



**UNIVERSIDAD ESTATAL
“PENÍNSULA DE SANTA ELENA”
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA**

**“CARACTERIZACIÓN ESPACIO TEMPORAL DE LAS CARGAS
BACTERIANAS Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN LA ZONA
DE LARVICULTURA EN MAR BRAVO, ECUADOR.”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Previo a la obtención del Título de:

BIÓLOGO MARINO

AUTOR

KEVIN CHRISTOPHER NIETO MATAMOROS

TUTOR

ING. JIMMY VILLÓN MORENO, MSC.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2017

**UNIVERSIDAD ESTATAL
“PENÍNSULA DE SANTA ELENA”
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA**

“CARACTERIZACIÓN ESPACIO TEMPORAL DE LAS CARGAS
BACTERIANAS Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN LA ZONA
DE LARVICULTURA EN MAR BRAVO, ECUADOR.”

TRABAJO DE TITULACIÓN
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO MARINO

KEVIN CHRISTOPHER NIETO MATAMOROS

TUTOR

ING. JIMMY VILLÓN MORENO, MSC.

COTUTOR

ACUIC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, MSC

LA LIBERTAD – ECUADOR

2017

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por hechos, ideas y resultados expuestos en este trabajo de titulación, me corresponden exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma, a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Kevin Christopher Nieto Matamoros

CI. 0916789902

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por darme la vida para cumplir mis metas, la oportunidad de superarme y las valiosas amistades que forje en mi vida académica.

De igual forma a mis padres por todo el amor y la dedicación que me brindaron, a mi esposa por todo su devoción y a mi hijo por la alegría de cada día.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Blga. Dennis Tomalá S., M.Sc.

Decana

Blga. María Cornejo R., Ph.D.

Directora

Blgo. Daniel Ruilova, M.Sc.

Docente de área

Ing. Jimmy Villón M., M.Sc.

Tutor

Ab. Brenda Reyes Tomalá, Mgt.

Secretaria General

Caracterización espacio temporal de las cargas bacterianas y susceptibilidad antimicrobiana en la zona de larvicultura en Mar Bravo, Ecuador.

Temporary and Space characterization of bacterial loads & antimicrobial susceptibility in larviculture zone of Mar Bravo, Ecuador.

Kevin Christopher Nieto Matamoros¹, Jimmy Agustín Villón Moreno ¹, Sonny Patricia Mendoza Lombana²

¹Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE). Campus La Libertad, vía principal Santa Elena-La Libertad. Ecuador.

²Escuela Superior Politécnica del Litoral FCMBOR - ESPOL. Campus Gustavo Galindo, Guayas-Guayaquil. Ecuador

Corresponding author: kevin.nietomatamoros@upse.edu.ec¹

Resumen

El camarón blanco es un organismo de cultivo de importancia comercial, su producción está ligada a la proliferación de una serie de microorganismos que crecen en este caldo de cultivo, compuesto tanto por bacterias benéficas como patógenas, su presencia va a estar determinada por las características ambientales, así como su ingreso a través de los afluentes. En este estudio se analiza la composición de la microbiota mediante pruebas bioquímicas y su respuesta ante diversos antimicrobianos. Se recogieron 132 muestras distribuidas en 4 sitios de muestreos: mar, playa, descargas pre y post tratamiento, entre los meses de Septiembre, Noviembre del 2015 y Marzo del 2016 determinados como época seca, transición y húmeda respectivamente, las muestras fueron inoculadas en tres sustratos distintos: Agar TCBS, TSA y TSA ([5%] NaCl). En su identificación se aplicaron 20 pruebas bioquímicas, evaluando sus resultados con el programa STATISTICA; y posteriormente sometidos ante 8 antimicrobianos, evaluando los comportamientos de las cargas bacterianas con el uso los programas Minitab y QGIS. Como resultado la época de transición fue la de mayor carga bacteriana, seguido de la época húmeda y la época seca, registrándose 11 microorganismos, estando presentes durante las tres épocas muestreadas *Vibrio harveyi* y *V. damsela*; los tres microorganismos más relevantes (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*) presentaron resistencias en los sistemas de cultivo, tanto en aguas descargadas, pre y post tratamiento, mientras aquellas cepas bacterianas aisladas previamente del mar y playa no presentaron resistencia, sugiriendo así la probable adquisición de resistencia a partir de los tratamientos antibacterianos utilizados en los sistemas de cultivo.

Palabras Claves: Bioquímica bacteriana, cargas bacterianas, larvicultura, microbiología, susceptibilidad microbiana.

Abstract

The white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is an organism of commercial importance, its crop production is linked to the proliferation of a number of microorganisms that grow in this broth composed of both beneficial and pathogenic bacteria, and its presence will be determined by the characteristics of the environment as their income through affluents. This study analyzes the composition of the microbiota through biochemical tests and its response to various antimicrobials. A total of 132 samples were collected at 4 sites: sea, beach, pre and post-treatment sites between September, November 2015 and March 2016 determined as dry, transition and wet season, the samples were inoculated into three different substrates: TCBS, TSA and TSA ([5 %] NaCl). For its identification, 20 biochemical tests were applied and for evaluating the response used the STATISTICA program, and then subjected to 8 antimicrobials, evaluating the behavior of the bacterial loads with the combined use of the programs Minitab and QGIS. As a result the transition period was the highest bacterial load, followed by the wet season and finally the dry season, 11 microorganisms were recorded but the present ones during the three periods were *V. harveyi* and *V. Damsela*, the three main microorganism (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus*) presented resistance in the culture systems, both pre and post

treatment discharged waters, meanwhile the another bacterial strains previously got form sea and beach didn't present resistance, suggesting a probable acquisition of resistance in the culture systems through the antibacterial treatment used on it.

Keywords: Bacterial biochemistry, bacterial loads, larviculture, microbiology, microbial susceptibility.

1.-Introducción

En el Ecuador, dentro del listado de registro y aprobación por parte del Instituto Nacional de Pesca referente a los laboratorios destinados a la crianza de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) existen un total de 131 empresas a nivel nacional, en la Provincia de Santa Elena se hallan 91 laboratorios conformando el 69,5% del total registrado, no obstante dentro de los datos concedidos por la Subsecretaría de Acuicultura, a nivel provincial existe una nómina de 128 laboratorios destinados a la larvicultura, 45 se sitúan dentro del sector de Mar Bravo, conformando un porcentaje mayor que sin duda alguna consolida al sector de Mar Bravo como un sitio de relevancia dentro del cultivo de camarón blanco tanto a nivel provincial como nacional.

Los productos más comercializados de la acuicultura a nivel mundial en el 2014, fueron el camarón, el salmón y los moluscos; estos organismos obtenidos a partir de la acuicultura ascendieron a 73,8 millones de toneladas, lo que se estimó en un valor de primera venta de 160.200 millones de USD, de este valor 6,9 millones de toneladas corresponden al cultivo de crustáceos (36.200 millones de USD) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016). Para el Ecuador las exportaciones en el 2015, en relación al 2014, presentaron una disminución del 11.21% del valor FOB (Free on board), pasando de USD 2,599 millones a USD 2,308 millones, registrando un mayor volumen (aumento del 14.43%) a un precio menor en relación al año anterior. Respecto a las importaciones de productos y compras del sector acuícola se registró un decrecimiento, con un monto total de 156 toneladas y 157 mil USD, con una tasa negativa de 31.38% de crecimiento anual promedio del valor FOB. A nivel nacional la principal productora de camarón en fase de comercialización es la Provincia del Guayas que en el 2015 registró 138 mil hectáreas cultivadas (65.23% del total nacional), seguido por El Oro (con el 19.05%), Manabí (8.77%) y Esmeraldas (6.94%) (Instituto de promoción de exportaciones e inversiones, 2016).

Sin embargo, este tipo de productos de consumo no están libre de problemas, desde 1997 el Banco Mundial determinó que se perdió cerca de tres mil millones de dólares (USD) de productos provenientes de la acuicultura debido a las enfermedades (Subasinghe, 1997). Entre los años 1999 y 2000 en el Ecuador se registraron pérdidas que bordearon los 700 millones de dólares (USD) a causa del virus de la mancha blanca (WSSV). En la actualidad las patologías causan déficits de cientos de millones de dólares (USD), estimación basada en los precios fluctuantes y la falta de comunicación del sector productivo (FAO, 2016). Entre las enfermedades de carácter bacteriano en la larvicultura de camarones están Vibriosis sistémica (*V. alginolyticus*), erosión bacteriana del caparazón, Síndrome de Zoea II (*V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*), Enfermedad de luminiscencia, (NHP-B) Necrosis del hepatopáncreas bacteriana, causadas principalmente por organismos del género *Vibrios*, así como también Bacterias filamentosas (*Leucothrix mucor*) y de Espiroplasmosis (*Spiroplasma penaei*) (Cuellar *et al.*, 2014). En humanos *Vibrio parahaemolyticus*, y *V. harveyi* son los principales responsables de patologías como gastroenteritis, infecciones de heridas, septicemias primarias e incluso mortalidades vinculadas a estos cuadros clínicos (Hlady & Klontz, 1996).

Los *Vibrios* son ubicuos y abundantes en el medio ambiente acuático, una gran abundancia de estos organismos también se ha detectado en tejidos y/u órganos de diversas macroalgas y animales marinos, las 74 especies de este grupo se distribuyen entre cuatro familias diferentes: Enterovibrionaceae, Photobacteriaceae, Salinivibrionaceae, y Vibrionáceas (Thompson *et al.*, 2004). La distribución y dinámica del género *Vibrio* se ha visto influenciada por variaciones ambientales, (Asplund *et al.*, 2011) biodisponibilidad de ciertos nutrientes (Thompson & Polz, 2006) e incluso la prevalencia de organismos hospederos o predadores (Leano *et al.*, 1998). Estos microorganismos pueden poseer susceptibilidad a diversos tipos de antimicrobianos o en algunos casos resistencia, la cual puede estar influenciada por factores fenotípicos o por el intercambio plasmídico de una resistencia generada hacia determinado antibiótico, promoviendo de esta manera la resistencia por difusión (Batista & Ramalho, 2016). Los organismos denominados como patógenos han desarrollado rutas metabólicas específicas para transferir proteínas codificadas en su cromosoma a células eucariontes y se conocen como sistemas de secreción de proteínas; o expresiones fenotípicas como la bioluminiscencia, característica de algunos miembros de la familia Vibrionacea (Soto *et al.*, 2006).

