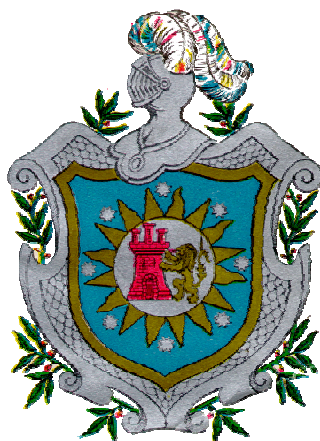




Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. UNAN-León  
Facultad de Ciencias y Tecnología.  
Departamento de Biología.  
Ingeniería Acuícola



**Tesis para optar al título de Ingeniero Acuícola.**

**Título:**

Efecto del probiótico 3W vs al ataque de vibriosis (*Vibrión parahemolítico* y *Vibrión alginolítico*) en cultivo de camarones *Litopenaeus vannamei*, en condiciones experimentales en la Isla Santa Lucía, las Peñitas.

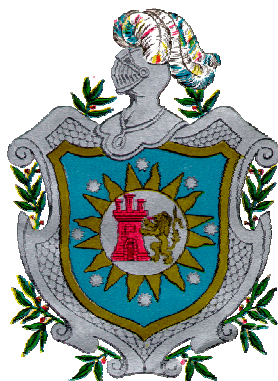
Presentado por:

- Br. Darwin Francisco Rivera Saavedra.
- Br. Maryuri Odili Ríos Canales.

León, Noviembre 2010



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. UNAN-León  
Facultad de Ciencias y Tecnología.  
Departamento de Biología.  
Ingeniería Acuícola



**Tesis para optar al título de Ingeniero Acuícola.**

**Título:**

Efecto del probiótico 3W vs al ataque de vibriosis (*Vibrión parahemolítico* y *Vibrión alginolítico*) en cultivo de camarones *Litopenaeus vannamei*, en condiciones experimentales en la Isla Santa Lucía, las Peñitas.

Presentado por:

- Br. Darwin Francisco Rivera Saavedra.
- Br. Maryuri Odili Ríos Canales.

Tutor:

Lic. Claudia Herrera Sirias.

León, Noviembre 2010



## ÍNDICE.

<b>RESUMEN</b> -----	<b>I</b>
<b>DEDICATORIA</b> -----	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> -----	<b>III</b>
<b>I INTRODUCCIÓN</b> -----	<b>1</b>
<b>II OBJETIVOS</b> -----	<b>3</b>
2.1 Objetivo General-----	3
2.2 Objetivos Específicos-----	3
<b>III LITERATURA REVIADA</b> -----	<b>4</b>
3.1 Descripción del <i>Litopenaeus vannamei</i> -----	4
3.1.1 Ciclo biológico-----	4
3.1.2 Clasificación Taxonómica de <i>Litopenaeus</i> -----	6
3.2 Sistemas de Cultivo-----	6
3.2.1 Sistema extensivo-----	6
3.2.1.1 Sistema semi-intensivo-----	7
3.2.1.1.1 Sistema intensivo-----	7
3.3 Manejo del Cultivo-----	7
3.3.1 Calidad de Agua-----	7
3.3.1.1 Factores Físico-químicos-----	8
3.3.1.1.1 Oxígeno Disuelto-----	8
3.3.1.1.1.1 Aireación-----	8
3.3.1.1.1.2 Efectos del oxígeno disuelto en el camarón-----	9



3.1.1.1.3 Temperatura-----	9
3.1.1.1.4 Salinidad-----	10
3.1.1.1.5 pH-----	11
3.1.1.1.6 Aclimatacion _____	14
3.2 Enfermedades-----	15
3.2.1 Enfermedades Bacterianas-----	15
3.2.1.1 La enfermedad de la Vibriosis-----	16
3.2.1.1.1 Vibriosis durante la engorda-----	16
3.2.1.1.2 Patogenicidad del Vibrio-----	17
3.2.1.1.3 Signos de la Enfermedad-----	17
3.2.2 <i>Vibrion parahemolítico</i> -----	18
3.2.2.1 Descripción del <i>Vibrio parahemolítico</i> -----	19
3.2.3 <i>Vibrion alginolítico</i> -----	19
3.3 Probióticos-----	20
3.3.1 ¿Qué son probióticos?-----	20
3.3.2.1 Características principales-----	21
3.3.2.1.1 Tipos de probióticos, principales géneros-----	21
3.3.3 Modo de acción-----	22
3.3.3.1 Producción de Compuestos inhibidores-----	22
3.3.3.2 Competencia por químicos o energía disponible-----	22
3.3.3.3 Competencia por sitios de fijación-----	23
3.3.3.4 Ventajas-----	23
3.3.3.5 Probiótico 3W-----	23
3.3.3.6 Producción de Probiótico-----	24



3.3.3.7 Insumos Utilizados-----	24
3.3.3.8 Proceso de Activación-----	25
3.3.3.9 Duración del proceso-----	25
3.3.4 Valoración Física y Microbiológica-----	25
3.3.4.1 Proceso de Replicación-----	26
3.3.4.1.1 Formulación-----	26
3.3.4.2 Duración del Proceso-----	27
3.3.4.3 Criterios Para Replicar el probiótico-----	27
3.3.4.4 Intención de Uso de Probiótico en las Granjas-----	27
3.3.4.5 Tratamiento del Agua-----	27
3.3.4.6 Tratamiento en camarón-----	27
3.3.4.7 Camarones Sanos-----	27
3.3.4.8 Camarones Enfermos-----	27
3.3.4.9 Beneficios Esperados-----	28
3.3.5 Recomendaciones-----	28
3.3.5.1 Tiempo de vida media del Probiótico-----	29
3.3.5.2 Nutrición-----	29
<b>IV MATERIALES Y MÉTODOS-----</b>	<b>31</b>
4.1 Área de Estudio-----	31
4.2 Montaje del experimento-----	31
4.3 Proceso de Siembra-----	32
4.4 Descripción del Método de Trabajo-----	33
4.5 Procedimiento para la preparación del probiótico 3W-----	34
4.5.1 Infestación con Vibrión-----	35



4.5.2 Aplicación del probiótico-----	35
4.5.3 Examen Bacteriológico.-----	35
4.5.4 Medio Tiosulfato citrato bilis sacarosa-----	36
4.5.5 Estudios Biológicos-----	37
4.5.5.1 Muestras de Crecimiento-----	37
4.5.5.2 Muestreo poblacional y sobrevivencia.-----	37
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----</b>	<b>38</b>
5.1 Factores Físico-químicos-----	38
5.1.1 Oxígeno Disuelto-----	38
5.1.2 Temperatura-----	39
5.1.3 Salinidad-----	41
5.1.4 pH-----	42
5.1.5 Variación en la cantidad de Bacteria-----	43
5.1.5.1 Colonias amarillas-----	44
5.1.5.2 Colonias Verdes-----	44
5.2 Crecimiento de los camarones-----	45
5.3 Sobrevivencia-----	46
<b>VI. CONCLUSIONES-----</b>	<b>49</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES-----</b>	<b>52</b>
<b>VIII.- BIBLIOGRAFÍA-----</b>	<b>53</b>
<b>IX ANEXOS.-----</b>	<b>56</b>



## RESUMEN.

El camarón permanece como uno de los mariscos más populares y de más valor en el mercado mundial. La producción mundial actual por año de camarón silvestre y cultivado en granjas se estima en unas 3, 000,000 de toneladas métricas con un valor estimado de producción que excede los \$ 12,000 millones. Con esto, la producción de camarón no es solo una de las industrias más grandes del mundo, sino una de las más lucrativas además de contribuir a mejorar la calidad de vida de las personas, brindándoles oportunidad de empleo. Con esta perspectiva y con el objetivo de encontrar una manera de mejorar la calidad del producto ofertado al mercado así como de disminuir el impacto negativo de dicha actividad al medio ambiente y la salud humana con el uso de productos con efectos negativos como los antibióticos surgió el uso de probióticos que cada vez se incrementa más en acuicultura gracias a su efecto eficaz en la competencia por espacio en agua y dentro de los organismos. En este trabajo se pretendió valorar la efectividad del probiótico 3W para disminuir el impacto de las enfermedades asociadas a bacterias del género *Vibrio* sp. (*Vibrio alginolítico* y *Vibrio parahemolítico*) en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Para esto se realizó un estudio experimental en 6 tanques cónicos de fibra de vidrio de 0.8 mts, tres con aplicación de probiótico y tres tanques que sirvieron de testigos donde no hubo aplicación, todos fueron sembrados a una densidad de 20 pls m<sup>2</sup>. El proceso se desarrolló en tres etapas. La etapa 1 fue en la que se le realizó una prueba previa para evaluar el estado inicial en el que se encontraban los organismos antes de la aplicación con probiótico, la etapa 2 fue en la que se realizó la infección elaborando un caldo con cepas de *Vibrio* y diluidas en el reservorio para una infección más uniforme de los organismos y la etapa 3 en la que se procedió a la aplicación del probiótico 3W. Los parámetros a evaluar fueron los factores físicos y químicos, el crecimiento de colonias, la sobrevivencia y el crecimiento entre ambos tratamientos. Los oxígenos tuvieron un intervalo de 3.5 a 1.2 mg/L, la temperatura de 28.3 a 26.2 °C, la salinidad de 34 a 26 ppm y el pH se presentó



dentro de los intervalos óptimos de 7.5 a 8.5. Los crecimientos de colonias de vibrios se presentaron de manera natural al efecto del probiótico. Mientras que la sobrevivencia y crecimiento fueron mejores en tanques donde hubo aplicación de probiótico 3W lo que demuestra su efectividad.

## **Dedicatoria.**

### **Dedicamos nuestro trabajo de Tesis:**

- Primeramente a Dios por habernos dado la vida así como fortaleza, sabiduría y convicción necesaria para poder conseguir nuestros propósitos, metas y objetivos lo cual nos llevó a tener el privilegio de ver culminada muy orgullosamente nuestra carrera universitaria con mucho éxito.
- A mi familia, en especial a mi madre Imara de la Concepción Saavedra Ramírez, la cual con su esfuerzo y apoyo incondicional logro inculcar valores y principios como el respeto, la responsabilidad, la honestidad, la humildad, y el amor al trabajo, herramientas que son la base de nuestro éxito y las llaves para entablar muy buenas relaciones en nuestra vida cotidiana.
- A mi familia, en especial a mi tía Amalia de Canales, tío Manuel Canales, a Leonel Silva y a mi padre José Ernesto Ríos, los cuales con su esfuerzo y apoyo incondicional lograron inculcar valores y principios como el respeto, la responsabilidad, la honestidad, la humildad, y el amor al trabajo, herramientas que son la base de nuestro éxito y las llaves para entablar muy buenas relaciones en nuestra vida cotidiana.





## **Agradecimientos.**

- A Dios por darnos todas las herramientas necesarias para poder desempeñarnos de manera eficaz en nuestro paso por la universidad y permitiéndonos conocer personas muy especiales que nos ayudaron a salir adelante.
  
- A nuestra familia especialmente a Imara Saavedra Ramírez y José Ernesto Ríos Ayala ya que con su esfuerzo, amor y disciplina lograron regalarnos el mayor de los tesoros como son los estudios, herramientas que nos servirán a lo largo de toda nuestra vida.
  
- A los docentes de la carrera de Ingeniería Acuícola de la UNAN- León, en especial a Lic. Claudia Herrera Sirias y Dr. Evenor Martínez González por brindarnos sus conocimientos y orientación a lo largo de nuestra carrera.
  
- Al Ing. Carlos Altamirano por su apoyo incondicional a lo largo de todo nuestro trabajo de investigación.
  
- A nuestros amigos por darnos aliento en los momentos difíciles.
  
- A la empresa Camanica S.A por su aporte para la elaboración de nuestro trabajo de Tesis.



## I.- INTRODUCCIÓN.

Actualmente la acuicultura se presenta como una alternativa de producción en muchas regiones del mundo y participa de manera importante en la solución de los problemas de desempleo y alimentación de tres billones de personas, los modelos de acuicultura con mayor probabilidad de beneficiar al sector más pobre de la humanidad caen en dos categorías principales, aquellos que generan empleo e ingresos para el pobre y aquellos que están dirigidos a mejorar el suministro de alimentos, ambos son importantes (Curie, 1999).

La producción de organismos acuícolas constituye una de las principales fuentes de alimento y trabajo en Nicaragua que se dedica a esta actividad. Sin embargo, la presencia de enfermedades ha limitado el desarrollo de la acuicultura afectando al sector económico y social del país.

En los últimos años, muchas investigaciones se han encaminado al desarrollo de técnicas preventivas y terapéuticas para reducir o impedir la incidencia de enfermedades en los cultivos. Peeters y Rodríguez (1999).

La tendencia actual es de restringir o reducir el uso de antibióticos debido a la aparición de resistencia bacteriana, problemas ecológicos, restricción de las exportaciones por presencia de residuos en los tejidos de camarones y su incidencia en la salud humana. Las estrategias de control han sido encaminadas hacia el uso de técnicas mejoradas en el cultivo de camarón (Alday, 1999), programas de selección genética (Pérez y Gómez, 2001), para incrementar el rendimiento y resistencia a enfermedades de origen viral o bacteriano.

Una estrategia de control bacteriológico, muy interesante y con resultados prometedores, se enfoca al empleo de probióticos, como alternativa al uso de antibióticos y quimioterapéuticos, bajo el principio de exclusión competitiva. Es una herramienta viable,



ya que las bacterias probióticas ocupan espacios y demandan nutrientes del agua y del fondo del estanque, así como directamente del tracto digestivo de los camarones, reduciendo las posibilidades de colonización y desarrollo de otros microorganismos que sean patógenos o puedan convertirse en nocivos (Moriarty, 1999; Berger, 2000; Newman, 2000; Benetti, 2001; Chamberlain, 2001; Gullian 2001).

Actualmente existe poco conocimiento de los productores sobre el efecto defensivo del uso de probióticos en el cultivo de camarones blancos *Litopenaeus vannamei* como alternativa al uso de antibióticos, para amortiguar el impacto producidos por la infección con *Vibrio parahemolítico* y *Vibrio alginolítico*. De esta manera se hace más importante el conocimiento acerca del uso de probióticos y su efectividad en contrarrestar el impacto de enfermedades bacterianas.

Los resultados de este trabajo generaron información importante que permitió obtener un mejor conocimiento sobre la alternativa para la prevención de enfermedades bacterianas con el uso de probióticos. Esta investigación nos ayudó a mejorar el crecimiento del camarón, aumentar la sobrevivencia, minimizar la incidencia de enfermedades, desaparecer la cantidad de químicos como el antibiótico, en la aplicación de estos por cualquier enfermedad, lo cual trae como consecuencia residuos que son tóxicos para el consumo humano.



## II.- OBJETIVOS.

### 2.1 Objetivo General.

1. Evaluar el efecto del probiótico 3W vs. el ataque de las enfermedades por vibriosis (*Vibrión parahemolítico* y *Vibrión alginolítico*), en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* en condiciones experimentales.

### 2.2 Objetivos Específicos.

1. Determinar los factores Físicos–Químicos del agua del experimento (Oxígeno Disuelto, Salinidad, Temperatura, pH).
2. Determinar y valorar la variación en la cantidad de bacterias (*Vibrión. Parahemolítico* y *Vibrión alginolítico*) en el hepatopáncreas por medio de Pruebas Bacteriológicas TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa) antes, durante y después de la aplicación del probiótico.
3. Comparar el crecimiento de los camarones entre los recipientes con y sin aplicación de probiótico 3W.



