

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



Tesis previa para optar al título de Ingeniero (a) Acuícola.

Título

**Efecto de la bacteria *Lactobacillus acidophyllus* para el control de la enfermedad de la Vibriosis en camarones en su etapa juvenil.**

Presentada por:

Br. Yesenia María Loáisiga Jirón.  
Br. Erick Bladimir Rugama Meléndez.

Septiembre 2012.

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



Tesis previa para optar al título de Ingeniero (a) Acuícola.

Título

**Efecto de la bacteria *Lactobacillus acidophyllus* para el control de la enfermedad de la Vibriosis en camarones en su etapa juvenil.**

Presentado por:

Br. Yesenia María Loáisiga Jirón.  
Br. Erick Bladimir Rugama Meléndez.

Tutor:

Lic. Claudia Herrera Sirias.

Septiembre 2012.

## Resumen

Nicaragua posee un gran potencial para el desarrollo del sector, en especial la costa del Pacífico. Pero una de las principales dificultades que existe en el cultivo comercial de organismos marinos es la aparición de enfermedades, la utilización de los antibióticos en la acuicultura y el abuso en el manejo y aplicación de este para el control de enfermedades ha sido la causa del desarrollo de la resistencia bacteriana además se ha comprobado que el factor de resistencia se puede transferir a patógenos que pueden infectar a humanos, por esta razón se ha venido reemplazando el uso de los antibióticos por los probióticos para mejorar la calidad del camarón y disminuir la resistencia bacteriana. Para demostrar la efectividad de los probióticos se hizo en las instalaciones de la UNAN –LEÓN, un probiótico a base de suero de la leche de vaca, en un dispositivo experimental con flujo continuo de agua, el cual contenía un reservorio con capacidad de 450 Lts de agua, este contenía aireación por medio de un blower y el agua filtrada que contenía el reservorio era extraída del mar con una bomba de 3 pulgada esta le suministraba agua, a seis recipientes con capacidad de 80 Lts de agua, donde tres recipientes eran con aplicación de probiótico a base de suero de leche de vaca y tres sin aplicación de probiótico, en cada recipiente teníamos una densidad de siembra de 35 organismo por metro cuadrado. Semanalmente se sacaba un camarón de cada recipiente para hacerle estudios bacteriológicos en Agar Tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS). A cada camarón se le extraía el hepatopáncreas para ver el efecto del probiótico, el rango aceptable de vibrio presente en el hepatopáncreas es de 1, 000,000 de UFC. Los resultados obtenidos en nuestra investigación con respecto al probiótico fueron entre 532.500,000 a 303.125,000 Cel. /ml de *Lactobacillus acidophyllus*. La biomasa final del camarón que se obtuvo fue de 40.17 grs en la aplicación con probiótico y en la aplicación sin probiótico fue de 36.3 grs y una mejor sobrevivencia de 52% en la aplicación con probiótico y sin aplicación de probióticos con un 41%. Otro resultado para demostrar la eficiencia del probiótico fue el estudio bacteriológico a través del agar (TCBS), aquí se observó que la aplicación del probiótico estuvo por debajo del rango aceptable con 386,799 UFC/ml de bacterias *alginoliticus* en cambio la sin probiótico estuvo por encima del rango aceptable con un 1.532,967 UFC/ml de bacterias *alginoliticus*.

## DEDICATORIA

### **Le dedico este trabajo de tesis:**

Primeramente a Dios por darme la vida, por haberme dado a unos padres que me apoyaron en todo lo necesario con respecto a mis estudios, por darme salud y por haber culminado mi trabajo y mi carrera universitaria con éxito.

A mi familia especialmente a mis padres Irma Marlene Jirón Vargas y Marcos Antonio Loáisiga Rodríguez que me apoyaron siempre, tanto en los buenos y malos momentos de mi vida, también por aconsejarme y darme ánimos para seguir adelante.

Yesenia Loáisiga.