En la acuicultura las pruebas de sensibilidad o antibiograma, se realizan con el objetivo de evaluar en laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antimicrobianos, traduciendo en una primera aproximación, siendo su resultado un factor predictivo de la eficacia. El antibiograma define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para

inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana (Frankel *et al.*, 2012). Las resistencias de los microorganismos, incluso en los que su sensibilidad se considera universal, hace necesaria su determinación mediante mecanismos de resistencia que hasta el momento no se han descrito (Cayre *et al.*, 2001). Por el momento no existe un método universal que reproduzca las condiciones en las que se encuentra un microorganismo produciendo una infección y, por tanto, la situación ideal en las que deben desarrollarse las pruebas de sensibilidad (Zhou *et al.*, 2012).

Respecto a la utilización de antibióticos en la larvicultura del camarón, solo existe un único antibiótico permitido y regularizado por la FDA (Food and Drug Administration) y la EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products), la Oxitetraciclina-HCL (Greenlees, 1997); pero se presume que existen laboratorios que usan antibióticos prohibidos, generando en algunos casos resistencias bacterianas que se convierten en un problema en los sistemas de producción (Santiago *et al.*, 2009). En países como México los antibióticos más utilizados para contrarrestar las enfermedades producidas por bacterias del género *Vibrio* son oxitetraciclina, florfenicol, ormetoprim - sulfametoxazol, sarafloxacin y enrofloxacin (Roque *et al.*, 2001). Alrededor del mundo, se emplean además antibióticos como clortetraciclina, quinolonas, ciprofloxacina, norfloxacina, ácido oxolínico, perfloxacina, sulfametazina, gentamicina y tiamulina.

2. Materiales y métodos.

2.1 Recolección de muestras.

El presente estudio se realizó en el sector de Mar Bravo, provincia de Santa Elena, Ecuador (505000m E.-9752000m S. UTM) (Fig. 1), considerado como una zona productiva de importancia para el sector camaronero, tomando en época seca (5 y 15 de Septiembre), época de transición (19 y 27 de Noviembre) y la época húmeda (8 y 23 de Marzo), un total ciento treinta y dos muestras de agua. Como referencia se establecieron puntos de muestreo cercanos a los cinco principales criaderos de camarón ubicados en la zona (Fig. 2). Tomando en cada salida de campo cinco muestras a 100 metros de distancia de la línea de costa y cinco muestras a 10 metros de distancia, frente a las empresas mencionadas anteriormente, además se tomó dos muestras en el punto más septentrional, situado a cien metros de la línea de la costa, a una distancia de trescientos metros entre ellos, y se establecieron en cada uno de los efluentes de las cinco empresas dos puntos de muestreo, uno previo al tratamiento del agua descargada y otro post tratamiento de la misma (Anexo 1). En cada uno de los puntos de muestreo se recogieron 100 ml de agua, colectados en frascos estériles y almacenados a 4° C.

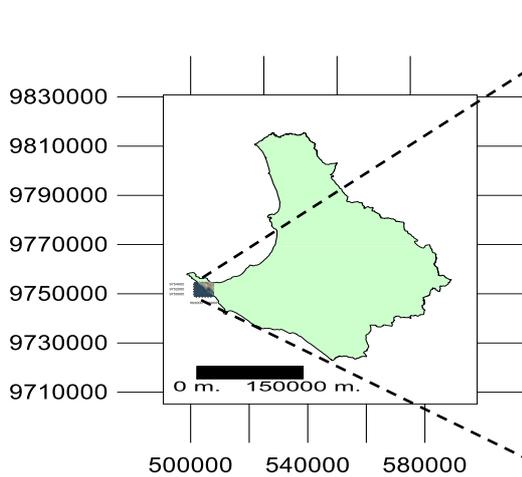


Figura 1. Mapa de ubicación de la zona de estudio dentro de la provincia de Santa Elena – Ecuador. Coordenadas UTM en límites izquierdo e inferior, Escala 1:150.000.



Figura 2. Mapa de ubicación de los puntos de estudio dentro de la zona de Mar Bravo - Santa Elena – Ecuador. Coordenadas UTM en límites izquierdo e inferior, Escala 1:3.000.

2.2 Aislamiento bacteriano; identificación y sensibilidad antimicrobiana.

Las muestras de agua recogidas se sembraron siguiendo el protocolo modificado de Cuellar & Morales (2008) usando placas en tres tipos de sustrato diferentes: agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), agar de Tripticasa soya (TSA) y agar TSA con cloruro de sodio (5%). En cada uno de estos sustratos se sembraron bajo tres diluciones seriadas 1:10; 1:100 y 1:1000 por triplicado e incubadas a 32° C durante 12 horas (Anexo 2), después de las cuales se estimaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml). Se aislaron las cepas que poseían características de los géneros *Pseudomonas*, *Aeromona*, *Photobacterium* y *Vibrio*, como la morfometría de la cepa y/o presencia de bioluminiscencia (Vezzulli *et al.*, 2010). Las cepas de cada fecha de muestreo fueron almacenadas para su posterior análisis a -80°C utilizando glicerol al 15% como crioprotector no iónico (Morrison, 1979).

Para caracterizar e identificar los diferentes géneros de bacterias se siguió el protocolo de Solís (1996) utilizando un total de 20 pruebas. Los principales géneros que se pudieron identificar utilizando estas pruebas fueron *Pseudomonas*, *Aeromona*, *Photobacterium* y *Vibrio* (Anexo 11). El género *Vibrio* se identificó hasta nivel específico utilizando el mismo protocolo anteriormente expuesto. Una vez realizadas las pruebas se analizaron los resultados por medio del método joining (tree clustering) del programa estadístico STATISICA - versión 8 (Alsina & Blanch, 1994) comparándolas con las descritas en el manual de Bergeys (Breed *et al.*, 1948). Este proceso tuvo un periodo de duración de 10 semanas.

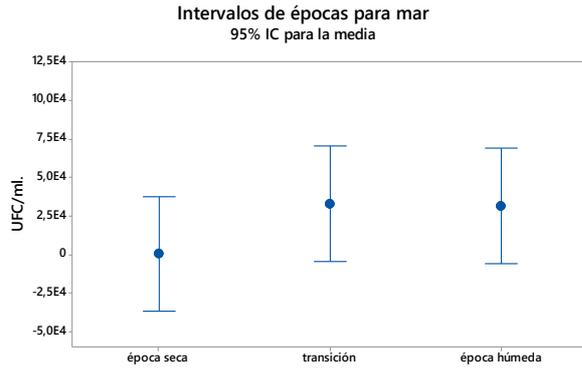
La sensibilidad antimicrobiana se midió utilizando el método de Bauer *et al.* (1962), recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Para ello se resembraron las cepas aisladas colocando discos de sensibilidad en la placa que permitieron medir el halo de inhibición en milímetros. Los resultados se establecieron como susceptible (≥ 60 mm), intermedio (14 – 59 mm) o resistente (≤ 13 mm) según lo establecido por Taroco *et al.* (2006), el proceso tuvo una duración de 6 semanas previo a la identificación bioquímica. Los antibióticos evaluados fueron Amoxicilina [30µg], Mycomicina [30µg], Kanamicina [30µg], Oxitetraciclina [30µg], Florfenicol [30µg], Norfloxacin [10µg], Ciprofloxacino [5µg] y Enrofloxacin [5µg].

Los datos obtenidos a partir de las UFC/ml se sometieron a pruebas mediante X-Barra, ANOVA y pruebas t de student determinando la inclusión de cada uno, dentro del intervalo de confianza al 95% con el programa Minitab Statistical Software (versión 17). Posteriormente, se analizaron los datos utilizando gráficas de contorno según la estacionalidad mediante el Sistema de Información Geográfica QGIS (version 2.8.9).

La presencia o ausencia de especies en relación al punto de colecta de muestra se compararon mediante gráficas radiales de relleno. Además, se determinó la influencia del crecimiento bacteriano con relación a la presencia de bioluminiscencia utilizando pruebas de regresión lineal junto con las gráficas de Series de Tiempo que ayudaron a comparar la presencia de bioluminiscencia en las áreas de muestreo. Finalmente, la sensibilidad de los microorganismos procedentes de las muestras marinas y los procedentes de los efluentes (pre y post tratamiento) se analizaron y compararon usando gráficas de barras.

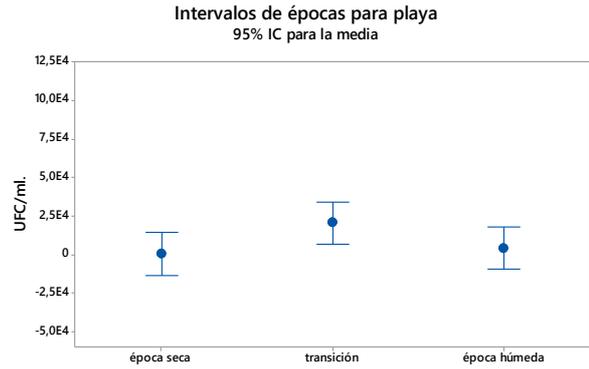
3. Resultados

El análisis ANOVA de las medias con un intervalo de confianza de 95%, tanto el mar ($p=0,378$)(Fig.3), la playa ($p=0,098$)(Fig.4) y agua de descargas (pre-tratamiento) ($p=0,094$)(Fig.5) reflejan concordancia de datos; mientras que las medias de las descargas tratadas ($p=0,006$) (Fig.8) resultaron significativamente diferentes en relación a la estacionalidad, los valores de estas medias fueron $0,5E^4$ para la época seca, $5,0E^4$ para la transición y $3,8E^4$ para la época húmeda.