4. Calcular y comparar el porcentaje de sobrevivencia de la población de camarones en estudio con y sin aplicación de probiótico al final del experimento.

### III.- LITERATURA REVISADA.

#### 3.1 Descripción del *Litopenaeus vannamei*.

##### 3.1.1 Ciclo Biológico.

Los camarones *Litopenaeus* tienen un ciclo de vida muy complejo de unos 18 meses en el cual va desde huevo; estadio larvarios (Nauplio; Zoea; Mysis hasta Post Larva); Juvenil y Adulto. (Torres. 1991).

El desarrollo sexual en *Litopenaeus vannamei* se explica de la siguiente manera: Las hembras inactivas son numerosas de febrero a Agosto. El Desarrollo de los ovarios empieza a incrementar en Octubre, es máxima en febrero y disminuye rápidamente hasta Mayo. (SOLUAP. 1998)

La especie *Litopenaeus vannamei* desova en mar abierto.

El desarrollo larval comprende 11 estadio: cinco incluidos bajo el nombre de Nauplio; tres de Protozoa y tres de mysis (estos estadio proceden a la forma verdaderamente adulta). Bajo esas formas el camarón es planctónico se ha movido hacia las marismas, esteros y bahías en donde entra en forma de Post – Larvas, sustituyendo otras poblaciones que habían entrado con anterioridad. Al alcanzar el estado adulto inicia el movimiento inverso, es decir, hacia mar abierto influenciado por la luna y las mareas. Los camarones que logran salir al mar; son los encargados de reiniciar el ciclo.



**Nauplio:** El primer estadio larval o Nauplio, su cuerpo es periforme; con solo tres pares de apéndices que cumplen una función natatoria, el Nauplio no se alimenta del medio externo ya que consume sus reservas y se constituye de 5 sub estadio:

**Protozoa:** Segundo Estadío ó Protozoa (ZOEAE); se caracteriza por tener el cuerpo dividido en cefalotórax y abdomen o pleon las antenas y anténulas son las principales órganos locomotores, su desplazamiento es vertical, presenta ojos compuestos y un telson espatulado, los Urópodos aparecen en la tercera muda. Este estadio de Zoea presenta 3 sub estadio .(SOLUAP. 1998)

**Mysis:** El último estadio larval llamado Mysis, se caracteriza por presentar 3 sub-estadio determinado por sus respectivas mudas.

La primera muda se da en un promedio de 24 horas mide 3.05mm; No presenta pleópodos; Los periópodos están desarrollados del primer al tercer par, el cuerpo es alargado haciéndose más parecido a un camarón pequeño. SOLUAP.1998

El segundo sub-estadio dura aproximadamente 29 horas y mide 3.25mm, aquí se presenta un pleópodo rudimentario no segmentado

La tercera muda de este estadio larval se da 29 horas después y aparece el tercer sub estadio de mysis aquí la larva mide 4.17 mm de longitud, los pleópodos son bisegmentados, aparece la primer espina dorsal sobre el rostro.

**Postlarva:** Se caracteriza por medir aproximadamente 5.05 mm, el final de proceso de desarrollo larval en el camarón está marcado por la aparición de la primera Post - larva de aspecto muy semejante al juvenil y adulto

El rostro esta armado con 2 ó tres espinas ó dientes dorsales, siendo el primero de ellas el diente epigástrico. Al final alcanza tamaño de 12 mm de longitud aproximadamente 14 días después de la primera post - larva. (SOLUAP. 1998)

**Juvenil:** En esta fase se comienza a diferenciar el sexo y dura hasta que aparecen otras características secundarias tales como el color y tamaño. Esta es una de las etapas más



importante en su ciclo de vida. Al medir de 60-70 mm comienza a viajar hasta el mar donde logran la etapa adulta, la madurez sexual. (Martínez E. Y Rosa C. 1996). Los 11 estadio larvarios del camarón tienen una duración de 224 horas equivalente a 9 días (SOLUAP. 1998)

### 3.1.2 Clasificación Taxonómica de *Litopenaeus*.

Phylum	Artrópoda
Clase	Crustácea
Subclase	Malacostraca
Serie	Eumalacostraca
Súper Orden	Eucarida
Orden	Decápoda
Sub Orden	Dendrobronchiata
Infra Orden	Litopenacidea
Súper Familia	Litopaoidea
Familia	Litopenaeidae
Genero	<i>Litopenaeus</i>
Especie	<i>Vannamei</i>

(Pérez-Farfante y Kensley, 1997)

### 3.2 Sistemas de Cultivo.

#### 3.2.1 Sistema extensivo.

Son sistemas de cultivo que aprovechan condiciones naturales favorables. En ellos se procede a la siembra y el proceso de alimentación y engorde es natural. A pesar de ser



sistemas extensivos, pueden alcanzar unos niveles de productividad muy elevados, además de un muy buen crecimiento y mejor calidad del producto. Sistema extensivo se caracteriza por tener una baja densidad de camarones por unidad de superficie, sin suplemento de alimento artificial y mantener una fertilización a partir de fertilizantes inorgánicos. El sistema de recambio de agua se encuentra reducido para mantener solamente niveles adecuados de oxígeno y salinidad. La densidad final esperada en este sistema es de 1 a 3 camarones/m<sup>2</sup> (FAO 1991).

### **3.2.1.1 Sistema semi-intensivo**

Este sistema se caracteriza por tener una densidad mas alta que el sistema extensivo, la tasa de recambio de agua es mayor y además de fertilizar como en el caso anterior se requiere ofrecer alimentación suplementaria pues el alimento natural se hace limitante al aumentar la densidad de camarones que se proyecta sea de 5 camarones/m<sup>2</sup>. Se prevé utilizar una tasa de fertilización de 20 a 40 kg/ha, con una utilización de 30/kg/mes de fertilizante inorgánico y una tasa de recambio de agua de 10 a 20% (Hernández. A. R., 1991).

#### **3.2.1.1.1 Sistema intensivo**

En este sistema se utilizarán fertilizantes, alimento artificial y aireación dentro de los estanques por medio de aireadores que permitan mantener condiciones adecuadas de oxígeno en el cultivo. La densidad final esperada de este sistema es de 10 animales/m<sup>2</sup>; la mortalidad prevista es del 25% en los 105 días de cultivo. El uso de fertilizantes oscilará entre 20–40 kg/ha/mes, estimando una utilización de 20 kg/ha/aplicación variables del medio que afecta la supervivencia, el crecimiento y la productividad de las especies criadas, el alimento será suministrado dos veces por día, se realizará un recambio de agua del 10 al 20% y se utilizarán aireadores 24 horas al día (Hernández A. R., 1991).

### **3.3 Manejo del Cultivo.**





### **3.3.1 Calidad de Agua.**

Un buen conocimiento de las variables del medio es parte esencial para el manejo adecuado de estanques de cría de camarones, el técnico en acuicultura debe concentrarse sobre sus parámetros para manejar los estanques de manera óptima.

La forma más importante de prevenir el deterioro de la calidad del agua en los estanques durante el crecimiento, es manejando bien el alimento. Si ocurren concentraciones de oxígeno disuelto bajas durante el ciclo en estanques de producción semi-intensivo, la alternativa de los granjeros es usualmente incrementar el recambio de agua, lo que incrementará la cantidad de contaminantes descargados de los estanques. (Hernández A. R., 1991).

#### **3.3.1.1 Factores Físico-químicos.**

El manejo de los factores físico-químicos es importante para el éxito del cultivo de camarón. Estos factores son de mucha importancia pues es mediante la optimización del intervalo de los mismos que un cultivo de camarón pueda llegar a tener buenos resultados en su producción, todos ellos están relacionados entre si.

##### **3.3.1.1.1 Oxígeno Disuelto.**

El Oxígeno Disuelto (OD) es la cantidad de oxígeno que está disuelta en el agua y que es esencial para los cuerpos de agua. El nivel de oxígeno disuelto puede ser un indicador de cuán contaminada está el agua y cuán bien puede dar soporte esta agua a la vida vegetal y animal. Generalmente, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Si los niveles de oxígeno disuelto son demasiado bajos, algunos organismos no pueden sobrevivir. (Internet 1)

Esta variable es sin duda la más importante y crítica en la acuicultura. Es necesario mantener un nivel adecuado de oxígeno disuelto en los intervalos de 3 mg/L a 8 mg/L, fuera de estos intervalos puede ser letal para el camarón ocasionándole estrés y enfermedades principalmente. La pérdida de oxígeno ocurre principalmente por la respiración de todos los organismos aeróbicos del estanque y también por la respiración de las algas en el proceso de fotosíntesis. La producción de oxígeno se hace por la actividad



fotosintética de las algas. Otra forma de suministrar oxígeno a los estanques es por el recambio de agua suministrada.

El oxígeno debe medirse dos veces por día, una vez por la mañana antes de la salida del sol y una por la tarde antes de la puesta del sol preferiblemente. Los problemas de oxígeno aparecen de manera más frecuente al final de la cría debido al aumento de la biomasa. (Saborío, A.2000)

#### **3.1.1.1.1 Aireación.**

Para mantener una concentración mínima de 4 mg/L de oxígeno disuelto, en algunos sistemas de cultivos como lo son sistema intensivo, hiper-intensivo, es necesario la utilización de aireadores durante algunas horas críticas por ejemplo en horas de la noche o bien según sea el caso durante todo el día.

Una buena aireación se puede evaluar por el tamaño de las burbujas. Cuanto más pequeñas las burbujas, es mejor la tasa de intercambio de oxígeno. (Peeters y Rodríguez, 1999).

#### **3.1.1.1.2 Efectos del oxígeno disuelto en el camarón**

- Menor de 1 o 2 mg/l, es letal si este rango dura algunas horas.
- De 2 a 3 mg/L, tendrá un lento crecimiento si la baja de oxígeno disuelto se prolonga.
- 5 mg/l a Saturación, tiene una mejor condición para un excelente crecimiento.

Sobresaturación, puede ser dañino si las condiciones existen por todo el estanque, generalmente no se dan problemas podría causar la enfermedad de la burbuja. (Villareal, H, Ocampo, L., 1993)

#### **3.1.1.1.3 Temperatura**

Este factor influye mucho en el organismo, en su metabolismo principalmente, puede ser también un indicador de una posible enfermedad, los camarones son organismos poiquilotérmicos (Se aplica al animal cuya temperatura corporal varía según la del medio ambiente ya que carece de mecanismos reguladores de la misma) (Tórrez 1991, Martínez\_Lin 1994), por tanto la temperatura del medio acuático influye directamente



sobre la temperatura corporal del cuerpo del organismo, esto en su metabolismo y en la velocidad de los procesos enzimáticos para la digestión de los alimentos principalmente.

La temperatura óptima de cultivo debe fluctuar entre 27 y 31° C. Por debajo de este intervalo el crecimiento es lento y arriba de 31° C el animal pierde peso por alto metabolismo necesitando consumir más alimento balanceado.

Tanto la temperatura superior, como las temperaturas bajas podrían ser letales para los camarones. La temperatura alta afecta la solubilidad del oxígeno en el agua y su consumo por los organismos aumentando o disminuyendo su actividad biológica.

Para evitar una mortalidad masiva de larvas es necesario realizar un recambio de agua mayor o sembrar a densidades más bajas. De la misma manera que para la salinidad los animales no pueden soportar un cambio brusco de temperatura y es muy importante aclimatar los animales antes de sembrarlos en un medio nuevo con temperaturas diferentes

#### **3.1.1.1.4 Salinidad**

La salinidad se refiere a la concentración de iones de sales disueltas en el agua, se expresa en partes por mil (ppm) es decir 1 gramo de sal disuelto en 1 Kg. de agua, la salinidad se puede ver afectada por una alta evaporación provocando un aumento de la misma o bien altas precipitaciones lo cual ocasionaría en algunos casos una muy baja salinidad.

Los intervalos óptimos de salinidad para un buen desarrollo del camarón oscila entre 15 ppm (optimo para su crecimiento) y no mayor de 35ppm (Franco 1994).

La salinidad depende básicamente de siete iones, cuyo valor promedio de concentración en el agua de mar es: Sodio, 10,500 mg/L; Magnesio, 1,450 mg/L; Calcio, 400 mg/L; Potasio, 370 mg/L; Cloruro, 19,000 mg/L; Sulfato, 2,700 mg/L; Bicarbonato, 142 mg/L. La salinidad promedio del agua de mar es 34.5 partes por mil (ppm). En agua salobre, la salinidad varía de acuerdo a la salinidad de la fuente de agua. La salinidad en las aguas estuarinas puede ser similar a la del agua dulce durante la época de lluvia y aumentar durante la sequía. Los estuarios con acceso limitado al mar tienen mayor salinidad que éste durante la temporada de sequía ya que los iones se concentran a causa de la evaporación.



La salinidad disminuye conforme se aleja de la boca del estuario, y la salinidad puede estratificarse de acuerdo a la profundidad en el estuario.

Según (Tórrez 1991) los camarones son organismos eurihalinos por tanto son capaces de soportar amplios intervalos en el rango de salinidad pero no de forma brusca.

Martínez\_Lin 1994 expresan que la salinidad afecta tanto la sobrevivencia como el crecimiento del camarón en un cultivo, por otro lado también la combinación de valores extremos de temperatura y salinidad ocasionan una inhibición en la asimilación del alimento del camarón, influyendo directamente en su metabolismo así como también en la disponibilidad del oxígeno disuelto en el agua, que a mayor salinidad y temperatura el oxígeno disuelto disminuye.

En algunos casos es elevada (superior a 35‰) desde el mes de Enero hasta el mes de Junio y se mantiene baja entre 33 ‰ y 13‰ el resto del año. Las causas de la salinidad alta en la mitad del año son debido a una alta evaporación y a la falta de renovación del agua entre el mar y los esteros en algunos casos en donde la toma de agua es de un estero.

La salinidad alta tiene consecuencias desfavorables sobre el ecosistema del estanque. Sabemos en efecto que para las salinidades altas ó bajas los organismos marinos deben utilizar una gran parte de su energía para equilibrar su medio interior con el exterior.

Una salinidad alta puede afectar negativamente:

- La producción natural de los estanques.
- El crecimiento de los camarones.
- La supervivencia de los animales principalmente en el momento de la aclimatación y la siembra.
- La concentración de oxígeno del agua.

La salinidad tiene también un efecto indirecto sobre los camarones ya que baja la solubilidad del oxígeno en el agua y su disponibilidad para los organismos. En estas



condiciones vemos que para asegurar una cría durante el período de salinidades altas haría falta efectuar recambios mayores de agua.

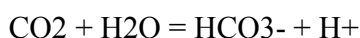
### 3.1.1.1.5 pH

El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones de hidrógeno (H<sup>+</sup>):  $\text{pH} = -\text{Log} [\text{H}^+]$

El intervalo de pH debe fluctuar entre los 7.5 y 8.5 ppm

El pH indica cuán ácida o básica es el agua. De una manera más práctica, el agua con un pH de 7 no se considera ni ácida ni básica sino neutra. Cuando el pH es inferior a 7 el agua es ácida, y cuando el pH es superior a 7 el agua es básica. La escala de pH es de 0 a 14, mientras más lejano sea el pH de 7 el agua es más ácida o más básica.