## DEDICATORIA

En primer lugar le dedico este trabajo a Dios que es el que nos ha bendecido e iluminado para tener perseverancia en la elaboración de este trabajo brindándonos salud, fuerza y confianza en nosotros para llevar a cabo esta Tesis.

A mi familia en especial a mi madre María Mercedes Meléndez y a mi hermano Bismark Alexander Rugama Meléndez que han sido un pilar muy importante en estos cinco años que he estado construyendo mi futuro como profesional, con su apoyo en los momentos en que necesitaba de palabras de aliento.

Erick Rugama.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios principalmente porque si no fuera por el no estuviera en este mundo tan maravilloso que hizo para la humanidad le agradezco mucho por haberme dado fuerza, valor, sabiduría, y optimismo durante mis estudios universitario.

A mi familia especialmente a mis padres y hermanos (Raúl Loáisiga y Marisol Loáisiga) que siempre confiaron y me apoyaron a las diferentes actividades que realice en la universidad. A mi tía Miriam Jirón y a mi primo Wilber Cuadra que siempre me dieron palabras de aliento para seguir adelante y ser una futura profesional exitosa.

Al coordinador de la carrera ingeniería Acuícola de la UNAN-LEON Dr. Evenor Martínez y a nuestra tutora Claudia Herrera Sirias por habernos brindado su tiempo y conocimientos en el transcurso de la elaboración de la tesis.

A mi compañero de tesis Erick Rugama por haber estado siempre conmigo apoyándome en los momentos más complicado en la elaboración de este trabajo y también por tenerme paciencia durante todo el periodo que trabajamos juntos tanto en la práctica como en la teoría.

A la empresa SERVICONSA S.A por haber realizado mis prácticas profesionales allí. Y también les agradezco a sus trabajadores del laboratorio de la granja Playa Grande por haberme brindado conocimientos sobre mi tema de tesis.

Yesenia Loáisiga.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar darle gracias a Dios que nos ayudo en todo nuestro trabajo dándonos las fuerzas necesarias durante el transcurso de esta tesis y lograr culminarla.

A mi familia que siempre estuvo apoyándome en los momentos difíciles durante todo el transcurso de la tesis y también en todos estos cinco años que he estado en esta universidad, siempre dándome ánimos de seguir adelante y también ayudándome económicamente, a mi madre María Mercedes Meléndez, a mi hermano Bismark Alexander Rugama Meléndez, a mi tía María Inés Molina, a mi querida abuela que me alentaba a seguir adelante con mis estudios Benita Meléndez y a toda mi familia que siempre estuvieron cuando los necesitaba a mis primos, primas, tíos gracias a todos .

A nuestros maestros que siempre estuvieron en los momentos de dudas acerca de nuestro trabajo siempre han estado allí presentes para ayudarnos y aclarar nuestras inquietudes, Dr. Evenor Martínez y Lic. Claudia Herrera Sirias.

A mi compañera de tesis que siempre estuvo allí en los momentos difíciles de este trabajo apoyándome, dándome ánimos para seguir adelante y siendo una persona indispensable en mi vida, siendo compañera y novia al mismo tiempo y un pilar de apoyo en las diferentes ocasiones que hemos vividos juntos Yesenia María Loáisiga Jirón.

Erick Rugama.

## ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
I. Introducción -----	1
II. Objetivos -----	3
III. Hipótesis -----	4
IV. Literatura revisada -----	5
4.1. Generalidades del camarón-----	5
4.2. Morfología -----	6
4.3. Muda en camarones-----	7
4.4. Sistema digestivo-----	7
4.5. Enfermedades bacterianas-----	8
4.6. Transmisión del vibrio sp.-----	10
4.7. Signo de la enfermedad-----	10
4.8. Vibrión sp.-----	10
4.9. Clasificación científica de la bacteria vibrio -----	11
4.10. Comportamiento del vibrio en vida libre-----	11
4.11. Vibrio en su habita-----	12
4.12. Bacterias gram negativas-----	13
4.12.1. Síndrome de la gaviota-----	13
4.12.2. Vibriosis sistemática-----	13
4.12.3. Síndrome de las bolitas-----	13
4.12.4. Vibriosis luminiscente-----	13
4.12.5. Bolitas blancas -----	14
4.12.6. Camarón manchado -----	14