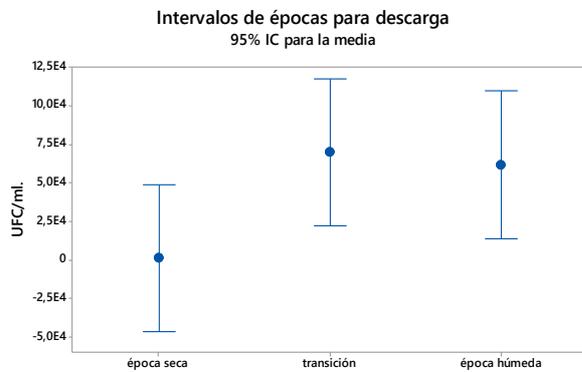
La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Figura 3. Prueba de ANOVA en gráfica de intervalos para muestras de agua de mar en relación a la estacionalidad, se presupuso igualdad de varianzas para el análisis con el 95% de confianza.



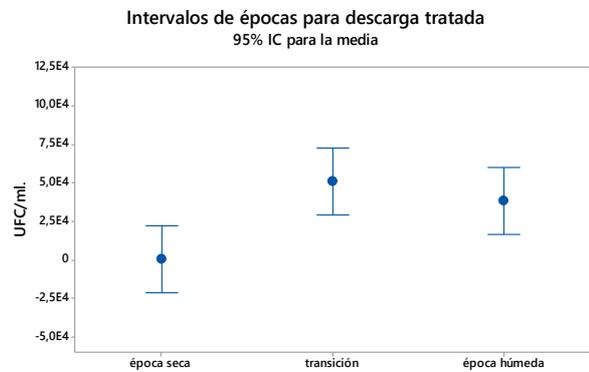
La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Figura 4. Prueba de ANOVA en gráfica de intervalos para muestras de agua de playa en relación a la estacionalidad, se presupuso igualdad de varianzas para el análisis con el 95% de confianza.



La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Figura 5. Prueba de ANOVA en gráfica de intervalos para muestras de agua de descargas (pre-tratamiento) en relación a la estacionalidad, se presupuso igualdad de varianzas para el análisis con el 95% de confianza.



La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Figura 6. Prueba de ANOVA en gráfica de intervalos para muestras de agua de descarga tratada en relación a la estacionalidad, se presupuso igualdad de varianzas para el análisis con el 95% de confianza.

Las comparaciones de las pruebas t con un intervalo de confianza de 95%, demuestran que no existe diferencia significativa entre las aguas de mar y de playa ($p=0,316$, $T=1,01$), la media para el mar es $2,1E^4$ y en la playa $0,8E^4$ (Fig.7); de igual manera el agua de descarga pre y post tratamiento ($p=0,367$, $T=0,91$) demuestra que no existe diferencia significativa entre ambos, la media para el agua de descarga pre-tratamiento es $4,4E^4$ y para post tratamiento $2,9E^4$ (Fig.8).

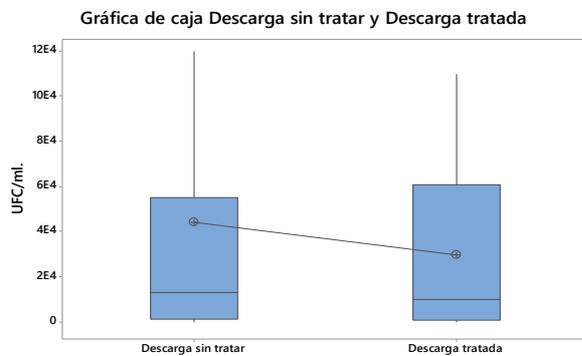


Figura 7. Prueba t en gráfica de caja con el 95% de confianza, línea diagonal representan las medias de las muestras.

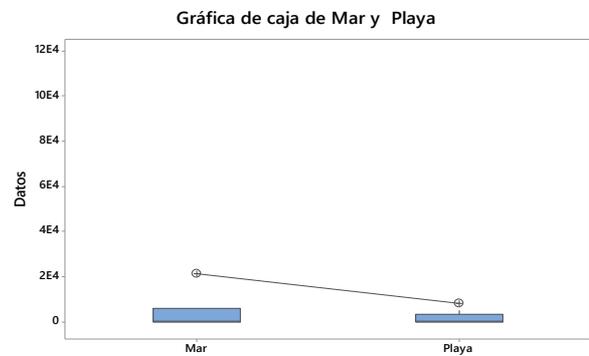


Figura 8. Prueba t en gráfica de caja con el 95% de confianza, línea diagonal representan las medias de las muestras.

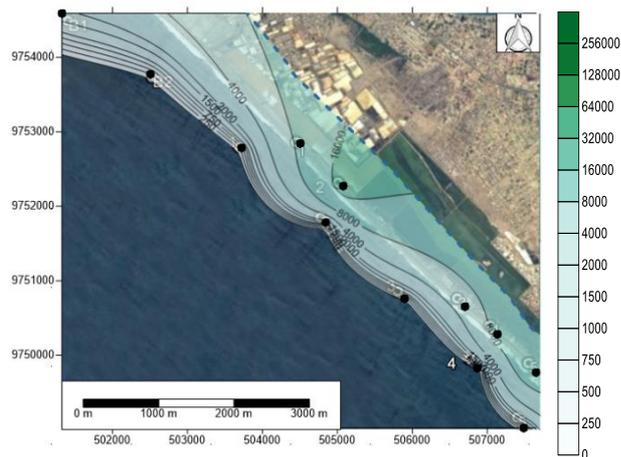


Figura 11. Gráfica de contorno de isolíneas con cargas bacterianas totales de la época Húmeda. Escala colorimétrica en posición derecha en relación a la gráfica. Coordenadas UTM en límites izquierdo e inferior, Escala 1:3.000.

No existe una relación significativa entre la presencia de cepas con bioluminiscencia en el medio marino (10 y 100 m.) con las procedentes de los efluentes (Anexo. 15), a pesar de que el mayor porcentaje se registró en la playa (8%). Tanto en el mar como en las aguas de descargas tratadas y sin tratar los porcentajes fueron más bajos (3%; 2%; 1% respectivamente). El análisis de regresión para bioluminiscencia en relación a las UFC/ml indica que no existe una relación directa entre ambos $p=0,307$ (Anexo. 16).

Se identificaron 13 microorganismos de dos géneros *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp), y *Vibrio* (*Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbelli*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. hollisae*, *V. marinus*, *V. nereis*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus* (I. y II.)). En el mar se registró la ausencia de *V. campbelli*, *V. hollisae*, *V. splendidus* (II.) (Fig. 12A); en la playa ausencia de *Pseudomonas* sp y *V. cholerae* (Fig. 12B), en las aguas de descargas en pre tratamiento solo se registró la presencia de *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus* (I. y II.) (Fig. 12C) y en las descargas post tratamiento se presentaron cepas de *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus* (I.) (Fig. 12D).

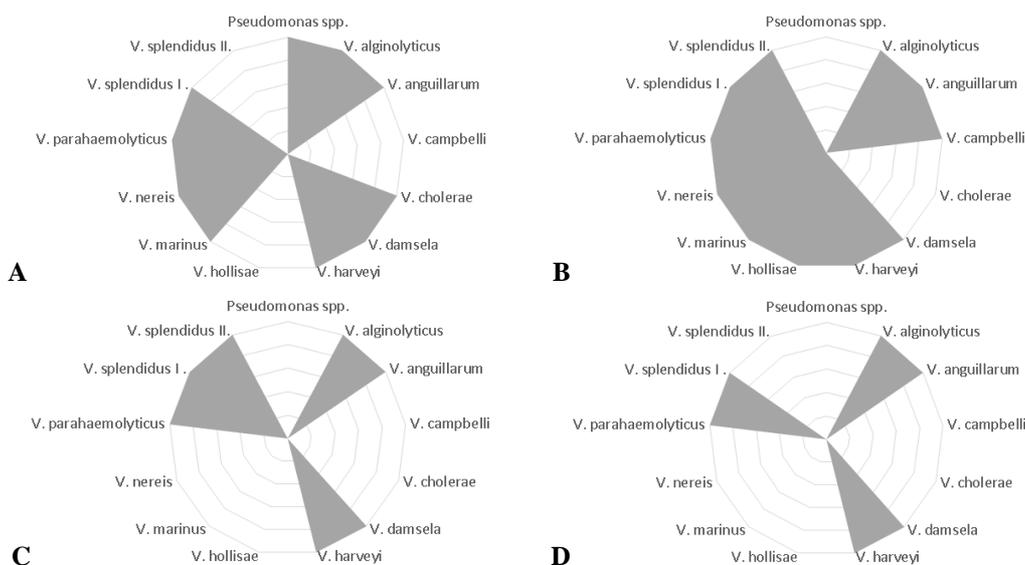


Figura 12. Gráficas radiales de relleno correspondiente a las zonas de muestreo. Ejes rellenos determinan la presencia de las especies para cada zona. A: Mar, B: Playa, C: Descarga, D: Descarga tratada.

Estacionalmente existió una variación en la composición de las especies presentes/ausentes, en la época seca se presentaron 7 de las 13 especies (*V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbelli*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*) (Tabla. 1), en la transición 8 especies (*Pseudomonas sp*, *V. alginolyticus*, *V. campbelli*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. marinus*, *V. parahaemolyticus*) (Tabla. 2), y en la época húmeda 8 especies (*V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. hollisae*, *V. marinus*, *V. nereis*, *V. splendidus I.*, *V. splendidus II.*) (Tabla.3).

Tabla 1. Microorganismos presentes durante la época seca. : Presencia de cepa.