Los estanques de agua salobre generalmente tienen un pH de 7 u 8 por la mañana, pero en la tarde generalmente suben a 8 ó 9. La fluctuación diaria del pH en los estanques resulta de los cambios en la fotosíntesis del fitoplancton y otras plantas acuáticas. El dióxido de carbono es ácido tal como se muestra en la siguiente ecuación:



Si la concentración de dióxido de carbono crece, la de iones de hidrógeno aumenta y el pH disminuye y, al contrario, si disminuye la concentración de dióxido de carbono, la de iones de hidrógeno cae y el pH aumenta. Durante el día el fitoplancton consume dióxido de carbono y el pH del agua aumenta. Por la noche, el fitoplancton no utiliza el dióxido de carbono, pero todos los organismos del estanque sueltan dióxido de carbono durante la respiración y a medida que se acumula el dióxido de carbono el pH baja. La fluctuación diaria no siempre es tan grande, pero cuando el fitoplancton es abundante puede existir una gran fluctuación en el pH. A diferencia de los estanques con menor alcalinidad total, los estanques con alcalinidad total alta o moderada generalmente presentan un pH alto durante la mañana. Cuando abunda el fitoplancton, el pH aumenta durante el mediodía más en estanques con baja alcalinidad, que en los de mayor alcalinidad, por el efecto de amortiguación aportado por la alcalinidad alta. (Saborío, A.2000)

Una generalización de la influencia del pH en el camarón es la siguiente:



## Efecto pH

- ❖ Punto de acidez letal en pH 4
- ❖ No reproducción en pH de 4-5
- ❖ Crecimiento lento en rangos de 4-6
- ❖ Mejor crecimiento en pH de 6-9
- ❖ Crecimiento lento a pH entre 9-11
- ❖ Punto letal de alcalinidad en pH 11

Villalón 1994, menciona que el rango óptimo de pH para el cultivo de camarón es de 7.5 en la mañana y 8.5 en la tarde. Este parámetro está muy relacionado con la actividad fotosintética del fitoplancton. El porqué de esta afirmación es explicada a continuación:

1. Los iones más temidos en el cultivo son el amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) y el ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ )
2. Para mudar el camarón tiene que bajar el pH de su cuerpo para lograr disolver las sales pegadas a su caparazón y así puedan ser reabsorbidas por el nuevo caparazón. Si el pH es alto el camarón no puede mudar.
3. Los iones de Carbono a diferente pH tienen diferentes efectos en el camarón:

<b>pH</b>	<b>Ion Predominante</b>	<b>Efecto</b>
❖ 7.5 – 8.3	$\text{HCO}_3$	Amortiguador (Buffer)
❖ 8.4 - 9.9	$\text{CO}_3$	Bloquea proceso de muda
❖ 10 a más	$(\text{OH})^-$	Mortalidad



4. Los iones de amonio se presentan de dos formas dependiendo del pH. Así tendremos  $\text{NH}_4$  (amonio ionizado) a pH bajo sin causar toxicidad en el agua, mientras que a pH alto (más de 8.5) se presenta en su forma toxica el  $\text{NH}_3$  (amonio no ionizado).

5. Por último el  $\text{H}_2\text{S}$  en pH debajo de 7.2 se transforma en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ácido sulfúrico) por eso el pH debe mantenerse encima de 7.5 para evitar la toxicidad acidica durante la muda del camarón.

Cuando el pH del agua es muy bajo, se puede aplicar cal en el estanque para mejorarlo. Por fortuna un pH bajo es más común que uno alto, ya que no hay procedimientos confiables para reducirlo. Usualmente las bajas en el crecimiento, reproducción, o sobrevivencia que resultan de la baja acidez en los estanques no provienen de un pH bajo, sino de los efectos de la baja alcalinidad y de los lodos ácidos sobre la producción de plancton y organismos béticos. En algunas áreas, el suelo contiene del 1 a 5% de sulfuros en forma de pirita de hierro, estos son suelos potencialmente ácidos por sulfatos. En estanques hechos con este material si la pirita entra en contacto con el aire en los bordes, la pirita se oxida y forma ácido sulfúrico, el cual puede causar un pH muy bajo en el estanque. (Herrera, C. 1999)

#### **3.1.1.1.6 Aclimatación.**

Los camarones son sensibles a las variaciones Físico-Químicas del agua. Las variaciones bruscas de temperatura y salinidad en particular pueden conducir a corto o medio plazo a la muerte de los animales. También para transferir los animales de un medio, a otro que presenta características Físico-Químicas diferentes es importante proceder a una aclimatación minuciosa. La aclimatación consiste en cambiar paulatinamente las características Físico-Químicas del agua de origen de los animales para llegar a las características del agua del nuevo medio y dar tiempo necesario a los animales para adaptar su metabolismo a este medio nuevo.

Más si las diferencias Físico-Químicas del medio de origen y del medio receptor son grandes, mayor será el tiempo de aclimatación. Así el tiempo óptimo de modificación de las variables del agua para las Postlarva de *Litopenaeus vannamei* ha sido determinado Para la Salinidad.



Cambio		Tiempo para 1 %
De	Hasta	
35 ‰	20 ‰	30 min.
20 ‰	10 ‰	1 H
10 ‰	0 ‰	2 H

Durante los meses de Noviembre a Enero normalmente se suspenden los cultivos porque la temperatura del agua baja a 20° C en promedio, algunas camaronas cultivan durante este periodo debido a la buena calidad de la larva que obtienen buen crecimiento y supervivencia a pesar de las bajas temperaturas. (Torres, D. 1991)

## 3.2 Enfermedades.

### 3.2.1 Enfermedades Bacterianas.

En el cultivo de camarón existen muchas enfermedades causadas por distintos tipos de bacterias las cuales han sido causa de grandes pérdidas económicas para productores en todo el mundo, algunas de las más importantes son: Vibriosis, Septicemia bacteriana, Enfermedad de la mácula oscura, NHP entre otras. Dentro de las enfermedades más comunes en nuestro país se encuentra: La enfermedad de la Vibriosis causadas por bacterias del genero *Vibrio*. (Altamirano, C 2009)

Las bacterias del género *Vibrio*, se han registrado a menudo como patógenas oportunistas para camarón tanto en la fase de larvicultura como en la engorda. En cada una de estas etapas algunos vibrios se han perfilado como más frecuentes, de esta manera se ha





reconocido la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *Photobacterium damsela*, (anteriormente clasificada como *V. Damsela*) principalmente en estanques de engorda de camarón así como *V. harveyi* y *V. splendidus* que se han detectado mayormente en el cultivo larvario.

A pesar de esta aparente diferenciación de los vibrios para proliferar en los diferentes ambientes, se ha registrado que *V. harveyi*, especie conocida como principal problema en la larvicultura, en épocas recientes también ha sido implicada en el lento crecimiento en estanques de engorda y mortalidades en camarones juveniles, especialmente en los primeros 45 días de cultivo. Los episodios de mortalidades fueron precedidos por cambios en las poblaciones bacterianas de vibrios, y un incremento en la presencia de las poblaciones de vibrios luminiscentes. Evaluaciones histopatológicas de los camarones afectados revelaron daños en el hepatopáncreas, en los cuales se observó una respuesta inflamatoria severa en los senos ínter tubulares del mismo. Los camarones juveniles afectados tienden a desplazarse cerca de los bordes del estanque con el cefalotórax en la superficie del agua, con la apariencia de nadar y flotar verticalmente. El examen grueso de esas lesiones no reveló daños significativos en el exoesqueleto. La región del cefalotórax, en el área correspondiente al hepatopáncreas, aparece obscurecida. Los análisis bacteriológicos de las muestras revelaron la dominancia de bacterias luminiscentes.

### **3.2.1.1 La enfermedad de la Vibriosis**

Se puede definir como una enfermedad ocasionada por bacterias del género *Vibrio* en organismos acuáticos. Son organismos unicelulares, procariontes, capaces de replicarse automáticamente, presentan varios tipos de alimentación, se pueden exterminar o al menos controlar con antibióticos, pero tienen una resistencia rápida al antibiótico. Sin embargo el rol de las bacterias en un estanque de camarón no sólo debe de ser enfocado desde el punto de vista de las enfermedades, pues estos microorganismos también cumplen un papel importante en el reciclamiento de los nutrientes y la degradación del detritus en el estanque y contribuye por lo tanto a mantener la calidad del agua. Las bacterias del género *vibrio* se han reportado a menudo como patógenos oportunistas para camarón, tanto en la fase de larvicultura como en la engorda. En la engorda prácticamente todas las especies de *vibrio*



han sido encontradas en todos los camarones con problemas, pero no implica que sean las responsables de la infección, sino que debido a su carácter oportunistas, proliferan cuando el camarón se encuentra debilitado.

### **3.2.1.1.1 Vibriosis durante la engorda**

Quizá el mayor impacto que ocasionan las bacterias es durante la fase de engorda, por la cantidad de producto involucrado, sin embargo, las bacteremias son una de las enfermedades menos comprendidas en la camaronicultura. La vibriosis puede ser definida en la Camaronicultura y Medio Ambiente como una infección causada por bacterias del género *Vibrio*. Prácticamente todas las especies de *Vibrio* han sido encontradas en camarones con problemas, pero esto no implica que sean las responsables primarias de la infección, sino que debido a su carácter oportunista, proliferan cuando el camarón se encuentra debilitado.

Históricamente *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *Photobacterium damsela* han causado problemas en estanques de engorda, mientras que *V. harveyi* y *V. splendidus* se reconocen como dominantes en el cultivo larvario. Sin embargo, muchas de estas especies también han sido encontradas en la hemolinfa y el hepatopáncreas de juveniles sanos de *L. vannamei* (Gómez-Gil et al., 1998).

En épocas recientes, se ha observado que *V. harveyi*, ha causado mortalidades y lento crecimiento también en estanques de engorda. Sin embargo, todas estas especies y cepas son patógenos oportunistas, esto es que sólo infectan al camarón cuando éste se encuentra debilitado por algún otro factor, como por otro patógeno. Hasta el momento, sólo *V. penaeicida* ha sido probado como verdadero patógeno primario para *P. japonicus* del Japón (Ishimaru et al., 1995) y para *L. stylirostris* cultivado en Nueva Caledonia, en ambos casos con resultados desastrosos (Costa et al., 1998). En México, afortunadamente, esta bacteria aún no ha sido registrada. Diversas variantes de vibriosis se han señalado y muy comúnmente, el nombre que se le ha dado depende del lugar en el camarón donde se localice la infección, pero en realidad se trata de la misma enfermedad. (Herrera, C 2009).

### **Comportamiento de colonias de *Vibrio*.**

•Vibrios “verdes” en TCBS: *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. harveyi*. Además *V.*



penaeicida.

- Nado errático, en las orillas; letargia; anorexia; coloración del HP alterada, colonizado por epibiontes; cromatóforos expandidos (apéndices rojos); melanizaciones.
- Altos niveles de bacterias en HL (>1000 cel/ml) y en HP (>1 millón/g); alto porcentaje de colonias verdes y/o verdes luminiscentes en agar TCBS.
- Necrosis multifocal, inflamación hemocítica, formación de nódulos en el órgano linfoide, corazón y branquias, etc. Nódulos con bacterias en su interior.

### **3.2.1.1.2 Patogenicidad del Vibrio**

- No hay especies patógenas
- Si hay cepas patógenas
- Está mediada por factores ambientales (Salinidad, Temperatura, etc.)
- Oportunistas y probablemente patógenos primarios Cepas: Es un grupo de bacterias (aisladas) que tienen características en común y diferentes a otras cepas, pero perteneciente a la misma especie por compartir características en común

### **3.2.1.1.3 Signos de la Enfermedad:**

- Según Herrera, C 2009 La vibriosis larval y de adulto puede reconocerse fácilmente por examen al microscopio de monturas húmedas de larvas moribundas a 100X ó 400X. Las larvas y adultos de camarón afectadas pueden presentar algunas o todas las anomalías siguientes:
- Tracto digestivo vacío (la larva y adulto no comen)
- Aletargamiento
- Flexión dorsal abdominal
- Fuerte colonización bacteriana en la cutícula
- Opacidad en la musculatura abdominal
- Altas mortalidades



- Cromatóforos visibles en la base de apéndices
- Nódulos melanizados en el hepatopáncreas
- Heridas melanizadas en punta de apéndices
- Bacterias bacilares móviles en hemolinfa
- Retardo en la coagulación de hemolinfa (>1 min.)
- Reducción de hemocitos (de 20 mil hasta mil/ml).
- Hemolinfa turbia
- Camarones moribundos con nado errático en la superficie
- Presencia de gaviotas en la piscina
- Necrosis multifocal a nivel cuticular
- Urópodos y telson con cromatóforos distendidos (cola roja) y presencia de vesículas
- Antenas rugosas descoloridas, cortadas (apariencia de quemadas, necrosis)

### **3.2.2 *Vibrio parahemolítico***

El *Vibrio Parahemolítico* es una bacteria marina que habita cualquier lugar del mundo y se encuentra presente en forma permanente en el mar de nuestro territorio en bajas concentraciones. Permanece en sedimentos de aguas costeras durante el invierno; bajo condiciones especiales, cuando la temperatura aumenta se multiplica y coloniza en mariscos y crustáceos.

El *vibrión parahemolítico* y el *Vibrio cholera*, pertenecen a la familia de las *Vibronáceas* y son halofílicos, es decir, requieren altas concentraciones de sal para su desarrollo. (Gómez B, 2003)

#### **3.2.2.1 Descripción del *Vibrio parahemolítico***

Los *vibrios* son bacilos gram negativos, móviles, tolerantes a la sal y anaerobios facultativos. Las especies que se asocian a diarrea son el *vibrio parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. hollisae*, *V. fluviales* y *V. frunci*. Por su parte, el *V. vulnificus* causa septicemia e infección de heridas en pacientes inmunodeprimidos El *Vibrio*



parahaemolyticus, *V. damsela* y *V. alginolyticus* también se han asociado a infección de heridas. (Silva, 2007)

### 3.2.3 *Vibrio alginolítico*

- Introducción: Es una enfermedad emergente de presentación esporádica.
- Agente etiológico: *Vibrio alginolítico*.

Epidemiología: Tiene distribución mundial. Se encuentra en agua de mar, sedimento, peces y crustáceos (almejas, mejillones, ostras, cangrejos y camarones). Es una de las especies de *Vibrio* aislada más frecuentemente. Predomina en los meses más cálidos. (Anónimo, 2007)

Las condiciones óptimas de crecimiento de *Vibrio parahemolítico* y *Vibrio alginolítico* en el agua se resumen en la tabla 1.

Parámetros de Crecimiento	Óptimo	Intervalo
Temperatura	37 °C	5-43 °C
pH	7,8 - 8,6 ppm	4,8-11 ppm
Condiciones Atmosféricas	Aeróbica	Aeróbica o anaeróbica
NaCL en agua	3%	0,5-10%

### 3.3 Probióticos.

En la búsqueda de nuevos métodos para la prevención de enfermedades de tipo bacterianas y de evitar el uso de antibióticos en el cultivo de camarón debido a su incidencia negativa en el medio ambiente y la salud humana se pusieron a prueba varios métodos dentro de los cuales se encontraba el uso de cepas probióticas como medida de colonización interna de los organismos y desplazar de esta forma bacterias patógenas y demostrándose su efectividad para contrarrestar el impacto negativo.

