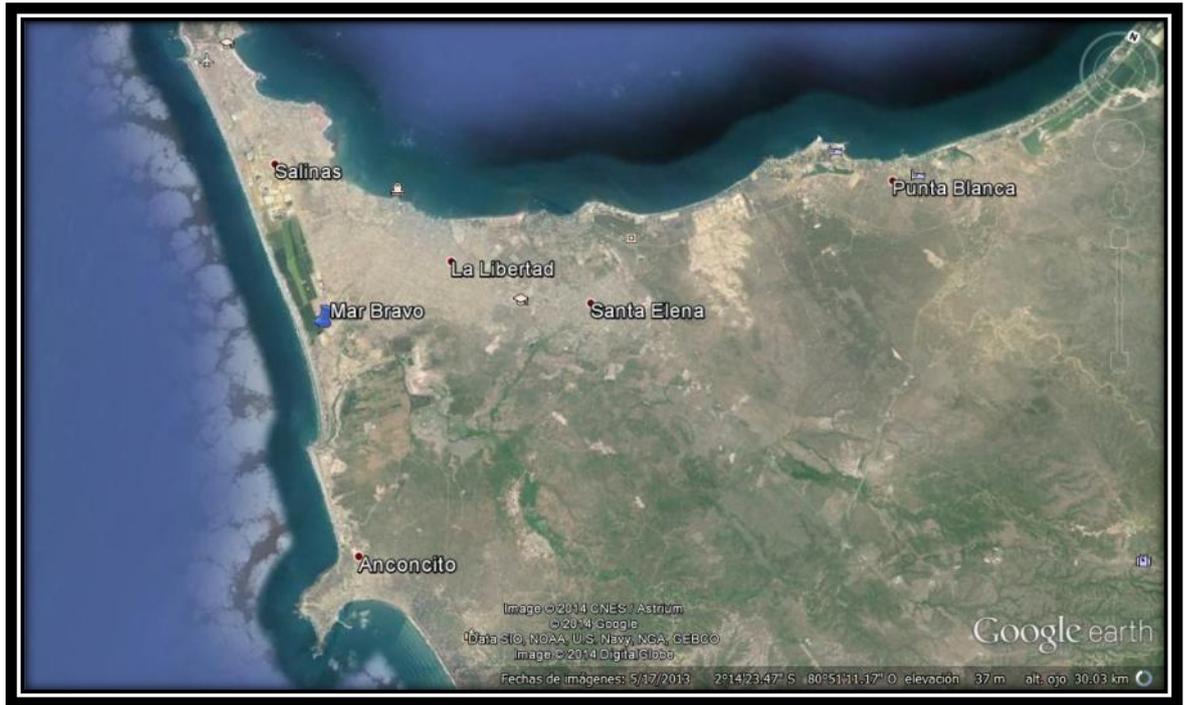
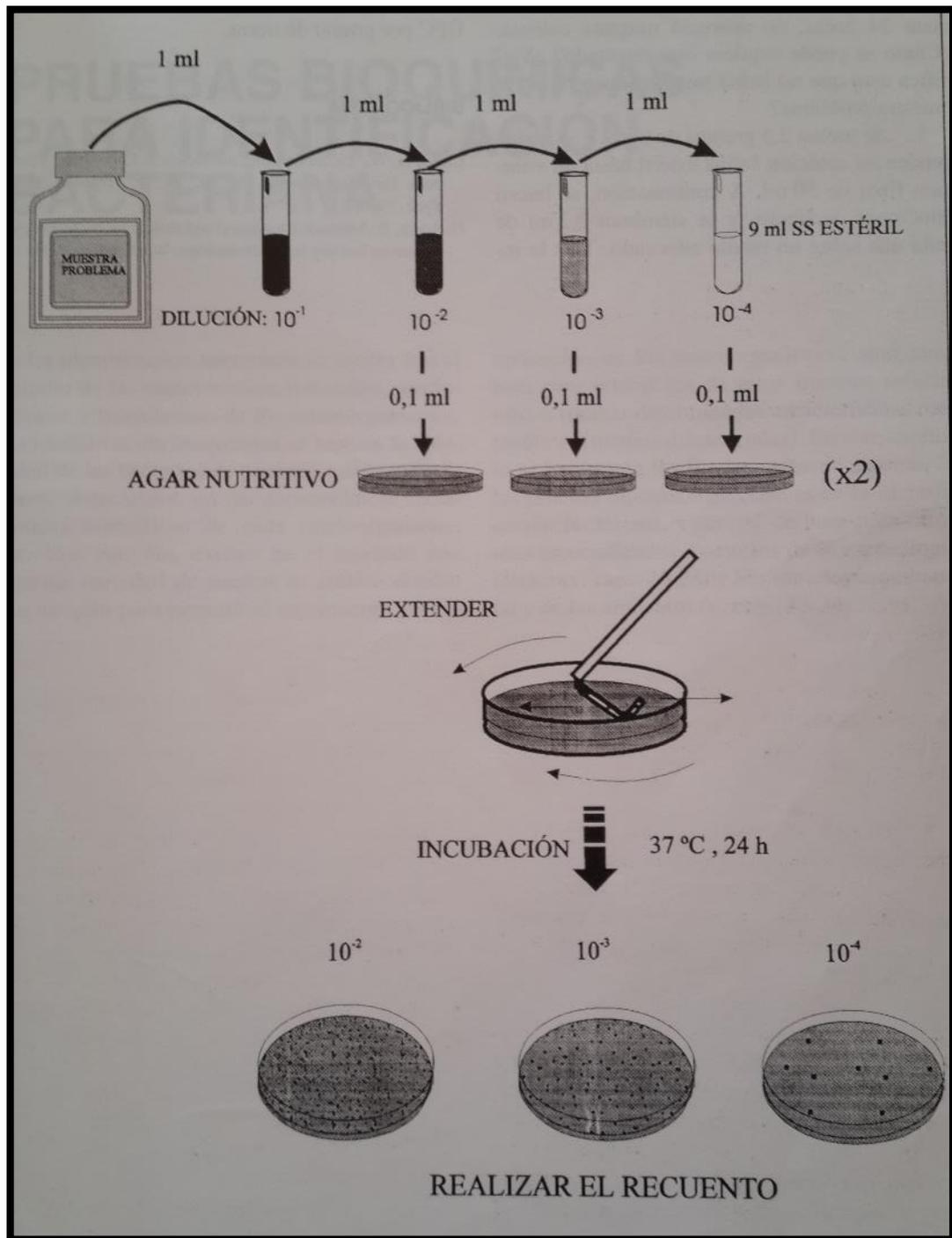