Época seca	mar	playa	descarga	descarga tratada
<i>Pseudomonas sp</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. alginolyticus</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>V. anguillarum</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. campbelli</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. cholerae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. damsela</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>V. harveyi</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>V. hollisae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. marinus</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. nereis</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. parahaemolyticus</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>V. splendidus I.</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. splendidus II.</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tabla 2. Microorganismos presentes durante transición. : Presencia de cepa.

Transición	mar	playa	descarga	descarga tratada
<i>Pseudomonas sp</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. alginolyticus</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. anguillarum</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. campbelli</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. cholerae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. damsela</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. harveyi</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. hollisae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. marinus</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. nereis</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. parahaemolyticus</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>V. splendidus I.</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>V. splendidus II.</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tabla 3. Microorganismos presentes durante la época húmeda. : Presencia de cepa.

Época húmeda	mar	playa	descarga	descarga tratada
<i>Pseudomonas sp</i>				
<i>V. alginolyticus</i>				
<i>V. anguillarum</i>				
<i>V. campbelli</i>				
<i>V. cholerae</i>				
<i>V. damsela</i>				
<i>V. harveyi</i>				
<i>V. hollisae</i>				
<i>V. marinus</i>				
<i>V. nereis</i>				
<i>V. parahaemolyticus</i>				
<i>V. splendidus I.</i>				
<i>V. splendidus II.</i>				

Considerando su relevancia en el estudio las cepas de *V. alginolyticus*, *V. harveyi* y de *V. parahaemolyticus* presentaron resistencias en los diferentes sitios de muestreo, siendo *V. alginolyticus* susceptible a todos los antibióticos en el mar, resistente a la amoxicilina, mycomicina y oxitetraciclina en la playa, en la descarga pre-tratamiento registra resistencia a la amoxicilina y la mycomicina, mientras que se presenta una resistencia a los antibióticos parecida a la de playa pero con resistencia a la kanamicina (Tabla. 4), *V. harveyi* en el agua de mar resultó totalmente sensible a todos los antibióticos, en la playa presentó resistencia a la amoxicilina y la mycomicina, en el agua de descarga pre-tratamiento se generó una resistencia a la kanamicina y a la oxitetraciclina y en las aguas de descarga post-tratamiento no se observó la resistencia a la kanamicina pero si a los mismos antibióticos que las cepas de aguas pre-tratamiento (Tabla. 5); *V. parahaemolyticus* no presentó ninguna resistencia en la playa pero si en el agua de mar a la amoxicilina y a la oxitetraciclina, en aguas de descarga pre-tratamiento mostró una resistencia a los ocho antibióticos testados, pero en las aguas post-tratamiento se presentaron resistencias a la amoxicilina, kanamicina, mycominina y oxitetraciclina (Tabla. 6).

Tabla 4. Resistencias presentadas para *V. alginolyticus* ante los diversos antimicrobianos. : Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. alginolyticus</i>	Mar	2								
<i>V. alginolyticus</i>	Playa	6								
<i>V. alginolyticus</i>	Descarga	7								
<i>V. alginolyticus</i>	Descarga tratada	5								

Tabla 5. Resistencias presentadas para *V. harveyi* ante los diversos antimicrobianos. : Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. harveyi</i>	Mar	1								
<i>V. harveyi</i>	Playa	2								
<i>V. harveyi</i>	Descarga	2								
<i>V. harveyi</i>	Descarga tratada	2								

Tabla 6. Resistencias presentadas para *V. parahaemolyticus* ante los diversos antimicrobianos. : Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. parahaemolyticus</i>	Mar	5								
<i>V. parahaemolyticus</i>	Playa	7								
<i>V. parahaemolyticus</i>	Descarga	8								
<i>V. parahaemolyticus</i>	Descarga tratada	4								

4. Discusión

Los análisis realizados para determinar la variación de la carga bacteriana muestran dependencia del sitio de muestreo así como la época del año, asociando la variabilidad espacio temporal con las variaciones ambientales, como lo vinculan Veenstra *et al.* (1994) y Kelly (1982) a la biodisponibilidad de los nutrientes que son afectados por la temperatura y/o salinidad. Si bien la variación de las características del agua de manera estacional influyen en la distribución de los organismos, también las corrientes marinas, la batimetría y el perfil costanero (Simpson, 1994). Estas variaciones son determinantes de la presencia y ausencia de ciertas especies de Vibrios, registrando *V. damsela* y *V. harveyi* en todos los intervalos del estudio, mientras que en la India (Zarei *et al.*, 2012), *V. parahaemolyticus* se ha registrado todo el año pero con una prevalencia variable, junto con *V. alginolyticus* como una especie dominante, lo cual demuestra que todos los factores aunados influyen en la composición de la microbiota.

La utilización de métodos bioquímicos para la detección de especies nos ayudó a obtener resultados confiables en un lapso de tiempo similar entre la utilización de esta metodología versus pruebas moleculares (24-48 Horas) (Rodríguez *et al.*, 2009), estas pruebas moleculares poseen un porcentaje de confiabilidad superior, pero para la ejecución se requiere de personal altamente capacitado en el desarrollo de las pruebas de identificación, así como un equipamiento más avanzado para el diagnóstico lo cual eleva la inversión inicial y se desarrollan con procedimientos de múltiples etapas lo cual incrementa la posibilidad de errores, además de la posibilidad de obtener falsos positivos y falsos negativos (Ayala *et al.*, 2004). Si bien técnicas como el uso de microarreglos o microchips son altamente eficientes y confiables para la identificación de múltiples organismos de manera simultánea, son costosas tanto por los reactivos empleados como por el digitalizador de imágenes utilizado para escanear los microarreglos (Rapley, 2000). Por otro lado las pruebas bioquímicas poseen facilidad de manipulación permitiendo identificar un gran número de muestras por día y la utilización de reactivos para la identificación se realiza con volúmenes pequeños y por lo tanto requieren una menor inversión (Solís, 1996).

La exposición de las bacterias a antibióticos pueden desarrollar resistencias a otros tipos de antibióticos sin necesidad de una exposición previa lo cual demuestra la necesidad de realizar investigaciones acerca de los efectos nocivos potenciales en la salud humana (De Lorenzo *et al.*, 2014); el incremento de las densidades de los vibrios en el medio conllevan a un aumento en la densidad de la carga bacteriana en los crustáceos marinos destinados al consumo humano incrementando los patógenos potenciales ligados a enfermedades alimenticias e infecciones de heridas en humanos (De Lorenzo *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2009), y aunque estudios han demostrado que el uso de ciertos antibióticos disminuyen la densidad de vibrios en los medios de cultivos también generan resistencia a partir de la exposición a determinados antimicrobianos y/o compuestos (Rego *et al.*, 2012). Además la reducción de organismos patógenos mediante el uso de antibióticos en la acuicultura todavía es cuestionable, pero existen consideraciones en la salud humana y el ambiente relacionados a la residualidad de antibióticos en los tejidos de camarón y los efectos en ecosistemas acuáticos adyacentes que se deben tomar (Bermúdez & Espinosa, 2012), por estas razones es necesario considerar la interacción entre antimicrobianos, organismos acuáticos y las comunidades bacterianas asociadas y sus posibles efectos en el consumo humano. Dentro del trabajo se denotaron la presencia de resistencias ante diversos antibióticos como los casos de *Vibrio alginolyticus* (Lee & Wendy, 2012) y *Vibrio harveyi* (Jawahar *et al.*, 1997), hecho que le otorga un nivel patogénico importante, debido a que son los principales responsables de la vibriosis en camarón blanco (De La Peña *et al.*, 1993).

Se puede inferir en el hecho que las estaciones de tratamiento de aguas descargadas por los sistemas de larvicultura aun siendo reguladas bajo el Texto unificado de legislación secundaria del medio ambiente (MAE, 2003), son en cierta manera deficientes debido a que los sistemas de larvicultura poseen caudales muy variables como para tratarlos de manera correcta bajo las metodologías establecidas para estos sistemas de cultivo, generando una problemática ligada a las resistencias presentadas ante los antimicrobianos en el mar y la playa, probablemente estas son producto de genes de resistencia transferidos entre microorganismos del mismo género o especie (Abraham, 2006; Chandrakala *et al.*, 2014).

5. Conclusiones

Estacionalmente las muestras de descargas post-tratamiento presentan una diferencia representativa en relación a las demás zonas de muestreo; comparativamente entre las muestras de mar-playa y descarga pre-post tratamiento existe una clara convergencia de niveles de cargas bacterianas para cada análisis.

La época seca es la que posee la menor carga bacteriana, mientras que la transición registra la carga bacteriana más alta, y la época húmeda una carga bacteriana intermedia en relación a los otros intervalos analizados; sin embargo no existe un vínculo directo entre los niveles de cargas bacterianas y la presencia o ausencia de bioluminiscencia.

De todas las especies identificadas bioquímicamente, la que presentó resistencia total a los antibióticos testados fue *V. parahaemolyticus*, previo a someterse a un sistema de cultivo.

La microbiota presenta variaciones espacio-temporales, demostrando que existe una ausencia de ciertas especies en determinados lugares de muestreos y en distintas épocas del año.

6. Recomendaciones

Por las resistencias a los antimicrobianos encontradas en los microorganismos altamente patógenos como *V. alginolyticus*, *V. harveyi* y *V. parahaemolyticus*, es necesario profundizar en estudios de residualidad antibiótica en las aguas descargadas de los cultivos de camarón blanco, así como su efecto dentro de la macro y micro biota que se desarrolla posterior a los mismos.

7. Agradecimientos

A las autoridades de la Universidad Estatal Península de Santa Elena y a la Facultad de Ciencias del Mar por ser líderes en el proceso de formación académica de la juventud peninsular, a la empresa NOVAGESTION por su amable acogida y la valiosa participación en el estudio, a Sonnya Mendoza, Msc. por su inestimable ayuda en la recolección, análisis de muestras, co-tutorización y asesoramiento, a los Dres. Luis Felipe Freites, Daniel Ruilova y la Dra María Gregori, por su colaboración en la redacción de la investigación. A Joseph Villareal por su valiosa ayuda en el análisis de datos.