Varios estudios han demostrado que el uso de mezclas probióticas son más efectivas que las cepas independientes en el control de patógenos, ya que la posibilidad de



establecer poblaciones probióticas a pesar de las variaciones ambientales es mayor.

Además, se han observado procesos sinérgicos entre cepas, que han incrementado los resultados deseados, así como no presentar problemas ecológicos ni afectación a la salud por residuos no deseados. (Douillet, 2000).

### **3.3.1 ¿Qué son probióticos?**

Los probióticos son (Bacterias) microorganismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero. La forma más frecuente de consumir probióticos es a través de alimentos

Por otro lado también se dice es un suplemento bacteriano vivo que afecta beneficiosamente al huésped mejorando su balance intestinal (Fuller 1989). También se define como células microbianas suministradas de forma tal que entran al tracto gastrointestinal y se mantienen vivas contribuyendo a mejorar la salud del huésped (Gatesoupe 1999).

Moriarty (1998) y Verschueren et al (2000) definieron a los probióticos acuáticos como organismos vivos que tienen un efecto benéfico en el huésped mediante la modificación de la comunidad microbiana asociada con el huésped, a través de una mejora en el uso del alimento o el incremento de su valor nutricional, mediante el incremento de la respuesta del huésped a las enfermedades, o a través del mejoramiento de la calidad de su ambiente. Esto implica que un amplio rango de organismos pueden ser empleados como probióticos para los animales acuícola, a diferencia de los animales terrestres.

#### **3.3.2.1 Características principales.**

- Antagonismo frente a patógenos.
- Incremento de la resistencia del huésped a los patógenos.
- Colonización del epitelio intestinal u otros tejidos.

##### **3.3.2.1.1 Tipos de probióticos, principales géneros.**

El desarrollo de probióticos adecuados no es una tarea simple. Esto requiere de investigación empírica y fundamental, pruebas a gran escala y el desarrollo de instrumentos



apropiados de monitoreo y la producción bajo un estricto control de calidad. Los probióticos comúnmente usados en acuicultura incluyen un amplio rango de taxas, desde la bacteria láctica (*Lactobaccillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*), a Bacillales (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*), genero (*Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Roseobacter*, *Aeromonas*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Vibrio*) y levaduras (*Debaryomyces*, *Saccharomyces*) pero los tipos mas principales de probioticos son los de *Bacillus* sp, *Vibrios* sp, *Carnobacterium* sp *Lactobacillus* *Pseudomonas* sp, y *Aeromonas* sp,. Esta lista no es exhaustiva. El razonamiento detrás de estos productos microbianos varía:

- Disponibilidad de la cepa que ha sido generalmente seleccionados de animales terrestres y humanos.

- Disponibilidad de productos microbianos baratos. En este caso, la performance del producto es menor a una adición que los costos de los productos deseados

Disponibilidad de cepas que vienen siendo usadas en el tratamiento de aguas residuales. Esto es interesante para el control de la calidad del agua, iniciar un biofiltro, etc.

- Investigaciones de universidades y empresas privadas que conducen a la selección de cepas específicas para la acuicultura.

Dentro de esta categoría, solo las cepas que pueden ser producidas en grandes volúmenes y en una forma rentable, con control de la calidad y evaluación de la seguridad puede alcanzar el mercado.

Los productos comercialmente disponibles incluyen a cepas puras, mezclas definidas de cepas específicas, pero también un consorcio de diez cepas y mezclas indefinidas. Los productos son proveídos como líquidos, congelados o polvo. Algunos de ellos requieren preparación (así como fermentación por 1 a 3 días previo a la aplicación), mientras que otros son proveídos en altas concentraciones y no requieren de ningún paso previo. Los productos en polvo que son proveídos para su uso inmediato tienen beneficios adicionales, como seguridad, como una performance consistente y una vida útil mayor. Las cepas son



provistas en una tasa definida y el riesgo de contaminación es eliminado por la ausencia de manipulaciones, como se da en el caso de la fermentación. Balcázar, J. (2002)

### **3.3.3 Modo de acción**

#### **3.3.3.1 Producción de Compuestos inhibidores:**

Capacidad de liberar sustancias químicas con efecto bactericida ó bacteriostático, constituyendo una barrera contra patógenos oportunistas.

- ❖ Compuestos tales como bacteriocinas, lisoenzimas, antibióticos, sideróforos, proteasas, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos, entre otros.
- ❖ Bacterias lácticas por ejemplo producen bacteriocinas que inhiben el crecimiento de bacterias, especialmente gram positivas.
- ❖ *Bacillus* sp. Se caracterizan por ser productores de compuestos Antibióticos

#### **3.3.3.2 Competencia por químicos o energía disponible:**

- ❖ La capacidad bacteriana de competir por nutrientes influye sobre la composición de la flora bacteriana en el animal y el medio.
- ❖ Competencia por hierro gracias a la acción de los sideróforos, que no son mas que compuestos quelantes específicos para iones ferricos.
- ❖ Estos sideróforos pueden disolver el hierro precipitado y hacerlo disponible para la bacteria.

#### **3.3.3.3 Competencia por sitios de fijación**

- ❖ La cepa probiótica compite con los patógenos por los sitios de adhesión
- ❖ No solo compite por el espacio para la fijación sino que puede producir sustancias inhibitorias una vez fijada en el tejido.

#### **Producción de compuestos beneficiosos para el huésped**

- ❖ Enzimas digestivas





- ❖ Vitaminas y algunos ácidos grasos esenciales
- ❖ Mejor respuesta inmune
  
- ❖ Lipopolisacáridos (LPS) y peptidoglicanos son constituyentes de las paredes bacterianas, y pueden actuar como inmunoestimulantes en el huésped (Newman, 2000)

#### 3.3.3.4 Ventajas.

- Compiten con los patógenos por sitios de fijación evitando infecciones.
- Protegen y estimulan a los animales.
- Aportan enzimas que pueden incrementar o mejorar la asimilación de nutrientes del alimento.
- Compiten por nutrientes con cepas patógenas.
- No provocan la aparición de resistencia bacteriana.
- Aplicación económica y relativamente sencilla.
- Amigable con el ambiente.

#### 3.3.3.5 Probiótico 3W.

3W es un probiótico hecho a base de cepa de *Bacillus* este probiótico ayuda a mejorar el Factor de Conversión Alimenticia F.C.A, mayor sobrevivencia, adecuado afloramiento de fitoplancton, buena calidad de agua y un mejor rendimiento productivo. Según Altamirano C, 2010 los mínimos aceptables para el conteo de bacilos y levaduras no debe ser menor de:

Bacilos	Levaduras
10 mil cel/ml	2 mil cel/ml

(Altamirano C, 2010. Com. Pers.)

#### 3.3.3.6 Producción de Probiótico.

#### 3.3.3.7 Insumos Utilizados:

1. **Probiótico EPICIN 3W:** Básicamente es un tratamiento biológico que consta de un grupo de bacteria (Bacilos, Lacto bacilos, Levaduras) que se encarga de degradar la materia orgánica, ayudan a eliminar elementos tóxicos como el amoníaco, nitrito,



ácido sulfhídrico, ayuda a mejorar la estabilidad de la columna de agua y fomenta la disminución del estrés, proporciona mayor resistencia a las enfermedades mejorando los crecimientos y engorde de los camarones. Es un producto aprobado por la **FDA (Food and Drug Administration)** es una mezcla de bacterias de ocho Lacto Bacilos diferentes, Levaduras Saccharomices Sereviciae.

2. **Melaza:** Es un jarabe oscuro, viscoso, que proviene de la separación de la azúcar cruda en proceso de elaboración de azúcar refinada. Está constituida por carbohidratos del tipo polisacáridos y monosacáridos (sacarosa, glucosa, levulosa, maltosa, lactosa y azúcares reductores) contiene materia seca en un rango de (94-100) % y como proteína del (4-10.3) %. Aporta carbono orgánico, nitrógeno, fósforo, ricos en vitaminas del complejo B.
3. **Ácido Ascórbico:** Es una vitamina en polvo utilizada para desactivar el cloro residual presente en el agua potable.
4. **Ferti-Lake:** Es un fertilizante acuícola granulado 100% soluble a base de nitrógeno nítrico. Esto significa que no es un fertilizante de fuente amoniacal como la mayoría de los fertilizantes agrícolas, incide positivamente en los siguientes aspectos:
  - Funciona como regulador ecológico del medio ya que provee de nitrógeno a los organismos del medio.
  - Eleva el pH del medio cuando se encuentra en condiciones ácidas.
  - Funciona como reductor de materia orgánica (oxidación).
  - Aporta de manera inmediata oxígeno en el medio, lo que produce una mayor estabilidad en el cultivo a fin.
5. **Ortotolidina:** Es un reactivo líquido que funciona como test o prueba rápida para verificar de manera cualitativa la presencia de cloro en el agua. (**Camánica, S.A. 2010**).

#### 3.3.3.8 Proceso de Activación.

Existen diferentes tipos de activaciones del probiótico, existe el probiótico que es activado únicamente con agua por un tiempo de 24 hrs y está listo para utilizarse y el que se activa con melaza, estos son los más utilizados.



**Activación:** La activación del Probiótico es el proceso mediante el cual se mezclan en cantidades proporcionales de ingredientes como 3W, agua declorinada y melaza, a la mezcla se le incorpora aire con un Blower. El inicio proceso ocurre al instante del pesado y mezclado de los ingredientes. Las proporciones que se dan a continuación son las recomendadas por la empresa que produce el probiótico 3W a razón de:

EPICIN 3W	8kg
Acido ascórbico	35gr
Agua potable	1000 lts.
Melaza	20lts.

**3.3.3.9 Duración del proceso:** el proceso de activación requiere un tiempo aproximado de 4 días horas para una activación mayor del 90 % de bacilos y levaduras, así como también aireación continua, con el objetivo de mantener a los organismos en movimiento, una vez terminado el proceso de activación el manejo de la frecuencia de aireación cambia a criterio de la persona encargada del área con el fin de mezclar completamente los componentes utilizados en el nuevo proceso de replicación.

#### **3.3.4 Valoración Física y Microbiológica.**

**Microbiológica:** esta valoración es basada a partir de métodos estándar microbiológicos utilizados en el laboratorio en busca de bacterias E. Coli, coliformes fecales y totales y así mismo también el crecimiento de levaduras y bacilos (recuento total), estos análisis se realizan a las soluciones madres semanalmente en el laboratorio antes mencionado.

**Física:** es una valoración organoléptica, se observa su color café oscuro característico y su color a fermentado, la valoración en el microscopio se realiza mediante el conteo (en un hematocitómetro) y observación en porta y cubre objeto de la presencia de bacterias viables de bacilos cortos, largos y Levaduras *Saccharomices Cereviciae* en fase de multiplicación. El proceso de evaluación es simple, se inicia al traer una gota solución de probiótico



activado, se coloca en un hematocitómetro (cuantitativo) o sobre un porta objeto y luego se le coloca un cubre objeto (cualitativo) para luego observar al microscopio, dicha observación se realiza antes de realizar una nueva replica. Todos estos análisis se llevan registrados en formatos. (Camanica, S.A. 2010).

#### **3.3.4.1 Proceso de Replicación.**

**Replicas:** Las replicas son una secuencia idéntica de las células madres siempre y cuando existan las condiciones necesarias de temperaturas, nutrientes, tiempo etc. A continuación se detalla el procedimiento de replicas, esta se puede realizar según el comportamiento patológico del camarón:

- 1) **Condición Normal:** significa que en la granja existe poca o ninguna afectación (enfermedad ocasionada por bacterias o virus), en este caso la réplica está orientada bajo las siguientes condiciones: 200lt de solución madre mas 800lt de agua mas la adición proporcional de los demás ingredientes hasta completar los 1000lt.
- 2) **Condición Especial:** significa que en la granja existe una media o alta afectación (enfermedad ocasionada por bacteria o virus), se observa una alteración patológica en los camarones, en este caso la réplica está orientada al aumento (dos veces más de la anterior) de la densidad bacteriana probiótica (Bacilos, Levaduras).

##### **3.3.4.1.1 Formulación.**

Este proceso al igual que en el proceso de activación es muy importante debido a que es este producto el que será enviado a las granjas, se inicia de igual manera, con recipientes (tinajas) limpios e inocuos, a continuación se detalla el proceso de replicas a seguir:

1. Adición de 200lt (en condición normal y 400lt en condición especial) de solución madre de probiótico activado.
2. Adición de 8000 lts de agua declorinada.
3. Adición de 20lt de melaza.
4. Adición de 400gr de fertilake.
5. Mantener con aireación continua.



**Nota:** por efecto de contaminación las tinas son cubiertas con plástico negro, esto nos ayuda a evitar posible contaminación por insectos y también una buena fermentación del probiótico.

**3.3.4.2 Duración del Proceso:** el tiempo establecido para realizar una adecuada replica es de 48 horas, aunque se ha observado que la réplica ya es viable a las 24 horas.

**3.3.4.3 Criterios Para Replicar el Probiótico:** Los criterios para aceptar seguir replicando el probiótico son: No presencia de contaminantes químicos como Diesel, Gasolina, Grasa, Aceite, olor no característico de probiótico, altas sospechas de contaminación, etc.

#### **3.3.4.4 Intención de Uso de Probiótico en las Granjas.**

El Probiótico de acuerdo a su intención de uso se divide en dos partes:

**3.3.4.5 Tratamiento del Agua:** si se desea inocular el agua 24 horas antes de la siembra de la post larvas, adicionar 5 galones de Probióticos por hectárea, una sola aplicación.

**3.3.4.6 Tratamiento en camarón:** mezcle el Probiótico con el alimento para camarones, la aplicación de Probiótico es diaria cada vez que se distribuya el alimento a los estanques, esto de la siguiente manera:

**3.3.4.7 Camarones Sanos:** si los camarones están sanos mezcle 4 lt de Probiótico (replica bajo condiciones normales) por quintal de alimento mas melaza diluida en agua (si lo cree necesario).

**3.3.4.8 Camarones Enfermos:** si los camarones presentan ataques bacterianos o virales adicione 5 lt por quintal de alimento más melaza diluida en agua (si lo cree necesario).

Tratamiento con Cal/Agua, Cal/Alimento o con Oxitetraciclina (si es el caso): Durante el tratamiento de cualquiera de los antes mencionados es recomendable suspender el tratamiento de Probiótico y reanudarlos hasta que terminen dichos tratamientos por el cual fue suspendido el tratamiento de Probiótico. (Camanica, S.A. 2010)

#### **3.3.4.9 Beneficios Esperados.**



El beneficio esperado está encaminado a la mejoría económica, el principio es la utilización de organismos microscópicos que nos ayuden a mantener a los camarones estables frente a las diferentes enfermedades a las que están expuesto durante todo lo largo del ciclo de cultivo, el modo de acción de estas bacterias es el siguiente:

- Colonizar el tracto intestinal acidificando el mismo impidiendo las posibilidades de sobrevivencia de bacterias patógenas.
- Compiten con las bacterias patógenas por los nutrientes y así los mantienen bajo control.
- Ocupan lugares donde pudieran fijarse las bacterias patógenas.
- Producen enzimas digestivas que ayudan a digerir los macros y micros nutrientes (azúcares, proteínas, grasas).
- Sintetizan vitaminas.
- Producen sustancias bacteriostáticas, que son activas frente a muchos patógenos.
- Fortalecen el sistema inmunológico.
- Controlan la producción de amoníaco, aminos tóxicas, etc.
- Aumento de producción en el cultivo.
- Bajos factores de conversión alimenticia.
- Aumento de % de sobrevivencias.