Fig. 7. Características morfológicas de la colonia y términos descriptivos para las colonias bacterianas halladas con frecuencia. Tomado de (Forves, 2007).

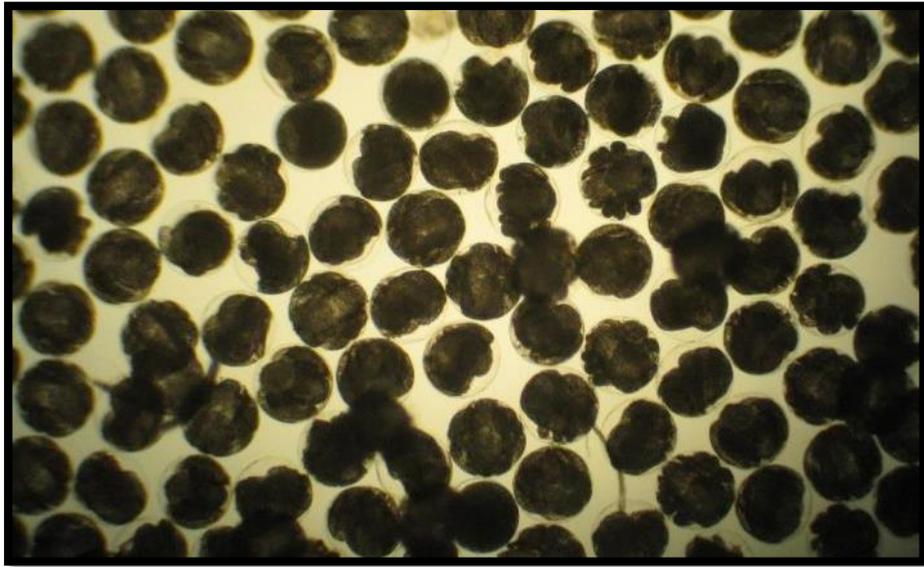


**Fig. 8. Área de estudio: Laboratorio Integral BIOGEMAR S.A., Mar Bravo, Provincia de Santa Elena. Fuente: GOOGLE EARTH, 2015.**



**Fig. 9. Recuento de bacterias por diluciones seriadas tomado de (Urmeneta-Alonso, et al., 2000).**

## Anexo de fotografías



**Foto # 1. Observación al microscopio en lente 10 X de huevos fértiles de camarón blanco *L. vannamei*, a las 12 horas antes de la eclosión. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 2. Observación al microscopio en lente 10X de etapa Nauplio V de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 3. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea I de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 4. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea II de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 5.** Observación al microscopio en lente 4X de etapa Zoea III de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).