8. Bibliografía

- Abraham, T. (2006). Virulence of *Vibrio harveyi* possessing a transferable chloramphenicol resistance determinate to larvae of Indian whit shrimp *Fenneropenaeus indicus* (Decapoda). Indian Journal of Marine Science, 35: 275-278 pp.
- Alsina, M., & Blanch, A. (1994). A set of keys for identification of environmental *Vibrio* Species. Journal of Applied Bacteriology, 66: 57-64 pp.
- Asplund, M., Rehnstam-Holm, A., Atnur, V., Saravanan, V., Raghunath, P., Härnström, K., & Godhe, A. (2011). Water column dynamics of *Vibrio* in relation to phytoplankton community composition and environmental conditions in a tropical coastal area. Environmental Microbiology, 13: 2738-2751 pp.
- Ayala, L., Rodríguez, R., Aguilar, C., Lara, F. & Quero, A. (2004). Detección de *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* usando la reacción en cadena de la polimerasa. Revista Fitopatología Mexicana, 22: 239-245 pp.
- Batista, N., & Ramalho, L. (2016). Relação existente entre biofilmes bacterianos, quorum sensing, infecções e resistência a antibióticos: uma revisão bibliográfica. Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde, 3: 46-51.

- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J., & Turch, M. (1962). Antibiotic susceptibility testing by a standard disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496 pp.
- Bermúdez, M., & Espinosa, A. (2012). The use of antibiotics in shrimp farming. *The Use of Antibiotics in Shrimp Farming, Health and Environment in Aquaculture*, 1: 199–214 pp.
- Breed, R., Murray, G., & Hitchens, A. (1948). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: The William's and Wilkins Company. 1-8 pp.
- Cayre, M., Vignolo, G., & Garro, O. (2001). Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 1-4 pp.
- Chandrakala, N., Priya, S., & Ganesh, S. (2014). Antibiotic Sensitivity and MIC of *Vibrio* Species Isolated from diseased *Penaeus monodon*. *Indian Journal Of Applied Microbiology*, 17: 47-54 pp.
- Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa. (2016, Junio 26). Técnicas de Bacteriología, Análisis en Fresco, Calidad de Agua y Buenas Prácticas de Manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras. Retrieved from DocPlayer: <http://docplayer.es/10945454-Tecnicas-de-bacteriologia-analisis-en-fresco-calidad-de-agua-y-buenas-practicas-de-manejo-y-bioseguridad-en-granjas-camaroneras.html>. 1-114 pp.
- Costa, R., Vieira, G., Vieira, R., & Sampaio, S. (2009). *Vibrio* em amostras de água de viveiros de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. *Atlântica*, 31: 177-182 pp.
- Cuellar, J., Pantoja, C., Lightner, D., Lemos, A., Shinozaki, E., Vasconcelos, T., & García, O. (2014). Guía técnica de Patología e inmunología de camarones peneidos. Panamá: Vielka Morales Q. Jorge Cuéllar-Anjel. 1-274 pp.
- De La Peña, L., Tamaki, T., Momoyama, K., Nakai, T., & Muroga, K. (1993). Characteristics of the causative bacterium of vibriosis in the kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 115: 1-12 pp.
- De Lorenzo, M., Brooker, J., Chung, K., Kelly, M., Martinez J., & Moore J. (2014). Exposure of the Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio*, to antimicrobial compounds affects associated vibrio bacterial density and development of antibiotic resistance. *Environmental Toxicology*, 2: 1-9 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Roma, Italia: Editorial Group - FAO Information Division. 1-230 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016*. Roma: FAO. 1-200 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016, Agosto 12). GLOBEFISH - Analysis and information on world fish trade. Retrieved from FAO: <http://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/383163/>.
- Frankel, M., Bekö, G., Timm, M., Gustavsen, S., Hansen, E., & Madsen, A. (2012). Seasonal variation of indoor microbial exposures and their relations to temperature, relative humidity and air exchange rates. *Applied and environmental microbiology*, 23: 8289–8297 pp.
- Greenlees, K. (1997). Laboratory studies for the approval of aquaculture drugs. *The Progressive fish-culturist*, 59(2): 141-148 pp.
- Hlady, W., & Klontz, K. (1996). The Epidemiology of *Vibrio* Infections in Florida, 1981–1993. *The Journal Of Infectious Diseases*. (1996) , 173(5): 1176-1183 pp.
- Instituto de promoción de exportaciones e inversiones. (2016). *Perfil sectorial de Acuicultura*. Guayaquil: PRO ECUADOR. 1-19 pp.
- Instituto Geográfico Militar, 2012, Base Regional escala 1:150.000.

- Jawahar, A., Ranjith, M., Palaniappan, R., & Dhevendran, K. (1997). Pathogenicity and antibiotic sensitivity of luminous *Vibrio Harveyi* isolated from diseased Penaeid shrimp. *Aquaculture Tropical*, 12: pp. 1-8 pp.
- Kelly, M. (1982). Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckeia) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Applied Environmental Microbiology*, 44(4): 820-824 pp.
- Leano, E., Lavilla-Pitogo, C., & Paner, M. (1998). Bacterial flora in the hepatopancreas of pond reared *Penaeus monodon* juveniles with luminous Vibriosis. *Aquaculture*, 164: 367-374 pp.
- Lee, S., & Wendy, W. (2012). Characterization of *Vibrio alginolyticus* isolated from white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with emphasis on its antibiogram and heavy metal resistance pattern. *Veterinarski arhiv*, 82: 221-227 pp.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE) (2003). Texto unificado de legislación secundaria, Medio Ambiente, parte I, Decreto Ejecutivo 3516, Registro Oficial Suplemento 2 de 31-mar-2003. 1-319 pp.
- Morrison, D. (1979). Transformation and preservation of competent bacterial cells by freezing. *Methods Enzymol*, 68: 326-331 pp.
- Rapley, R. (2000). Recombinant DNA technology. *Molecular Biology and Biotechnology*, 4: 563 pp.
- Rego, M., Silva, E., Calazans, N., Vogeley, J., Nery, R., Soares, R., & Peixoto, S. (2012). Utilização de probiótico e antibiótico no cultivo de pós-larvas do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. *Atlântica*, 34: 137-143 pp.
- Rodríguez, R., Aguilar, C., Ayala, L., Rocha, J., Padilla, V., & Espinosa, T. (2009). Detección de microorganismos mediante métodos moleculares. *AQM 2009 Revista de Divulgación Científica*, 1: 108-135 pp.
- Roque, A., Molina, A., Bolán, M., & Gómez, B. (2001). In vitro susceptibility to 15 antibiotics of vibrios isolated from penaeid shrimps in Northwestern Mexico. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 383–387 pp.
- Santiago, M., Espinosa, A., & Bermúdez, M. (2009). Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 40: 22-32 pp.
- Solís, P. (1996). Miniaturización y simplificación de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias marinas asociadas al camarón (Tesis de Acuicultor, No publicada). Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral - Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias de Mar. Retrieved from <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/862>. 1-83 pp.
- Soto, R., Simoes, N., Roque, A., & Gómez, G. (2006). Pathogenicity and colonization of *Litopenaeus vannamei* larvae by luminescent vibrios. *Aquaculture*, 258: 109-115 pp.
- Subasinghe, R. (1997). Fish health and quarantine. Review of the State of World Aquaculture. Roma, Italia: FAO, Inland Water Resources and Aquaculture Service - Fishery Resources Division. 1-166 pp.
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. In *Temas de bacteriología y virología médica*. Montevideo, Uruguay: Oficina del Libro FEFMUR. 663-671 pp.
- The World Bank IBRD-IDA. (2016, Agosto 28). Banco Mundial. Retrieved from <http://datos.bancomundial.org>
- Thompson, J., & Polz, M. (2006). Dynamics of *Vibrio* Populations and Their Role in Environmental Nutrient Cycling. *The Biology of Vibrios*, (F. Thompson, B. Austin, & J. Swings, Eds.) Washington, DC: ASM Press. 190-203 pp.

- Thompson, M., Lida, T., & Swings, J. (2004). Biodiversity of *Vibrios*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 3: 403-431 pp.
- Veenstra, J., Rietra, P., Coster, J., Slaats, E., & Dirks, S. (1994). Seasonal variations in the occurrence of *Vibrio vulnificus* along the Dutch coast. *Epidemiology and Infection*, 112(2): 285-290 pp.
- Vezzulli, L., Previati, M., Pruzzo, C., Marchese, A., Bourne, D., & Cerrano, C. (2010). *Vibrio* infections triggering mass mortality events in a warming Mediterranean Sea. *Environmental microbiology*, 12(7): 2007-2019 pp.
- Zarei, M., Borujeni, P., Jamnejad, A., & Khezzadeh, M. (2012). Seasonal prevalence of *Vibrio* species in retail shrimps with an emphasis on *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control*, 25(1):107–109 pp.
- Zhou, J., Fang, W., Yang, X., Zhou, S., Hu, L., Li, X., & Xie, L. (2012). A nonluminescent and highly virulent *Vibrio harveyi* strain is associated with “bacterial white tail disease” of *Litopenaeus vannamei* shrimp. *PloS one*, 7(2): 29961-29963 pp.

ANEXOS

Objetivo General:

Caracterizar espacio temporalmente las cargas bacterianas vinculadas a los afluentes y efluentes de los sistemas productivos en la zona de estudio y su susceptibilidad.