### **3.3.5 Recomendaciones.**

El éxito de una producción se logra teniendo unas Buenas Prácticas de Manejo a lo largo de todo el proceso que esta tenga, así como también la toma de decisiones inmediatas a la hora que se presente un problema, el caso de la producción de Probiótico el problema más grave que puede surgir es su contaminación puesto que una vez contaminado este se debe eliminar y esto ocasionaría lógicamente una pérdida, debido a esto se recomienda lo siguiente:



- Lavar y desinfectar continuamente todos los instrumentos u equipos (tanques madres, tinas, mangueras, etc.) utilizados en la preparación de Probiótico antes y después de utilizarlos.
- Mantenerlos en un lugar donde no estén expuestos a contaminarse (combustible, basura, etc.).
- Revisar los insumos y realizar muy bien las medias antes de aplicarlos o realizar las mezclas.
- Chequear constantemente en el microscopio las soluciones madres y replicas así como también constatar el buen estado (olor) de la misma.
- En caso de contaminación: eliminar inmediatamente y lavar/desinfectar el tanque o tina del problema.
- En el caso de las replicas: no dejar pasar mucho tiempo antes de ser aplicadas.

#### **3.3.5.1 Tiempo de vida media del Probiótico.**

Según la empresa que produce el probiótico 3W y las numerosas pruebas realizadas, el tiempo de vida media del probiótico por cada replica es de 30 días sin aireación, se observa que la cepa puede durar hasta 90 días.

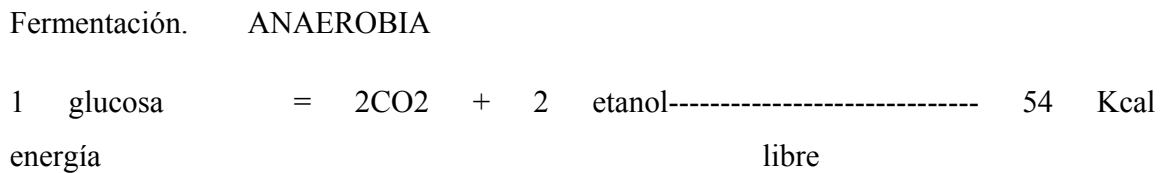
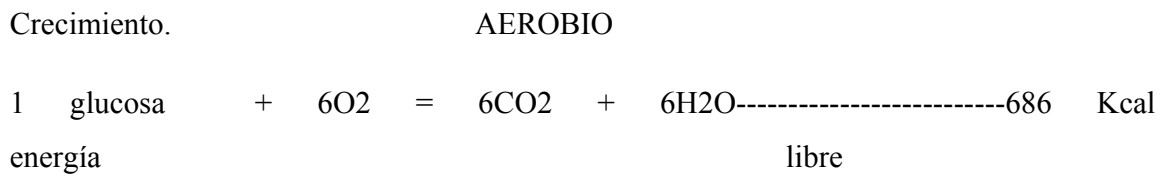
#### **3.3.5.2 Nutrición.**

Los Probióticos se han administrado a los animales en el alimento en la forma de una masa fermentada, el uso de levaduras tiene grandes beneficios, ya que la levadura en sí, proporciona vitaminas del complejo B, minerales, es una buena fuente de proteínas y aminoácidos. Aproximadamente el 40 % del peso de la levadura seca consiste en proteína. La calidad de la proteína de la levadura es excelente, tratándose de una proteína de origen vegetal, y su calidad es equivalente a la soya, pues ambas son ricas en lisina.

Las levaduras y los extractos de levaduras, son alimento de los denominados estimuladores inmunológicos, por lo tanto preparan al animal para una respuesta inmunológica alta cuando se enfrente a un complejo infeccioso.



Las levaduras son hongos microscópicos, o sea organismos unicelulares del reino vegetal, que suelen medir de 5-10 micras, se consideran como organismos facultativos anaeróbicos, lo cual significa que pueden sobrevivir y crecer con o sin oxígeno. La propagación de la levadura es un proceso mediante el cual la levadura convierte el oxígeno y al azúcar, mediante un proceso denominado metabolismo oxidativo. (Camanica, S.A. 2010)



Las principales materias primas usadas para la obtención de levadura *Saccharomices Cereviciae* es la melaza. La melaza de caña de azúcar y de remolacha son las principales fuentes de carbono que promueven el crecimiento de la levadura. El Probiótico crece bajo condiciones aeróbicas (en presencia de oxígeno libre o exceso de aire), puesto que bajo condiciones anaeróbicas (limitación o ausencia de oxígeno) los azúcares fermentables son consumidos en la formación de etanol y dióxido de carbono, lo cual resulta en bajos rendimientos de levadura, bacilos y lacto bacilos. Este proceso de fermentación aeróbico es exotérmico, lo cual indica que el proceso debe ser realizado en un espacio abierto para enfriar y mantener la temperatura bajo 30C, consiguiendo así la temperatura óptima de crecimiento. (Altamirano C, 2010) Compers.

#### IV.- MATERIALES Y MÉTODOS.

##### 4.1 Área de Estudio.





El estudio se realizó en La Estación Biológica Marina Isla Santa Lucía, Las Peñitas- León. Ubicado a 22 kilómetros de la ciudad de León en las coordenadas de 12°21'28.69" N y 87°00'49.30" O elevación 3m, cuyo acceso a dicha instalación es por medio de una carretera pavimentada que va desde la salida este de la ciudad hasta la Costa pacifico del país.

Es una instalación académica de la UNAN-León donde se desarrollan Investigaciones Científicas y Tecnológicas y, además se realizan docencias y prácticas profesionales de los estudiantes de la carrera de Ingeniería Acuícola.

#### **4.2 Montaje del experimento.**

El agua que se utilizó para llenar los 6 tanques cónicos de fibra de vidrio de 0.73 m de Diámetro y 0.94 m de profundidad y el reservorio (2000 lts) se obtuvo del estero Lucía bombeada por una por una motobomba (STA-RITE Motor # C56N2811, HP 2.5KW 1.9, Modelo 1HHG-53HL). Los tanques fueron puestos de dos en dos por cada repetición. La fuente de aireación estaba conformada por un por un blower, (BALDORSPC 36C838W23C1, HP 5, Volt 230, Amp 22.3, Clase y Código F) que oxigenó el agua de Reservorio (Rotoplas capacidad de 2,000 lts agua) a través de una tubería de media pulgada que iba desde el blower hasta el reservorio del experimento. El agua desde el reservorio del experimento hasta los tanques fue transferida a cada tanque por medio de un tubo PVC de 1 plg al cual estaban conectadas pequeñas llaves de pase con manguerillas con el objetivo que el agua ya oxigenada entrara en los tanques por la parte inferior y hubiera una mejor renovación de agua en los tanques. En la parte media de los tanques se colocaron tubos de PVC de 1 plg cortados a la medida de la columna operativa (0.64 m) para realizar el recambio de agua y eliminar el excedente de agua de los tanques de manera que la misma cantidad de agua que vaya entrando al tanque sea la misma cantidad de agua que este saliendo por la parte superior del tubo manteniéndose de manera constante un recambio diario del 100% del total de agua de cada tanque.

El montaje del experimento se realizó en un tiempo máximo de 1 semana y la ejecución de dicho experimento tomó un tiempo de 5 semanas.



Se evaluó el probiótico 3W aplicado a postlarvas, sembrados a una misma densidad. El experimento se realizó en 2 repeticiones para comparar resultados y así tener un menor sesgo de error colocando por cada tratamiento dos tanques, el que consistió en T1- Tanques con aplicación de probiótico y T2- tanques sin aplicación de probiótico todo esto con el objetivo de comparar los resultados obtenidos en ambos casos.

#### 4.3 Proceso de Siembra:

- **Procedencia de larvas:** Las postlarvas fueron traídas del laboratorio Miramar de la empresa Camanica S.A ubicado en el municipio de Nagarote departamento de León.
- **Densidad de Siembra:** Se calculó la cantidad de larvas a sembrar por tanque tomando como referencia una densidad de siembra de 35 pls m<sup>2</sup> en etapa de Post-larvas 25 y con una columna operativa de 0.64 m y teniendo el tamaño de cada tanque se aplicó la fórmula  $\pi \cdot r^2$  dando como resultado que la cantidad a sembrar era de 14 pls en cada tanque.
- **Aclimatación:**

Se procedió a medir los factores físico-químicos tanto del agua en donde se encontraban las post larvas, (pilas de concreto de 3 metros de largo y 2 metros de ancho) como la de los tanques de fibra de vidrio donde serían sembradas posteriormente las post larvas y presentándose los más altos márgenes de diferencias de 2 ppm de salinidad, 5 °C de temperatura, 0.3 ppm de pH. Luego se contaron los 14 organismos correspondientes a cada tanque seleccionándolos con la mayor uniformidad posible en cuanto a talla. Luego se procedió a realizar el peso inicial de los organismos de cada tanque de los cuales se obtuvo un promedio para el primer tratamiento (sin aplicación de Probiótico) de 0.19 gr y para el segundo tratamiento (con aplicación de Probiótico) de 0.17 grs.

Teniendo en cuenta la diferencia de factores físico- químicos entre ambos tanques (agua en que se encontraban y agua de destino de siembra de los organismos) y la literatura usada donde nos hacía referencia que con dos grados de diferencia de sal podría sembrarse los organismos sin dificultades, se procedió a aclimatar tomando en cuenta únicamente como principal factor la temperatura de ambos tanques que como antes se describió fue de 5 grados centígrados de diferencia, se subió dos grados cada media hora y se dejó reposar una media hora antes de subir otros dos grados nuevamente. Se introdujeron los organismos



en cubetas de 20 litros y se le agrego el agua de destino para su aclimatación para que adquirieran la temperatura gradualmente siendo dicho proceso exitoso.

#### **4.4 Descripción del Método de Trabajo.**

##### Determinación de factores físico-químicos

Los factores físicos y químicos del agua de los “tanques” se determinó tomarlos a las 6 am y 6 pm comenzando en la primera semana de sembrado.

##### Salinidad

Para medir la salinidad se utilizó un refractómetro marca REFRAATEC, para calibrar el refractómetro se le puso agua dulce en el prisma de lectura hasta que indico cero salinidades, después se coloca agua de los tanques para obtener la lectura correspondiente.

##### Oxígeno disuelto

Para tomar el Oxígeno Disuelto (OD), se utilizó un Oxigenómetro (YSI -85). Se calibró el Oxigenómetro primeramente introduciéndole el dato suministrado por el refractómetro (Salinidad). Se introdujo el electrodo hasta unos 15 centímetro debajo de la superficie del agua del tanque y se realizó la medición. Estos datos se anotaron en el formato de campo correspondiente.

##### Temperatura

La temperatura se tomó con el oxigenómetro al mismo tiempo de tomar el oxígeno disuelto. Se introdujo el sensor térmico del oxigenómetro para determinar la temperatura del agua, estos resultados se anotaran en formato respectivo.

##### pH.

El pHmetro se calibró con solución buffer 4-7 e introduciéndolo posteriormente en agua para comprobar la efectividad de la calibración llevarlo a un pH de 7 y se prosiguió a tomar dicho parámetro.

Para medir el pH se utilizó un Peachimetro (pHep +. by HANNA.) se tomó una vez al día a las 12 del Mediodía.

**Nota:** Cada vez que se tomaron los parámetros se desinfectaron los aparatos de medición con yodo para mejor bioseguridad de los organismos.



Se hicieron dos envíos de los cuales se hizo un promedio por motivo de q los dos reunían las características necesarias:

**Probiótico procedente de solución madre. Elaborado 27/09/10 y 11/10/10**

Tipo	Conteos	Mínimos
Bacilos	25.56 millones cel/ml	10 mil cel/ml
Levaduras	9.25 millones cel/ml	2 mil cel/ml

**4.5 Procedimiento para preparación del probiótico 3W: Utilizado en CAMANICA S.A**

Es una etapa crítica e importante, se debe realizar con precisión las medias de peso y volumen indicadas anteriormente en el proceso de activación, se inicia con recipientes limpios y con la mayor inocuidad posible.

A continuación se detalla el proceso de activación y soluciones madres:

- 1) Pesar/ Medir ingredientes.
- 2) Subir nivel a 5000lt del tanque con 1000 lt de agua clorada.
- 3) Declorinar con acido ascórbico a proporción de 35gr/1000lt de agua.
- 4) Verifique la ausencia de cloro realizando una prueba rápida con Ortotoloidina.
- 5) Adicione 20lt de melaza disuelto en los 500lt de agua.
- 6) Adicione 8kg de 3W
- 7) Mantener con aireación continúa durante 48 horas, luego subir nivel a 1000lt siempre con aireación hasta cumplir con las 96 horas de proceso de activación.
- 8) Adicionar 20lt de melaza, 40gr de fertilizante (FERTILAKE) y aforar con agua declorinada hasta los 1000lt en cada uno de los tanques.
- 9) Mantener con aireación continua durante 48 horas.
- 10) En este punto ya se pueden realizar replicas de cualquiera de los 5 tanques madre, una vez realizada la réplica se afora siempre a 1000 L aplicando siempre proporcionalmente melaza, fertilake, agua declorinada. **Camanica, S.A. 2010**

**Nota:** En la empresa Camanica SA. Se utilizan solo 2 Kg de probiótico 3W en las mismas proporciones de los demás ingredientes según su criterio los resultados han sido muy buenos además por cuidar su economía siempre y cuando en proceso de activación se



realice con todas las medidas de sanidad y apego al protocolo de trabajo tanto de la empresa proveedora como de la que compra el producto. Dicho cambio en la cantidad de probiótico utilizado en la activación del mismo ah sido estipulado después de casi 3 años de pruebas y reflejándose la eficacia de los resultados.

#### **4.5.1 Infestación con Vibrión.**

Antes de infestar con Vibrión a todos los organismos de cada tanque, se realizó un análisis bacteriológico con Agar TCBS, sacando un organismo de cada tanque y a estos se les extraían el hepatopáncreas y se sembraba en los platos petri ya preparados con el Agar.

La infestación con Vibrion se hizo en un tanque de cada tratamiento y se realizo de la siguiente manera:

Se solicitaron platos con cepas de Vibrio a la granja Salinitas de la empresa SERVICONSA del grupo PESCANOVA. Luego se extrajeron las colonias y se hizo un caldo con el agua de cada tanque en un recipiente de 10 lts de agua y posteriormente se disolvió en el reservorio del experimento para que la contaminación de cada tanque fuese de una manera uniforme. Se comprobó la efectividad de la infección inducida por medio de los análisis bacteriológicos que se le realizaron en agar TCBS a los organismos en el hepatopáncreas dos días después de la infección y observándose los resultados a las 24 horas de la inoculación.

#### **4.5.2 Aplicación del Probiótico 3W.**

La aplicación del probiótico se realizó de la siguiente manera:

Se le añadió probiótico previamente preparado al alimento a una proporción de 20 lts por quintal (ej: en la primer semana se aplicó 60 gr de alimento al día al cual se le añadieron 27 ml de Probiótico tomando como referencia la proporción antes mencionada y se alimento con este al segundo tratamiento del experimento con el objetivo de comparar los efectos benéficos del uso del probiótico.