**Foto # 6.** Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis I de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).



**Foto # 7. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis II de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 8. Observación al microscopio en lente 4X de etapa Mysis III de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 9. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva I de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 10. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva II de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).**



Foto # 11. Observación al estereomicroscopio en lente 2X de etapa Postlarva III de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).



Foto # 12. Observación al microscopio en lente 40X de *Thalassiosira weissflogii*, destinada para alimentación de larvas de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).



Foto #13. Observación al microscopio en lente 10X de *Artemia salina*, destinada para alimentación de larvas de *L. vannamei*. (Viteri-Santana, 2015).



**Foto # 12. Tanques de muestreo en proceso de secado, Base Acuática. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 13. Tanques de muestreo en fase de llenado, Base Acuática. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 15. Medición de pH en los tanques de muestreo, con u pH-metro (pHep by HANNA).**



**Foto # 14. Medición de temperatura y oxígeno disuelto en los tanques de muestreo, con el equipo YSI (55 Dissolved oxygen).**



**Foto # 16. Medición de salinidad en los tanques de muestreo, con refractómetro (VEE GEE STX-3).**



**Foto # 17. Recolección muestras de Nauplios, primer día de siembra en los tanques de cultivo. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 18. Recolección de muestras de agua, larvas de camarón en los tanques de cultivo. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 19. Placas de agar y materiales listos para el proceso de siembra de bacterias, colocados en la cámara de flujo laminar. (Viteri-Santana, 2015).**



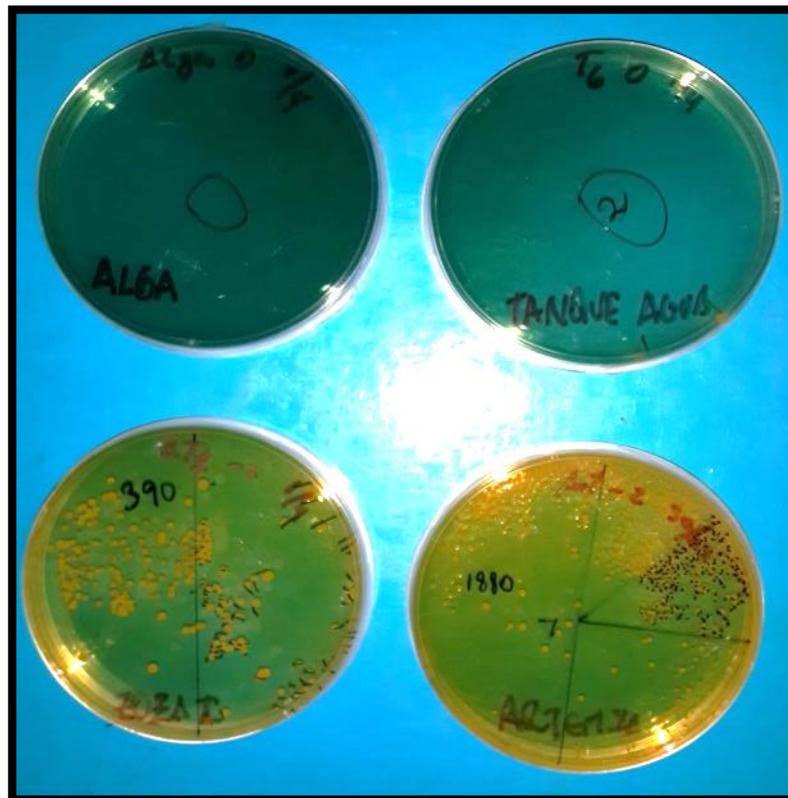
**Foto # 22. Proceso de siembra de bacteria por método de barrido por asa de vidrio. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 23. Proceso de secado por método de barrido por asa de vidrio. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 20. Realizando el conteo de Unidades Formadora de Colonia (UFC), de las placas de Agar Marino y Agar TCBS. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 21. Realizando el conteo de Unidades Formadora de Colonia (UFC), de las placas de Agar TCBS, en muestras de algas, tanques de agua, larvas y artemia. (Viteri-Santana, 2015).**



**Foto # 22. Proceso de incubación de 24 horas a 35°C de bacterias en agares selectivos y específicos.**