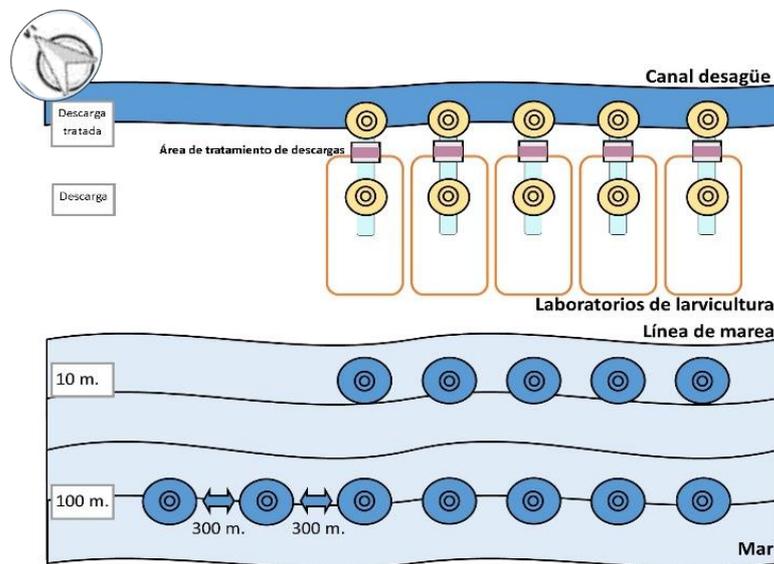
Objetivos Específicos:

- Cuantificar cargas bacterianas presentes en los cuerpos de agua.
- Identificar bioquímicamente las cepas bacterianas y su variación espacio-temporal.
- Evaluar sensibilidad antimicrobiana de las bacterias presentes en los cuerpos de agua.

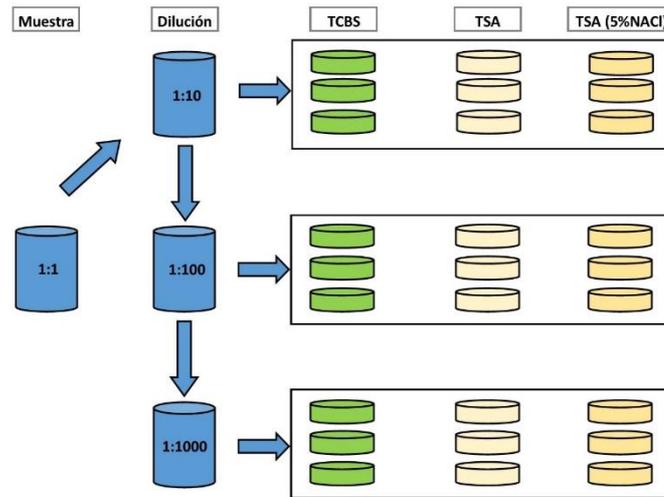
Hipótesis

Ho: La variación de la carga bacteriana es dependiente del sitio de muestreo y la época del año.

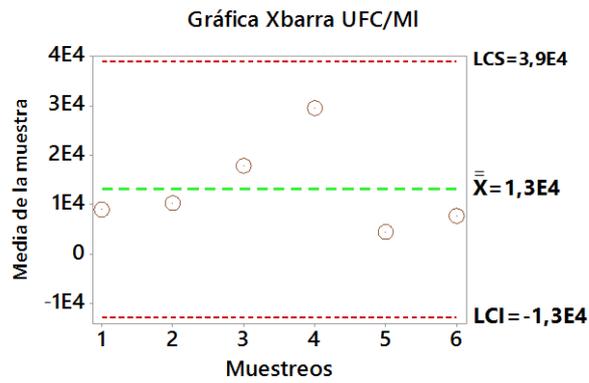
H1: La variación de la carga bacteriana es independiente del sitio de muestreo y/o época del año.



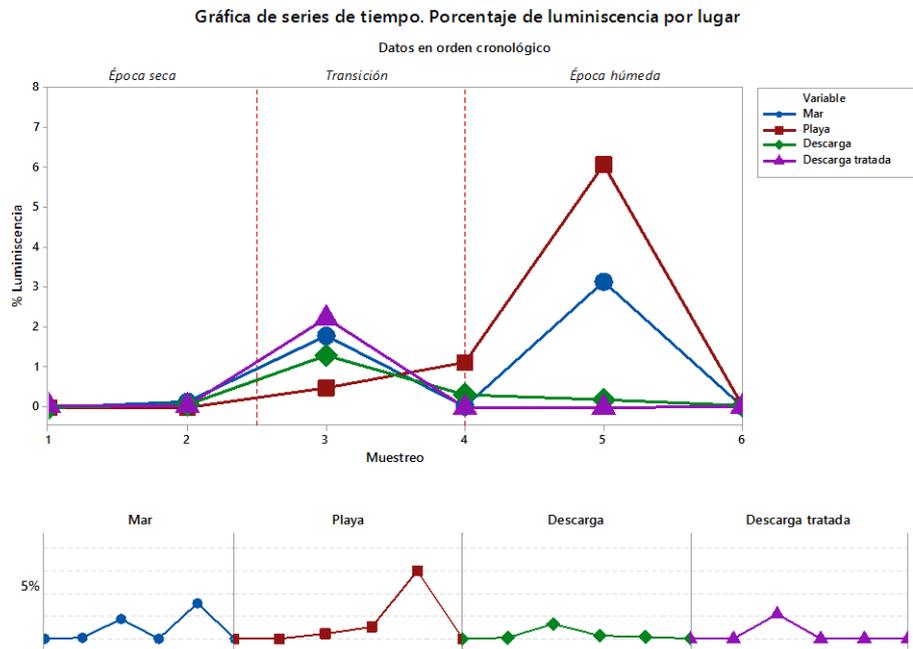
Anexo 1. Esquema de muestreo realizado, cada círculo representa un punto de muestreo definido, izq: ubicación de las zonas de muestreo (100m o mar, 10m o playa, descarga pre y post tratamiento), der: referencia de lugares para toma de muestra (Mar, línea de marea, laboratorios de larvicultura y canal de desagüe)



Anexo 2. Esquema de siembra microbiológica, izq a der: muestra representa el analito colectado, dilución: diluciones seriadas realizadas, TCBS, TSA y TSA(5%NaCl): agares testados con sus respectivos triplicados.



Anexo 3. Gráfica de Xbarra de los muestreos realizados. Der: LCS=Límite de Confianza Superior, LCI=Límite de Confianza Inferior, X=media de la muestra; izq: Unidades Formadoras de Colonia (UFC/ml); inf: muestreos realizados del 1 al 6.



Anexo 4. Porcentaje de Luminiscencia presente por lugar de muestreo promediado para los 6 muestreos. Izq: porcentajes del 0 al 100%, inf:muestreos realizados 1 al 6, sup: intervalos de análisis.

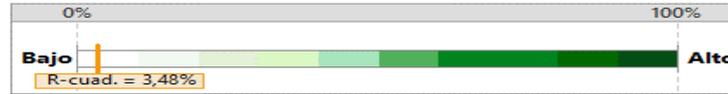
Y: UFC/MI
X: % LUMINISCENCIA

¿Existe una relación entre Y y X?



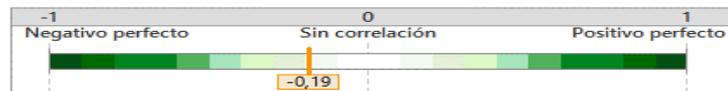
La relación entre UFC/MI y % DE LUMINISCENCIA no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

% de variación explicado por el modelo



El modelo de regresión puede explicar 3,48% de la variación en UFC/MI.

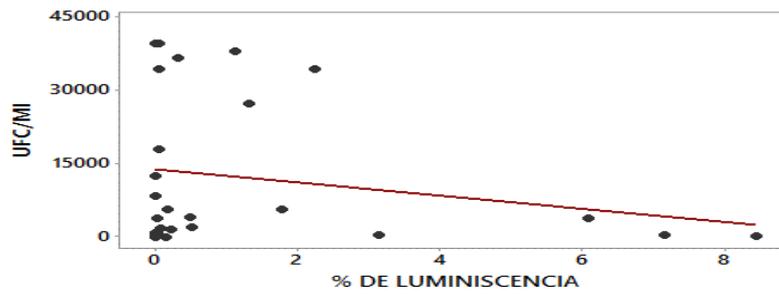
Correlación entre Y y X



La correlación entre UFC/MI y % DE LUMINISCENCIA no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Gráfica de línea ajustada para modelo lineal

$$Y = 13687 - 1341 X$$



Estadísticas	Modelo seleccionado lineal	Modelo alternativo Cuadrático
R-cuadrado (ajustado)	0,26%	0,00%
Valor p, modelo	0,307	0,383
Valor p, término lineal	0,307	0,522
Valor p, término cuadrático	—	0,349
Desviación estándar de los residuos	15563,014	15586,912

Anexo 5. Gráficas de correlación y regresión lineal, entre UFC/ml. y bioluminiscencia.

Anexo 1. Tabla base de respuesta ante análisis bioquímico, +: reacción positiva, -: reacción negativa, +/-: reacción intermedia (15-85% positivo) (modificado de Solís, 1996).