#### **4.5.3 Examen Bacteriológico.**

Se realizó en platos petri preparados con Agar TCBS en el cual se sembró parte del hepatopáncreas del camarón. Se seleccionó realizar el examen en agar TCBS debido a que dicho medio es el que brinda mejores condiciones para que crezcan las



colonias bacterianas en especial las del genero *Vibrio* sp. De las cuales las verdes pertenecen a *Vibrio* parahemolítico y las de color amarillas a *Vibrio* alginolítico, la siembra se realizó una vez por semana los días jueves por la mañana, así mismo se le realizo pruebas al agua del reservorio para verificar la cantidad de bacterias del genero en estudio que entraban naturalmente provenientes del estero. El agar TCBS se prepara de la siguiente manera:

#### **4.5.4 Medio Tiosulfato citrato bilis sacarosa.**

Medio diferencial para el género *Vibrión* sp:

Procedimiento:

- ❖ Se pesa la cantidad requerida de acuerdo al número de platos que se deseaba elaborar, y se disolvió en agua Destilada en un matraz.
- ❖ Se puso a calentar en una cocina (hasta ebullición); se dejó enfriar hasta una temperatura de 45 °C.
- ❖ Posteriormente se vacía en cajas de petri (Aproximadamente 25 ml/plato de 90x10). Se espera a que Gelifique.
- ❖ Posteriormente se tomaron dos mecheros con alcohol puro y se encendieron para crear una atmosfera de calor y hacer la inoculación de una forma más esterilizada y para evitar la inclusión de bacterias y otros microorganismos que puedan errar los datos que esperábamos.
- ❖ Se tomó una pequeña porción del hepatopáncreas el cual fue sembrado en forma de zigzag en el plato con agar TCBS.
- ❖ Posteriormente de la siembra se envolvieron en papel aluminio y se guardaron en un lugar seco e inocuo.
- ❖ A las 24 horas después de la siembra se contaron la cantidad de colonias verdes y amarillas y se plasmaron en un formato previamente elaborado y se procedió al análisis.

**Nota:** El agar TCBS a utilizar fue Difco™ TCBS Agar. 10grs de Salinidad. No requirió de esterilización.



**Los datos Obtenidos en los platos petri se interpretaron de la siguiente manera:**

<b>Tipos de UFC en agar TCBS</b>	<b>&gt; 103</b>	<b>&lt; 103</b>
Verdes > 50%	Serio	Elevado-serio
Verdes < 50%	Elevado	Normal-elevado
Amarillas	Normal-elevado	Normal

**Fuente: Dr. Bruno Gómez-Gil, CIAD, AC.**

#### **Análisis por ANOVA:**

El análisis de los datos de nuestro trabajo investigativo se realizó por medio de una varianza para comparar los resultados y obtener una media a fin de que los resultados obtenidos sean con el menor sesgo de error posible para la credibilidad de nuestro experimento.

### **4.5.5 Estudios Biológicos.**

#### **4.5.5.1 Muestreos de Crecimiento.**

Los muestreos de crecimiento se realizaron una vez por semana los días jueves por la tarde tomando 5 organismos por cada tanque y depositaban en un recipiente para pesarlos en una balanza Gramera secándolos primeramente y colocándolos en una trozo de papel toalla para determinar el peso, luego se midieron con una regla y se anotaban en un formato pre elaborado.

#### **4.5.5.2 Muestreo poblacional y sobrevivencia.**

Se determinó contando directamente la cantidad de organismos en el tanque ya que a simple vista se lograba observar y se sacaba el porcentaje de sobrevivencia dividiendo la cantidad de organismos sembrados inicialmente entre la cantidad encontrada y se multiplico por 100 y los datos se anotaban en la tabla correspondiente:



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 5.1 Factores Físico-químicos.

Son importantes ya que son indicadores de las condiciones adversas y estresantes con las que se enfrentan los organismos en su cultivo sobre todo cuando se está en presencia de enfermedades de todo tipo.

En los tratamientos T1 con aplicación de probiótico y T2 sin aplicación de probiótico los factores físico-químicos tuvieron un comportamiento similar tanto por la mañana como por la tarde demostrando que la aplicación de probiótico no influyó de ninguna manera sobre dichos factores. Además cabe señalar que por la ubicación del experimento no hubo mucha incidencia de radiación solar sobre los tanques del experimento.

#### 5.1.1 Oxígeno Disuelto.

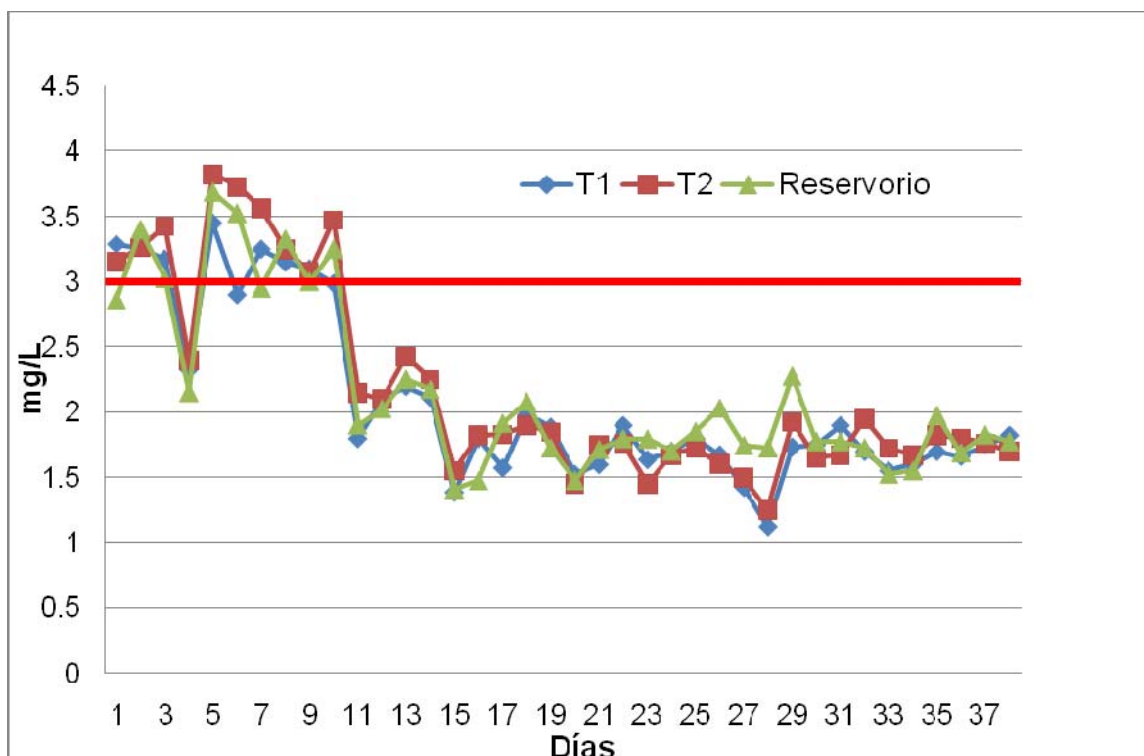
En el experimento se logra observar que para los dos tratamientos el oxígeno presentó un comportamiento casi uniforme estando en un intervalo óptimo según Tórriz, (1991) por encima de los 3mg/L, en los primeros 10 días exceptuando el día 4 que fue de 2.2mg/L a 2.4mg/L y teniendo un descenso de 3.5mg/L a 2.3mg/L y 1.9 mg/L en el día 11 en los tanques con y sin aplicación de probiótico 3W siendo los oxígenos más bajos por la mañana principalmente debido a la ineficiencia del sistema de aireación utilizado en el experimento.

Las concentraciones más bajas de oxígeno disuelto en las aguas del experimento fueron de 1.2 mg/L en el día 28 del cultivo, siendo este factor uno de los principales motivos por los cuales el camarón no crece como debería, además de brindar condiciones estresantes para los organismos y de esta manera haciéndolo susceptible a adquirir cualquier enfermedad, (Villalón, 1994).





En estanques con una baja crónica en la concentración de oxígeno disuelto, los camarones comerán menos y no habrá una conversión alimenticia comparable con la de un estanque con niveles normales.



**Figura 1. Dinámica del Oxígeno Disuelto promedio en los dos tratamientos y el reservorio.**

A diferencia de la temperatura, el oxígeno disuelto (OD) es un factor ambiental regulador del metabolismo de los camarones. Su papel regulador está dado por la participación directa en la obtención de energía a partir de la respiración, por la fosforilación oxidativa.

En este proceso (fosforilación oxidativa) el oxígeno es el último aceptor de electrones de la cadena respiratoria, permitiéndoles a los camarones, aprovechar al máximo la energía contenida en los enlaces de las moléculas de carbono que son metabolizadas por el ciclo de Krebs (ciclo de los ácidos tricarbónicos). Una reducción relativamente pequeña de oxígeno disuelto de 5 a 4 mg /L provoca una reducción de hasta un 25% en la energía

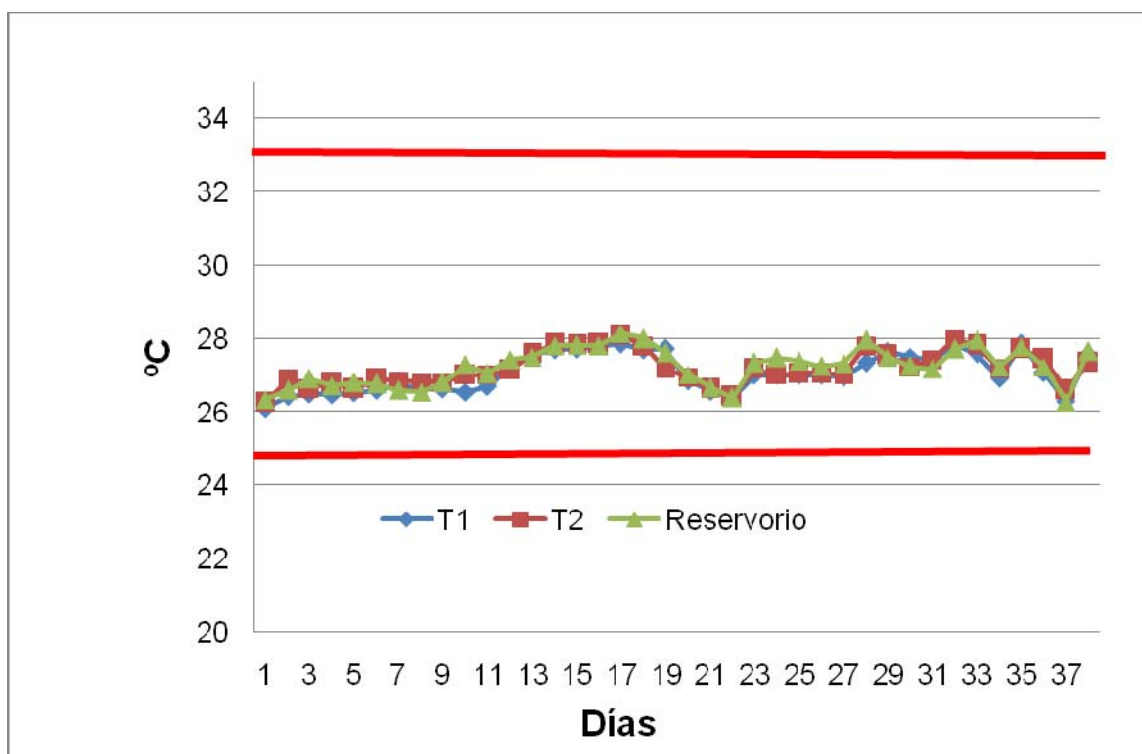


canalizada hacia la producción de biomasa y en condiciones de oxígeno por debajo de los 3mg/L se produce un freno metabólico en los camarones. (Chen, J. C. 1993).

### **5.1.2 Temperatura.**

La temperatura es el factor ambiental más importante en la vida de cualquier organismo, los ajustes bioquímicos o fisiológicos que ocurran en cualquier adaptación, dependerán de reacciones metabólicas que involucren enzimas dependientes totalmente de este factor para su desarrollo.

En ambos tratamientos y en el reservorio la temperatura se mantuvo en intervalos óptimos según **Martínez- Lin 1994**, por encima de los 26 grados centígrados presentándose las máximas temperaturas de 28.3 °C e los días del 15 al 18 y las más bajas de 26.2 °C en los 3 primeros días del experimento y en los 3 últimos del experimento, reflejándose una variación significativa entre los días 28 al 36 que fueron días nublados y en algunos casos con presencia de lluvia. No se presentaron temperaturas elevadas que pudieran afectar negativamente el experimento, por el contrario las temperaturas más bajas del experimento contribuyeron al incremento de afectación por la enfermedad de la Vibriosis.



**Figura 3. Comportamiento de la Temperatura promedio en T1,T2 y el Reservorio .**

La Q10 es la relación metabolismo / temperatura definido como el incremento de la tasa respiratoria asociada con un incremento en la temperatura de 10°C. La tasa metabólica varía con la temperatura corporal (2-3 veces por cada 10°C).

El efecto de la temperatura y la cantidad de oxígeno disuelto se relacionan ampliamente. En organismos poiquilitermos la temperatura afecta la tasa metabólica y consecuentemente la demanda de oxígeno, en este caso, los organismos pueden modificar su capacidad oxireguladora en función de la cantidad de oxígeno disuelto, los organismos que presentan esta adaptación se denominan oxiconformadores. (Villareal, H., Ocampo, L., 1993)

### 5.1.3 Salinidad.

Como lo muestra la gráfica de los niveles de Salinidad en los dos tratamientos para los días desde el 1 al 10 que la salinidad se mantuvo por debajo de 30 o/ooS se presentaron los mejores niveles de oxígeno reflejando de esta manera que dicho factor influyó



negativamente sobre los organismos ya que desde el día 11 al 24 la salinidad incrementó por encima de los 30 o/ooS afectando directamente en la osmoregulación y por consiguiente inhibiendo el óptimo crecimiento de los camarones en el experimento por falta de consumo de alimento al tratar de mantener su salinidad corporal además de conjugarse con la poca disponibilidad de oxígeno disuelto **Martínez - Lin 1988**.

Para el día 27 y 28 hubo una notable baja en la salinidad (hasta 25 o/ooS) por motivo principalmente de precipitación y notándose un incremento del oxígeno en esos días.