☐ Especies identificadas dentro del estudio

Reacción Organismos	0% CINA	OF (O)	OF(F)	Indol	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	Ornitina Descarboxilasa	Arginina Dihidrolasa	L-Arabinosa	Celobiosa	D-Manosa	D-Manitol	Sucrosa	D-Glucuronato	D-Gluconato	D-Galactosa
<i>Pseudomonas sp</i>	+	+	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-			
<i>Aeromonas sp</i>	+	+	+	+/-	+/-	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-			+
<i>Photobacterium sp</i>	-	+	+				-	+			+	-	+/-	+/-	+/-	+
<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	+	+	+	+	-	+/-	-	-	-	+/-	+	+	-	+	+/-
<i>Vibrio anguillarum</i>	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+/-
<i>Vibrio campbelli</i>	-	+	+	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-
<i>Vibrio cholerae</i>	+	+	+	+	+/-	+	+	-	-	-	+/-	+	+	-	-	+
<i>Vibrio damsela</i>	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Vibrio fischeri</i>	-	+	+	-	-	+/-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Vibrio fluvialis</i>	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+/-	+	+	+	+/-	+	+
<i>Vibrio fumissii</i>	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+/-	+	+	-	+	+
<i>Vibrio harveyi</i>	-	+	+	+	+/-	-	-	-	+/-	+	+	+	+/-	+	+	+/-
<i>Vibrio hollisae</i>	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-			+
<i>Vibrio logei</i>	-	+	+		-	-	-	-	-	+	+/-	+	-	-	+	+
<i>Vibrio marinus</i>	-	+	+		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Vibrio nereis</i>	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	+/-	-	+	+	-	+/-	+	+
<i>Vibrio pelagius</i>	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+/-	+	+/-	-	+	+
<i>Vibrio penaeicida</i>	-	+	+	+/-	-	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	+/-	-
<i>Vibrio splendidus I.</i>	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+/-	+	+/-	+
<i>Vibrio splendidus II.</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+/-	-	+	-	-	-	-
<i>Vibrio tubiashii</i>	-	+	+		-	+	-	+/-	-	+	+	+	+	-	+	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	-	+	+	+	-	+/-	+/-	-	-	+	+	+/-	-	+	+	+

Anexo 8. Resistencias presentadas para *V. marinus* ante los diversos antimicrobianos. ■: Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. marinus</i>	Mar	1								
<i>V. marinus</i>	Playa	1								
<i>V. marinus</i>	Descarga	1				■				
<i>V. marinus</i>	Descarga tratada	0								

Anexo 9. Resistencias presentadas para *V. nereis* ante los diversos antimicrobianos. ■: Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. nereis</i>	Mar	2								■
<i>V. nereis</i>	Playa	2	■							■
<i>V. nereis</i>	Descarga	0								
<i>V. nereis</i>	Descarga tratada	0								

Anexo 10. Resistencias presentadas para *V. splendidus I. y II* ante los diversos antimicrobianos. ■: Presencia positiva de resistencia.

Especie	Fuente	Cepas encontradas	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Enrofloxacina	Florfenicol	Kanamicina	Mycomicina	Norfloxacina	Oxitetraciclina
<i>V. splendidus I. y II.</i>	Mar	1								
<i>V. splendidus I. y II.</i>	Playa	3	■							■
<i>V. splendidus I. y II.</i>	Descarga	4	■			■				
<i>V. splendidus I. y II.</i>	Descarga tratada	1	■							

Anexo 11. Base de respuestas bioquímicas obtenidas para cada cepa.

cepas	0% ClNa	OF (O)	OF(F)	Indol	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	Ornitina Descarboxilasa	Arginina Dihidrolasa	L-Arabinosa	Celobiosa	D-Manosa	D-Manitol	Sucrosa	D-Glucuronato	D-Gluconato	D-Galactosa	especie	%compatibilidad
1.1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	69%
2.1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	69%
3.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	63%
4.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	63%
5.1	1	1	1	0	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
6.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	63%
7.1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	<i>V. campbelli</i>	56%
7A.1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	<i>V. campbelli</i>	56%
9 ^a .1	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
9.1	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
10.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
11.1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	<i>V. damsela</i>	69%
13.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. parahaemolyticus</i>	63%
14.1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	<i>V. damsela</i>	69%
15.1	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	63%
17.1	1	1	1	1	1	0	0	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. harveyi</i>	69%
1.2	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	0	<i>V. harveyi</i>	69%
2.2	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
3.2	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
4.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	2	0	0	0	<i>V. cholerae</i>	63%
5.2	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	2	<i>V. anguillarum</i>	82%
6.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
7.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
8.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
9.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
10.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	2	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	75%
11.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	2	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	63%

cepas	0% ClNa	OF (O)	OF(F)	Indol	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	Ornitina Descarboxilasa	Arginina Dihidrolasa	L-Arabinosa	Celobiosa	D-Manosa	D-Manitol	Sucrosa	D-Glucuronato	D-Gluconato	D-Galactosa	especie	%compatibilidad
12.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
14.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
15.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	63%
16.2	1	1	1	1	1	0	1	0	0	2	1	1	1	1	1	1	<i>V. alginolyticus</i>	56%
17.2	1	1	1	0	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0	<i>V. harveyi</i>	56%
18.2	1	1	1	0	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. harveyi</i>	69%
19.2	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. harveyi</i>	69%
1.3	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. damsela</i>	63%
2.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	2	1	0	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
3.3	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
4.3	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
5.3*	1	1	1	1	0		1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
5.3	1	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. marinus</i>	69%
6.3	1	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. marinus</i>	69%
7.3	1	0	0	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	<i>Pseudomonas sp</i>	50%
8.3	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
9.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	75%
10.3	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. damsela</i>	75%
11.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. parahaemolyticus</i>	63%
12.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
13.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
14.3	1	1	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
15.3	1	1	1	0	1	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	<i>V. campbelli</i>	75%
16.3	1	1	1	0	1	0	0	1	0	2	1	0	2	0	0	0	<i>V. damsela</i>	75%
17.3	1	1	1	1	0	2	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
18.3	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
1.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
3.4	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%

cepas	0% CINA	OF (O)	OF(F)	Indol	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	Ornitina Descarboxilasa	Arginina Dihidrolasa	L-Arabinosa	Celobiosa	D-Manosa	D-Manitol	Sucrosa	D-Glucuronato	D-Gluconato	D-Galactosa	especie	%compatibilidad
4.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
5.4	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	63%
6.4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	69%
7.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. parahaemolyticus</i>	69%
8.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	2	2	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	69%
10.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	1	1	1	1	0	<i>V. harveyi</i>	69%
11.4	1	1	1	1	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	69%
12.4	1	1	1	0	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	1	0	<i>V. alginolyticus</i>	69%
1.5	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. splendidus</i> I.	81%
3.5	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	<i>V. splendidus</i> I.	81%
4.5	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. damsela</i>	69%
6.5	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	<i>V. splendidus</i> I.	75%
7.5	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	<i>V. hollisae</i>	81%
8.5	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	<i>V. splendidus</i> I.	69%
9.5	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. damsela</i>	75%
11.5	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	<i>V. splendidus</i> I.	81%
12.5	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	<i>V. splendidus</i> 11.	69%
13.5	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	<i>V. nereis</i>	69%
15.5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. nereis</i>	69%
1.6	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	<i>V. splendidus</i> 11.	69%
2.6	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	<i>V. harveyi</i>	75%
3.6	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	<i>V. anguillarum</i>	75%
4.6	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	<i>V. nereis</i>	75%
5.6	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	<i>V. splendidus</i> 11.	75%
5A.6	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	<i>V. marinus</i>	75%
6.6	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	<i>V. splendidus</i> I.	81%
8.6	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	<i>V. anguillarum</i>	69%
9.6	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	<i>V. nereis</i>	69%

cepas	0% ClNa	OF (O)	OF(F)	Indol	Voges-Proskauer	Citrato Simmons	Ornitina Descarboxilasa	Arginina Dihidrolasa	L-Arabinosa	Celobiosa	D-Manosa	D-Manitol	Sucrosa	D-Glucuronato	D-Gluconato	D-Galactosa	especie	%compatibilidad
11.6	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	<i>V. anguillarum</i>	81%
12.6	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	<i>V. anguillarum</i>	75%
15.6	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>V. damsela</i>	69%

cepas	Especie	fuelle	amoxicilina	ciprofloxacina	enrofloxacina	florfenicol	kanamicina	mycomicina	norfloxacina	oxitetraciclina
11~4	<i>V. alginolyticus</i>	playa	+							
11~5	<i>V. splendidus I.</i>	mar								
11~6	<i>V. anguillarum</i>	mar								
12~2	<i>V. alginolyticus</i>	descarga	+					+		
12~3	<i>V. parahaemolyticus</i>	descarga								
12~4	<i>V. alginolyticus</i>	descarga								
12~5	<i>V. splendidus II.</i>	descarga	+							
12~6	<i>V. anguillarum</i>	playa	+							
13~1	<i>V. parahaemolyticus</i>	playa								
13~3	<i>V. parahaemolyticus</i>	mar								
13~5	<i>V. nereis</i>	playa	+							
14~1	<i>V. damsela</i>	descarga tratada								
14~2	<i>V. alginolyticus</i>	descarga	+					+		
14~3	<i>V. parahaemolyticus</i>	mar								
15~1	<i>V. alginolyticus</i>	descarga tratada	+				+	+		
15~2	<i>V. alginolyticus</i>	descarga	+					+		
15~3	<i>V. campbelli</i>	playa								
15~5	<i>V. nereis</i>	mar								
15~6	<i>V. damsela</i>	mar	+							
16~2	<i>V. alginolyticus</i>	descarga	+					+		
16~3	<i>V. damsela</i>	playa								
17~1	<i>V. harveyi</i>	descarga	+				+	+		+
17~2	<i>V. harveyi</i>	descarga	+					+		+
17~3	<i>V. parahaemolyticus</i>	playa								
18~2	<i>V. harveyi</i>	descarga tratada	+					+		+
18~3	<i>V. parahaemolyticus</i>	mar	+							+
19~2	<i>V. harveyi</i>	descarga tratada	+					+		

Anexo 13. Ubicación de los sitios de muestreo. Coordenadas en UTM

Punto	Latitud	Longitud
1	507652.23	9749767.33
2	507139.56	9750282.32
3	506700.94	9750656.82
4	505081.74	9752275.73
5	504510.23	9752846.97
Mar 1	501324.85	9754593.21
Mar 2	502510.04	9753777.36
Mar 3	503726.56	9752779.90
Mar 4	504843.55	9751786.08
Mar 5	505894.04	9750753.79
Mar 6	506864.57	9749830.04
Mar 7	507486.86	9749025.56

Anexo 14. Tabla base de carga bacteriana promedio y porcentaje de luminiscencia, según fecha y sitio de muestreo. Coordenadas en UTM.