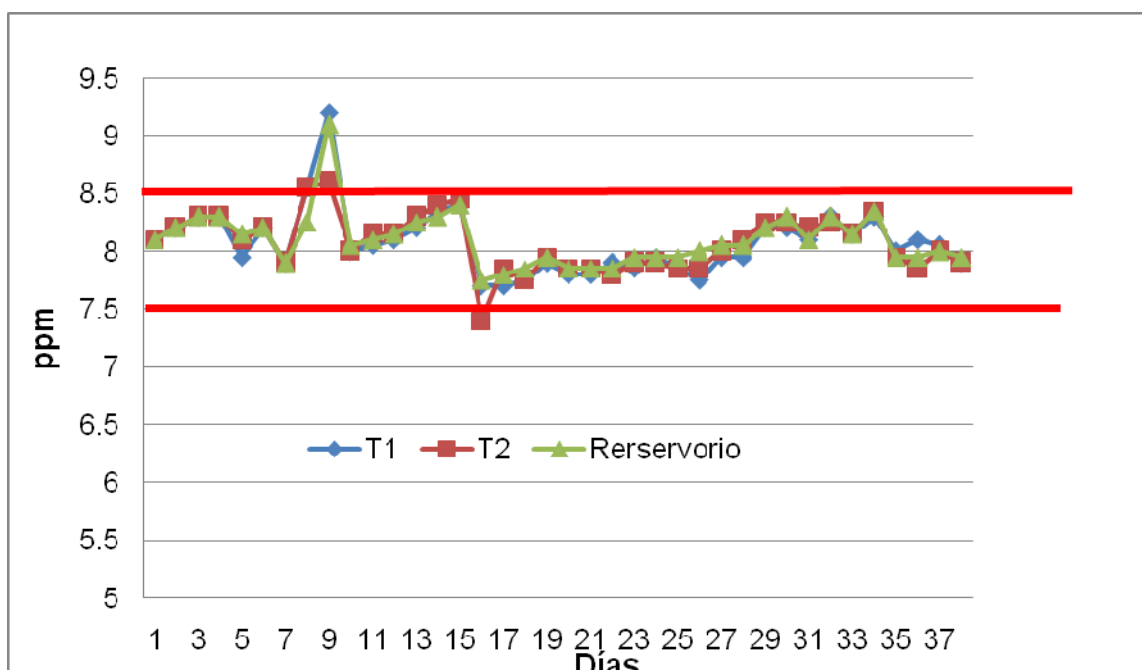
**Figura 2. Comportamiento de la Salinidad promedio en T1, T2 y agua de Reservorio.**

Es indispensable que este factor se encuentre en los intervalos de entre 15 a 35 o/ooS ya que de lo contrario puede ocasionar grandes problemas de estrés en los camarones, bajas de oxígeno, disminución en el crecimiento de los organismos y altas mortalidades si se conjuga con temperaturas altas o bajas (Balcázar J, 2002).

Aunque el *Litopenaeus vannamei* y *Penaeus monodon* y otras especies pueden ser cultivados exitosamente en estanques costeros con salinidad entre 1 y 40 o/ooS, se produce mejor con una salinidad superior a 5 o/ooS y la mayoría de granjeros la prefieren entre 20 y 25 o/ooS. (Brito, R., Chimal, and Rosas C, 2000)



### 5.1.4 pH.



**Figura 4. Comportamiento del pH en ambos tratamientos y en el Reservorio.**

Según lo ha demostrado la experiencia y la literatura revisada el intervalo óptimo de pH debe permanecer entre los 7.5 y 8.5 ppm (Marcos Silva, 2007), dicho factor indica cuan ácida o básica se encuentra el agua del cultivo.

Un pH de 7 no se considera ni ácido ni básico sino neutro. Cuando el pH es inferior a 7 el agua es ácida, y cuando el pH es superior a 7 el agua es básica. La escala de pH es de 0 a 14, mientras más lejano sea el pH de 7 el agua es más ácida o más básica. (Martinez E, June, 1988)

El nivel de pH se mantuvo entre los rangos óptimos a excepción del día 10 que sobrepasó los niveles llegando hasta los 9.2 ppm en los 2 tratamientos y en menor escala de 7.4 para el tratamiento 2 lo cual no afectó en gran manera ya que solo se presentaron por poco tiempo ya que el excedente de materia orgánica se eliminaba constantemente sifoneando así como que los procesos de muda se realizaron de forma normal. Lo que nos lleva a decir que el pH no influyó de manera negativa en el experimento.

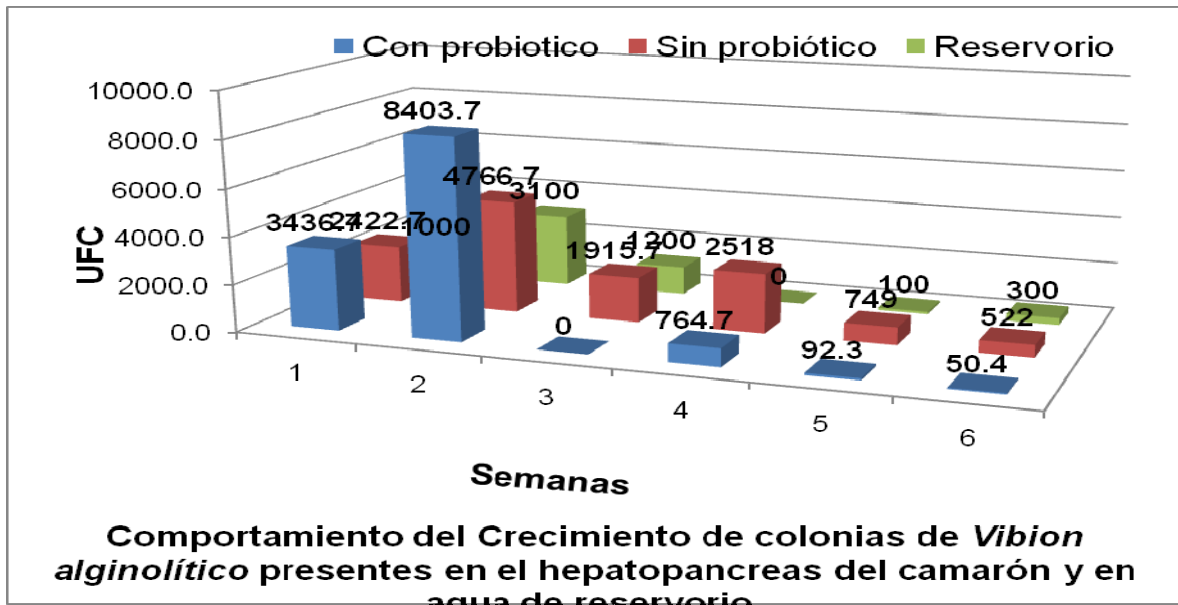


### **5.1.5 Variación en la cantidad de bacterias (*Vibrión. Parahemolítico* y *Vibrión alginolítico*) en el hepatopáncreas del camarón y en agua del Reservorio.**

Como puede apreciarse en las figuras 5 y 6 a continuación el crecimiento de colonias de *Vibion alginolítico* en tanques con aplicación y sin aplicación de probiótico 3W fue el esperado ya que según las dos etapas del experimento en la primera etapa o semana 1 ya se encontraban infectados los organismos en estudio y de igual manera había presencia de las bacterias en el agua del reservorio. Pruebas previas a la infección.

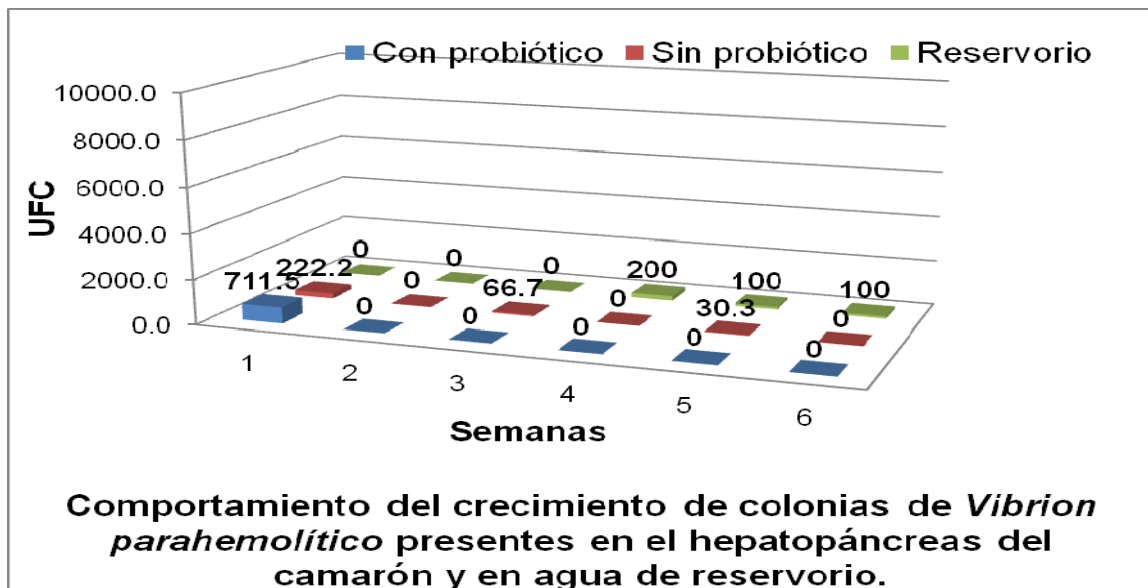
En la segunda etapa o semana 2 de infección tuvieron un notable incremento en las Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en los dos tratamientos siendo los más altos los tanques en los cuales se aplicaría probiótico en la tercera etapa o semana 3 siendo de 8404 UFC según lo mostraron las pruebas realizadas al hepatopáncreas de los camarones en agar TCBS. Pruebas al momento de la infección.

Las colonias fueron disminuyendo gradualmente durante las siguientes semanas, las UFC para los tanques con aplicación de probiótico teniendo un pequeño incremento en la semana 4 de 764 UFC, debido principalmente a la inhibición del consumo de alimento con probiótico por la baja concentración de oxígeno disuelto en el agua. Pruebas al momento de la aplicación de probiótico.



**Fig. 5. Crecimiento de colonias de *Vibrio alginolítico*.**

Luego, disminuyó nuevamente en las semanas 5 y 6 siendo de 92 a 50 UFC, mientras que el comportamiento del crecimiento de colonias para los tanques sin aplicación de probiótico fue constante en todas las semanas y se relacionaban con respecto al crecimiento de colonias en el agua del reservorio y presentándose la mayor cantidad de UFC en la semana 2 en que se realizó la infección que fueron de 4756 UFC y la más baja de 522 UFC en la semana 6.





### **Fig. 6. Crecimiento de colonias de *Vibrion parahemolítico*.**

Para el análisis de TCBS que se aplicó al agua de reservorio, se demostró que las bacterias del género *vibrio* siempre están presentes en el medio acuático natural ya que tuvo un comportamiento similar al de los tanques sin aplicación de probiótico, siendo de 1000 a 3100 UFC en la semana 1 a 2 respectivamente, disminuyendo en las semanas restantes desde 3100 a 1200 y 300 UFC en la semana 6 o semana final del experimento.

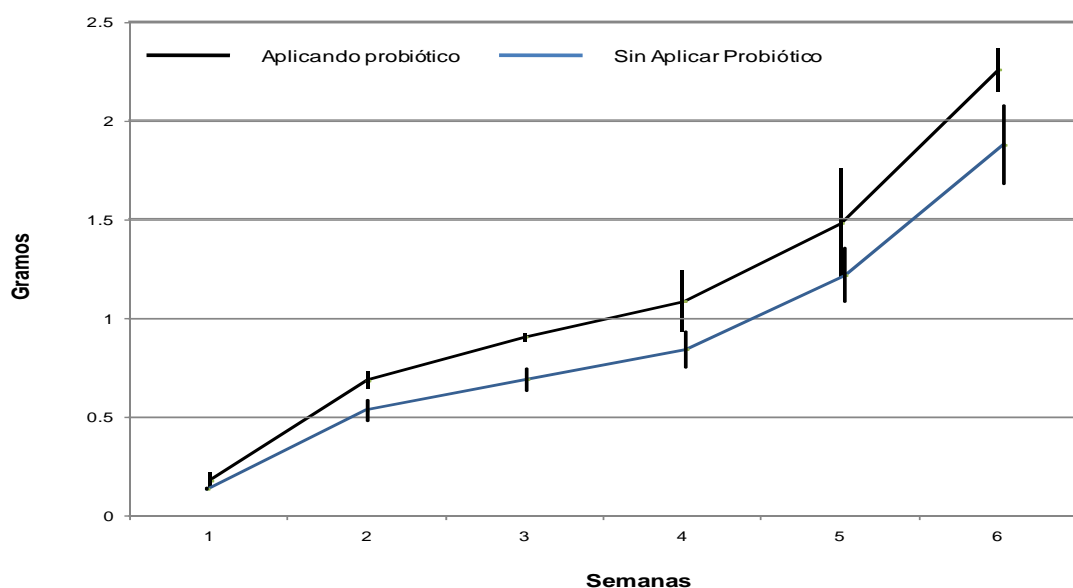
Al comparar las respuestas de las dos especies de *Vibrios* estudiadas se observa una diferencia clara en las Unidades Formadoras de Colonias. Mientras los *Vibriones alginolítico* registra valores entre 3,000 a 7,000 UFC en las dos condiciones experimentales mas el testigo, los *V. parahemolítico* registra valores que no sobrepasan las 711 UFC en las condiciones mas altas al inicio del experimento.

Por lo tanto, los *Vibriones alginolíticos* (colonias amarillas) son menos sensibles a la presencia de probióticos 3W que los *V. parahemolítico* (colonias verdes).

### **5.2 Crecimiento de los camarones entre los tanques con y sin aplicación de probiótico 3W.**

Al comparar los crecimientos de camarones sometidos a las dos condiciones experimentales, encontramos que en las aguas de los tanques en los que se aplicó probiótico el crecimiento de los camarones fue mayor, desde el inicio hasta el final del experimento, que los crecimientos registrados en tanques donde no se aplicó probiótico 3W **Yoon y Reinoso (1982)** señala que teóricamente en un cultivo de camarón marino del género *Litopenaeus* se espera encontrar incrementos mínimos por semana que correspondan aproximadamente a 1 gramo semanal.





**Fig. 7. Comparación del crecimiento de camarones en tanques con y sin aplicación de probiótico.**

La diferencia significativa es notoria en la gráfica en todas las semanas a excepción de la quinta en donde no se encontró diferencias significativas ( $P > 0,5$ ).

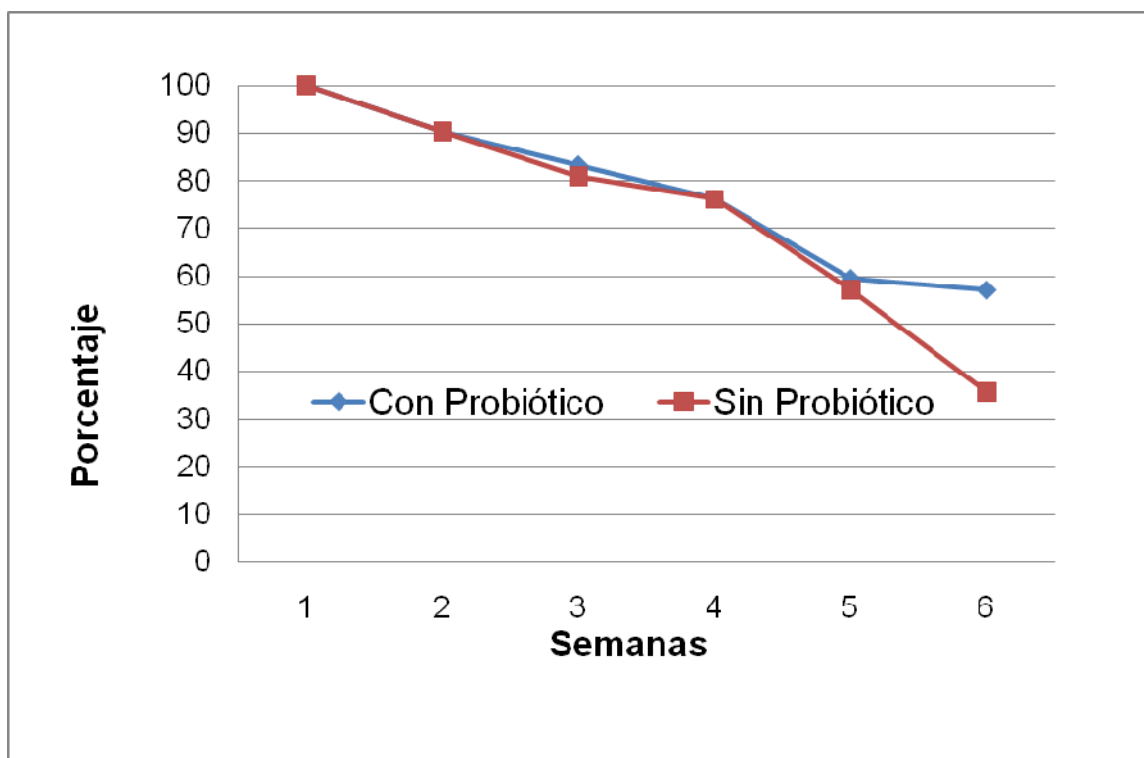
En la semana 6 hubo un crecimiento superior en el tratamiento con aplicación de probiótico además de presentarse una gran diferencia entre los pesos. El bajo crecimiento al igual que la sobrevivencia está ligado a las concentraciones bajas de oxígeno disuelto y a veces sub-letales en el agua del experimento ya que en concentraciones reportadas en el acápite de oxígeno disuelto inciden en el consumo de alimento y por ende la ingestión también del probiótico y su efecto sobre las bacterias patógenas presentes en el organismo. Se inicio con un peso promedio para cada tratamiento de 0.17gr para T1 (con aplicación de Probiotico) y 0.19gr para T2 (sin aplicación de Probiotico) y un peso final de 2.3gr para el tratamiento con aplicación de Probiotico y de 1.9gr para el tratamiento sin aplicación de Probiotico.