Fecha	Códigos	Lugar	Latitud	Longitud	UFC/MI	% De Luminiscencia
05/09/2015	1AD	Descarga	505081,74	9752275,73	422	0%
05/09/2015	1GD	Descarga	504510,23	9752846,97	1585	0%
05/09/2015	1MD	Descarga	507139,56	9750282,32	100	0%
05/09/2015	1ND	Descarga	507652,23	9749767,33	640	0%
05/09/2015	1OD	Descarga	506700,94	9750656,82	1675	0%
05/09/2015	1M1	Mar	501324,85	9754593,21	1600	0%
05/09/2015	1M2	Mar	502510,04	9753777,36	3	0%
05/09/2015	1M3	Mar	503726,56	9752779,9	0	0%
05/09/2015	1M4	Mar	504843,55	9751786,08	0	0%
05/09/2015	1M5	Mar	505894,04	9750753,79	455	0%
05/09/2015	1M6	Mar	506864,57	9749830,04	45	0%
05/09/2015	1M7	Mar	507486,86	9749025,56	420	0%
05/09/2015	1AP	Playa	505081,74	9752275,73	2500	0%
05/09/2015	1GP	Playa	504510,23	9752846,97	0	0%
05/09/2015	1MP	Playa	507139,56	9750282,32	567	0%
05/09/2015	1NP	Playa	507652,23	9749767,33	2	0%
05/09/2015	1OP	Playa	506700,94	9750656,82	209	0%
15/09/2015	2AD	Descarga	505081,74	9752275,73	735	0%
15/09/2015	2GD	Descarga	504510,23	9752846,97	2055	0%
15/09/2015	2MD	Descarga	507139,56	9750282,32	1825	0%
15/09/2015	2ND	Descarga	507652,23	9749767,33	840	0%
15/09/2015	2OD	Descarga	506700,94	9750656,82	3613	0%
15/09/2015	2M1	Mar	501324,85	9754593,21	0	0%
15/09/2015	2M2	Mar	502510,04	9753777,36	30	1%
15/09/2015	2M3	Mar	503726,56	9752779,9	0	0%
15/09/2015	2M4	Mar	504843,55	9751786,08	0	0%
15/09/2015	2M5	Mar	505894,04	9750753,79	0	0%
15/09/2015	2M6	Mar	506864,57	9749830,04	0	0%
15/09/2015	2M7	Mar	507486,86	9749025,56	2	0%
15/09/2015	2AP	Playa	505081,74	9752275,73	570	0%
15/09/2015	2GP	Playa	504510,23	9752846,97	117	0%
15/09/2015	2MP	Playa	507139,56	9750282,32	85	0%
15/09/2015	2NP	Playa	507652,23	9749767,33	157	0%
15/09/2015	2OP	Playa	506700,94	9750656,82	18	0%

Fecha	Códigos	Lugar	Latitud	Longitud	UFC/MI	% De Luminiscencia
19/11/2015	3AD	descarga	505081,74	9752275,73	27411	0
19/11/2015	3ADT	Descarga Tratada	505081,74	9752275,73	23246	0
19/11/2015	3AP	playa	505081,74	9752275,73	766	0
19/11/2015	3GD	descarga	504510,23	9752846,97	11278	0
19/11/2015	3GDT	Descarga Tratada	504510,23	9752846,97	32922	0
19/11/2015	3GP	playa	504510,23	9752846,97	2584	0
19/11/2015	3M1	Mar	501324,85	9754593,21	18478	0
19/11/2015	3M2	Mar	502510,04	9753777,36	6457	0
19/11/2015	3M3	Mar	503726,56	9752779,9	9556	0
19/11/2015	3M4	Mar	504843,55	9751786,08	10	0
19/11/2015	3M5	Mar	505894,04	9750753,79	651	0
19/11/2015	3M6	Mar	506864,57	9749830,04	1149	0
19/11/2015	3M7	Mar	507486,86	9749025,56	2679	0
19/11/2015	3MD	descarga	507139,56	9750282,32	38056	0
19/11/2015	3MDT	Descarga Tratada	507139,56	9750282,32	14529	0
19/11/2015	3MP	playa	507139,56	9750282,32	0	0
19/11/2015	3ND	descarga	507652,23	9749767,33	9001	0
19/11/2015	3NDT	Descarga Tratada	507652,23	9749767,33	18532	0
19/11/2015	3NP	playa	507652,23	9749767,33	16057	0
19/11/2015	3OD	descarga	506700,94	9750656,82	49870	0
19/11/2015	3ODT	Descarga Tratada	506700,94	9750656,82	82344	0
19/11/2015	3OP	playa	506700,94	9750656,82	908	0
27/11/2015	4AD	Descarga	505081,74	9752275,73	75050	0%
27/11/2015	4ADT	Descarga Tratada	505081,74	9752275,73	95333	0%
27/11/2015	4AP	Playa	505081,74	9752275,73	6589	0%
27/11/2015	4GD	Descarga	504510,23	9752846,97	49411	0%
27/11/2015	4GDT	Descarga Tratada	504510,23	9752846,97	53444	0%
27/11/2015	4GP	Playa	504510,23	9752846,97	1000	0%
27/11/2015	4M1	Mar	501324,85	9754593,21	438	0%
27/11/2015	4M2	Mar	502510,04	9753777,36	354	0%
27/11/2015	4M3	Mar	503726,56	9752779,9	1300	0%

Fecha	Códigos	Lugar	Latitud	Longitud	UFC/MI	% De Luminiscencia
27/11/2015	4M4	Mar	504843,55	9751786,08	672	0%
27/11/2015	4M5	Mar	505894,04	9750753,79	164	0%
27/11/2015	4M6	Mar	506864,57	9749830,04	49	0%
27/11/2015	4M7	Mar	507486,86	9749025,56	20317	0%
27/11/2015	4MD	Descarga	507139,56	9750282,32	14951	2%
27/11/2015	4MDT	Descarga Tratada	507139,56	9750282,32	1778	0%
27/11/2015	4MP	Playa	507139,56	9750282,32	89200	6%
27/11/2015	4ND	Descarga	507652,23	9749767,33	5783	0%
27/11/2015	4NDT	Descarga Tratada	507652,23	9749767,33	4000	0%
27/11/2015	4NP	Playa	507652,23	9749767,33	478	0%
27/11/2015	4OD	Descarga	506700,94	9750656,82	14044	0%
27/11/2015	4ODT	Descarga Tratada	506700,94	9750656,82	26396	0%
27/11/2015	4OP	Playa	506700,94	9750656,82	47622	0%
08/03/2016	5AD	Descarga	505081,74	9752275,73	9588	1%
08/03/2016	5ADT	Descarga Tratada	505081,74	9752275,73	12533	0%
08/03/2016	5AP	Playa	505081,74	9752275,73	2273	3%
08/03/2016	5GD	Descarga	504510,23	9752846,97	8172	0%
08/03/2016	5GDT	Descarga Tratada	504510,23	9752846,97	9242	0%
08/03/2016	5GP	Playa	504510,23	9752846,97	6972	2%
08/03/2016	5M1	Mar	501324,85	9754593,21	468	14%
08/03/2016	5M2	Mar	502510,04	9753777,36	283	8%
08/03/2016	5M3	Mar	503726,56	9752779,9	123	0%
08/03/2016	5M4	Mar	504843,55	9751786,08	323	0%
08/03/2016	5M5	Mar	505894,04	9750753,79	123	0%
08/03/2016	5M6	Mar	506864,57	9749830,04	122	0%
08/03/2016	5M7	Mar	507486,86	9749025,56	285	0%
08/03/2016	5MD	Descarga	507139,56	9750282,32	33	0%
08/03/2016	5MDT	Descarga Tratada	507139,56	9750282,32	4910	0%
08/03/2016	5MP	Playa	507139,56	9750282,32	1848	2%
08/03/2016	5ND	Descarga	507481,34	9749938,99	3578	0%
08/03/2016	5NDT	Descarga Tratada	507652,23	9749767,33	10083	0%

Fecha	Códigos	Lugar	Latitud	Longitud	UFC/MI	% De Luminiscencia
08/03/2016	5NP	Playa	507652,23	9749767,33	1125	22%
08/03/2016	5OD	Descarga	506700,94	9750656,82	6300	0%
08/03/2016	5ODT	Descarga Tratada	506700,94	9750656,82	5002	0%
08/03/2016	5OP	Playa	506700,94	9750656,82	6787	2%
23/03/2016	6AD	Descarga	505081,74	9752275,73	27944	0%
23/03/2016	6ADT	Descarga Tratada	505081,74	9752275,73	27700	0%
23/03/2016	6AP	Playa	505081,74	9752275,73	314	0%
23/03/2016	6GD	Descarga	504510,23	9752846,97	9789	0%
23/03/2016	6GDT	Descarga Tratada	504510,23	9752846,97	5264	0%
23/03/2016	6GP	Playa	504510,23	9752846,97	420	0%
23/03/2016	6M1	Mar	501324,85	9754593,21	2873	0%
23/03/2016	6M2	Mar	502510,04	9753777,36	180	0%
23/03/2016	6M3	Mar	503726,56	9752779,9	753	0%
23/03/2016	6M4	Mar	504843,55	9751786,08	1108	0%
23/03/2016	6M5	Mar	505894,04	9750753,79	132	0%
23/03/2016	6M6	Mar	506864,57	9749830,04	231	0%
23/03/2016	6M7	Mar	507486,86	9749025,56	605	0%
23/03/2016	6MD	Descarga	507139,56	9750282,32	18028	0%
23/03/2016	6MDT	Descarga Tratada	507139,56	9750282,32	7822	0%
23/03/2016	6MP	Playa	507139,56	9750282,32	187	0%
23/03/2016	6ND	Descarga	507652,23	9749767,33	19430	0%
23/03/2016	6NDT	Descarga Tratada	507652,23	9749767,33	11756	0%
23/03/2016	6NP	Playa	507652,23	9749767,33	23	0%
23/03/2016	6OD	Descarga	506700,94	9750656,82	4589	0%
23/03/2016	6ODT	Descarga Tratada	506700,94	9750656,82	2200	0%
23/03/2016	6OP	Playa	506700,94	9750656,82	156	0%