### 5.3 Sobrevivencia.



El porcentaje de sobrevivencia de los camarones en las aguas de los tanques con aplicación de probiótico fue de 57.14% lo que equivale a 8 organismos teniendo como referencia que la cantidad inicial sembrada fue de 14 pls por cada tanque a densidad de siembra de 20 pls por metro cuadrado.

En densidades de siembra más altas los camarones están propensos a sufrir estrés debido a que existe mayor competencia por alimento, así también estos producen mayor cantidad de desechos, lo que provoca mayor descomposición de materia orgánica en el fondo y por ende acidificación del medio.



**Fig. 8. Comparación del porcentaje de sobrevivencia.**

En las aguas de los tanques sin aplicación de probiótico, la sobrevivencia de los camarones presentó una disminución similar a la de los tanques con aplicación de probiótico en las primeras dos semanas, se calculó una sobrevivencia de 35.7% al final del experimento lo que quivale a 5 camarones por cada tanque en promedio.



La sobrevivencia es un factor muy importante al momento de determinar si el cultivo fue ó no un éxito, dicho factor es resultado de la buena u óptima relación entre los diferentes factores y parámetros que intervienen en el cultivo de camarón. (Altamirano, C 2008).

Cabe señalar el factor ambiental oxígeno disuelto, el cual influyó negativamente sobre la sobrevivencia ya que se mantuvo en niveles subletales afectando la fisiología de los camarones, de manera que afectó a ambos tratamientos estresando a los organismos y dejándolos de este modo susceptibles a que las enfermedades de la vibriosis tuvieran un impacto más letal sobre los camarones en experimento, debido a que en dichas condiciones de oxígeno se hace más difícil la asimilación del alimento, procesándolo casi en su totalidad como pseudoheces, lo que nos indica que no lo utiliza para incremento de la biomasa del camarón y por consiguiente no asimila tampoco el probiótico que le es suministrado a través del alimento, evitando de esta manera que las bacterias beneficiosas que se encargan de amortiguar el impacto infeccioso producido por bacterias patógenas del género *Vibrio* ataquen al organismo incrementando de esta manera la mortalidad.



## VI. CONCLUSIONES.

1. Al analizar los parámetros físicos y químicos del agua en los tanques del experimento se concluye:
  - El oxígeno para los tanques con y sin aplicación de probiótico se mantuvieron casi uniformes presentándose desde 3.9 mg/L en los primeros 10 días y de 2 mg/L hasta 0.9 mg/L en los 28 días restantes siendo este parámetro el principal factor limitante para el crecimiento de los organismos en cultivo ya que funcionó como freno metabólico para los organismos ya que evitó una buena asimilación de los nutrientes presentes en el alimento suministrado.
  - La temperatura para todos los tanques oscilo entre los 25.6 y los 29.1 °C considerándose estos valores normales ya que se mantuvieron dentro del intervalo óptimo de temperatura según lo muestra nuestra literatura revisada.
  - En el caso de las salinidad presentó un comportamiento óptimo entre los 23 y 34 ppm, cabe señalar cuando se presentaron las salinidades más altas los oxígenos disminuyeron constantemente siendo estos los más bajos del experimento.
  - El pH mantuvo un comportamiento dentro del intervalo óptimo a excepción de los días 7, 8, 9 que se presentó por encima de 8.5 ppm entre los 8.8 y 9.2ppm siendo estos los más significativos de todo el experimento.
  
2. Al analizar los datos reflejados por los exámenes bacteriológicos en agar TCBS se obtuvieron los siguientes resultados para el conteo de colonias de *Vibrión Alginolíticos*: En la etapa inicial se presentaron desde 2600 hasta 4700 UFC en los tanques donde se aplicaría probiótico y 1782 hasta 3508 UFC en los tanques donde no se aplicaría probiótico indicando esto que los organismos de experimento estaban infectados ya desde su siembra además de ser los tanques donde se aplicaría probiótico los más afectados y se comprobó un incremento en la segunda etapa ó etapa de



infección que fue desde 7525 hasta 9326 UFC y de 3500 a 7200 UFC con y sin aplicación de probiótico respectivamente reflejando de esta forma que la infección fue efectiva, en la tercera etapa de aplicación de probiótico se observó una disminución gradual semanal en las UFC hasta el final del experimento en comparación con las dos primeras etapas presentándose las cantidades mayores de 1166 a 2500 UFC, donde no se aplicó probiótico ya que donde sí se aplicó hubo un crecimiento entre 1200 a 1915 UFC en la semana 3 del experimento demostrando esto la efectividad y rápida acción del uso del Probiótico, en la semana 4 se notó un incremento que osciló entre los 765 UFC y 2518 así mismo en la semana 5 disminuyó ya que la cantidad más alta fue de 749 UFC y finalizando con 522 UFC y los resultados de los conteos de colonias de *Vibrión Parahemolíticos* fueron de 711 en la primera semana para el tratamiento con aplicación de Probiótico y no presentando ningún crecimiento en la segunda semana hasta en la semana 3 que fue de 67 UFC en el tratamiento sin aplicación de Probiótico y bajó a 31 UFC en la semana 4 en el tratamiento 2 y para el resto no se presentó crecimiento y en cuanto al reservorio el conteo inicial fue de 1000 UFC e incrementó a 3000 UFC en la semana 2 o etapa de infección y el resto del experimento fue de 200 el más alto. Según las pruebas en Agar TCBS la infección a camarones sometidos a tratamiento con probiótico 3W fue efectiva ya que no incrementó el número de UFC presentes en el organismo de los camarones reflejándose un notable incremento de colonias en los resultados de las pruebas realizadas entre la semana 2 y 3, sin mencionar que los camarones estaban enfermos antes de la siembra, fueron disminuyendo gradualmente en las semanas restantes en los tanques donde sí aplicó probiótico.

3. El crecimiento entre tanques con y sin aplicación de probiótico 3W tuvo una ligera diferencia significativa ya que a parte de la semana 5 en todo el experimento no hubo intercepto entre los rangos inferiores del tratamiento con aplicación con los rangos superiores del tratamiento sin aplicación de probiótico con pesos de diferencia de 0.4 gr entre ambos tratamientos. En los tanques con aplicación de probiótico hubo un incremento semanal promedio de 0.5 grs y en tanques donde no hubo aplicación un incremento promedio semanal de 0.3 grs, lo que nos lleva a decir que el uso de



probiótico 3W fue efectivo ya que incidió positivamente y se reflejó en que en los tanques en donde se aplicó dicho probiótico los crecimientos fueron ligeramente es que en tanques donde no hubo aplicación y hubiesen sido mucho mejores si la incidencia de algunos factores ambientales hubiesen sido los indicados, como es el caso del oxígeno disuelto que incidió negativamente. Teniendo pesos iniciales de 0.17 y 0.19 grs para T1 y T2 respectivamente y finalizando con pesos de 2.4 grs y 1.9 grs para T1 y T2 respectivamente.

4. El porcentaje de sobrevivencia fue en ambos tratamientos muy similar y no hubo diferencia significativa en las primeras semanas teniendo en cuenta que para cada prueba bacteriológica en agar TCBS se extraía un organismo de cada tanque para los análisis correspondientes además que por las condiciones estresantes a las cuales estaban sometidos los organismos fue difícil obtener mejores resultados ya que la incidencia de los factores como oxígenos bajos, temperaturas bajas contrastadas con salinidades por encima de los 30 ppm crearon las condiciones idóneas para que los organismos tuvieran al fin del experimento apenas una diferencia aproximada de 21.4% siendo 57.1% y 35.7% para tanques con y sin aplicación de probiótico respectivamente.



## VII. RECOMENDACIONES.

- En condiciones de densidades altas, poca intensidad solar y además condiciones estresantes y se requiera de aireación constante es recomendable poner la aireación directamente en cada tanque con piedras difusoras sobre todo si se está trabajando en presencia de enfermedades para mejorar los niveles de oxígeno disuelto y de esta manera haya mayor crecimiento, sobrevivencia así como disminuir el estrés en los camarones y por consiguiente susceptibilidad a enfermedades de todo tipo ya que poniendo la aireación de esta forma mejoran los niveles oxígeno de los tanques.
- Es conveniente asegurarse de la aceptación del probiótico por parte de los organismos al momento de suministrar el alimento en el alimento para que haya un buen consumo del mismo y del probiótico.
- Es recomendable asegurarse de la procedencia, y estado del producto a aplicar, de las contraindicaciones y de la fecha de caducidad antes de aplicarlo.
- Se deben realizar pruebas más exhaustivas sobre el grado de colonización del tracto digestivo y la incidencia al medio ambiente por parte de bacilos y levaduras contenidas en el probiótico usado.



### VIII.- BIBLIOGRAFÍA.

- Altamirano C, 2009.** Evaluación de la efectividad del probiótico sanolife pro en estanques de cultivo de camarones *Litopenaeus vannamei* en la granja Acuicultura Torrecillas. Chinandega, Nicaragua
- Anónimo: 2007.** Infección por vibrión, 17 edición, Washington DC, p 79.
- Balcázar J. y Sotomayor M. 2002.** Evaluación de mezclas de cepas probióticas en juveniles *Litopenaeus vannamei*. Fundación Cenaim – Espol. Quito, Ecuador: 25.
- Brito, R., Chimal, and Rosas C.** Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda; penaeidae). Journal Experimental Marine Biology and Ecology 244, 253-263. 2000.
- Camanica, S.A. 2010.** Proceso de producción de Probiótico. Chinandega, Nicaragua.
- Cedeño R. y Rodríguez J, 15 de julio del 2006.** Uso de los Probióticos *Vibrio hepatarius* (P62) y *Bacillus* sp. (P64) en el cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei*. 15 15
- Chen, J. C. and Lai, S. H.** Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *P. japonicus* Bate. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 165, 161-170. 1993.
- Clifford, H.C. 1999.** Martine shrimp pond Management: a review. Proceeding of the special session on shrimp farming. (J. wyban, editor). World aquaculture society, Baton rouge, LA.





- Douillet, P. (2000).** Bacterial additives that consistently enhance rotifer growth under synxenic culture conditions 2. Use of single and multiple bacterial probiotics. *Aquaculture* 182:241-248
- FAO 16/07/88 al 24/12/88 .** Asistencia para el Desarrollo del Cultivo del Camarón, Cuba. Consultoría en cultivo de camarón. 1ra misión.
- FAO, 1988.** Consultoría del cultivo de camarón. Departamento de Pesca.
- Gómez B, 2003.** Técnicas de Bacteriología, Técnicas de Bacteriología, Análisis en Fresco, Calidad Análisis en Fresco, Calidad de Agua y Buenas Prácticas de Agua y Buenas Prácticas de Manejo y Bioseguridad de Manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras. CESASIN. Mazatlán México.
- Herrera, C. 1999.** Crecimiento de camarones *Litopenaeus vannamei* en estanques manejados con sistema semi-intensivo. Estero real, Nicaragua. Periodo transitorio seco-lluvioso, tesis de licenciatura, Nicaragua. Unan-León.
- Internet 1.** <http://www.k12science.org/curriculum/dipproj2/es/fieldbook/oxigeno.shtml>
- Katia Abarca y Patricio García, 2007.** Centro de Información Toxicológica, Universidad Católica. Lima, Perú.
- Limsuwa C, 2005.** CULTIVO INTENSIVO DEL CAMARON BLANCO. Nicovita.
- Marcos Silva, 2007.** Microbiología y parasitología, Universidad Andrades Bello, Chile.
- Martinez and L. A. Soto. In press.** Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *P. schmirri* postlarvae (PL, o., 8) exposed to salinity changes. *Aquaculture*.
- Martinez E, June, 1988.** Lethal Low Dissolved Oxygen Concentrations for Postlarvae and Early Juvenile *Penaeus setiferus* at Different Salinities and pH. Vol.29, No. 2
- Patrick Murray. 2007.** Microbiología Medica, cuarta edición, Chile.



- Peeters y Rodríguez, 1999.** Manual de cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Ecuador.
- Saborío, A. 2000.** La Camaronicultura en Nicaragua. UCA. Sexto encuentro de pequeños productores de camarón. Chinandega
- Silva, M 2007.** Vibrio Parahaemolyticus. Universidad Andrés Bello, Dep. Microbiología y Parasitología BIO058. Santiago, Chile.
- Soluap, E. 1998.** Alternativas de cultivo acuícolas. Tomo I. Guayaquil, Ecuador. Pág. 42
- Talavera V, 1996.** VIBRIOSIS EN LANGOSTINO. Boletín Nicovita. Lima, Perú.
- Torres D. 1991.** Manual práctico de cultivo de camarón de hondura. Honduras. Pág.28-29
- Torres, D. 1991.** Manual práctico de cultivo de camarón de hondura. Honduras. Pág.28-29
- Villareal, H., Ocampo, L., 1993.** Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis*. Comp. Biochem. Physiol. 106A, 97-101
- Young, B.F y Reinoso, B. 1993.** Manual práctico para la identificación de post-larvas y juveniles de cuatro especies de camarones marinos. Volumen IV. Guayaquil, Ecuador. Pág. 32



### IX ANEXOS.

**Formatos:**

#### Control de Crecimiento.

Muestras	Tanque	
	Peso	Talla
1		
2		
3		
4		
5		
Total		
Prom.		
$\Delta$		
SD		

**Formato de alimentación Acumulados mín-màx**





**Formato a Usar para conteo de colonias en bacteriología.**

<b>Hepatopáncreas.</b>			
		<i>Vibrion alginolítico.</i>	<i>Vibrion parahemolítico.</i>
<b>Repetición.</b>	<b>Peso en gramos.</b>	<b>Amarillas UFC grs.</b>	<b>Verdes UFC grs.</b>

**Esquema Representativo de una Repetición del Experimento.**