4.12.7.	Astillas negras -----	15
4.13.	Medios de cultivo-----	15
4.14.	Agar T.C.B.S (procedimiento)-----	16
4.15.	Conteo de unidades formadoras de colonias-----	17
4.16.	Antibiótico -----	17
4.17.	Probiótico-----	18
4.17.1.	Concepto-----	18
4.17.2.	Elaboración del probiótico-----	18
4.17.2.1.	Insumos utilizados -----	18
4.17.2.1.I.	Probiótico Lactobacillus acidophyllus-----	18
4.17.2.1.II.	Melaza -----	18
4.17.2.1.III.	Agua -----	18
4.17.3.	Activación del probiotico-----	19
4.17.4.	Utilidad del probiótico-----	19
4.17.5.	Formas de aplicar el probiótico-----	20
4.17.6.	Clasificación de tratamiento microbianos -----	21
4.17.7.	Principales mecanismos del probiótico-----	21
4.17.7.1.	Exclusión competitiva de bacterias patógenas -----	21
4.17.7.2.	Mejoramamiento de la nutrición -----	22
4.17.7.3.	Incremento de la digestión -----	22
4.17.7.4.	Estimulación de la respuesta-----	22
4.17.7.5.	Procesos bioquímicos -----	22
4.18.	Lactobacillus acidophyllus -----	23
4.18.1.	Clasificación científica -----	23
4.18.2.	Concepto-----	23

4.18.3.	Morfología-----	24
4.18.4.	Estructura-----	24
4.18.5.	Crecimiento-----	24
4.18.6.	pH-----	24
4.18.7.	Necesidades de oxígeno-----	25
4.18.8.	T° de crecimiento de la bacteria <i>Lactobacillus acid ophyllus</i> -	25
4.19.	Calidad de agua-----	25
4.20.	Factores físico-químicos-----	26
4.20.1.	Oxígeno disuelto-----	26
4.20.2.	Temperatura-----	26
4.20.3.	Salinidad-----	27
4.20.4.	pH-----	27
4.21.	Manejo de alimentación -----	27
4.21.1.	Uso de charolas -----	29
4.21.2.	Cantidad y criterios de ajustes de alimento -----	29
4.21.3.	Consejos para el manejo de alimentación -----	30
4.21.4.	Factor de conversión alimenticia -----	31
4.21.4.1.	Formula de F.C.A -----	31
4.22.	Estudios biológicos -----	31
4.22.1.	Crecimiento-----	31
4.22.2.	Ritmo de crecimiento -----	32
4.22.3.	Tasa de crecimiento -----	32
4.22.4.	Muestreo de población-----	33
4.22.5.	Sobrevivencia-----	33
4.22.6.	Rendimiento productivo-----	34

<b>4.23.</b>	<b>Materiales y métodos -----</b>	<b>35</b>
<b>4.23.1.</b>	<b>Localización del sitio-----</b>	<b>35</b>
<b>4.23.2.</b>	<b>Dispositivo experimental-----</b>	<b>35</b>
<b>4.23.3.</b>	<b>Elaboración del probiótico-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.4.</b>	<b>Proceso de replicación-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.5.</b>	<b>Factores físicos-químicos-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.5.1.</b>	<b>Oxígeno disuelto-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.5.2.</b>	<b>Temperatura-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.5.3.</b>	<b>Salinidad-----</b>	<b>36</b>
<b>4.23.6.</b>	<b>Estudio de bacterias-----</b>	<b>37</b>
<b>4.23.7.</b>	<b>Medio de cultivo-----</b>	<b>37</b>
<b>4.23.8.</b>	<b>Conteo de unidades formadoras de colonias -----</b>	<b>38</b>
<b>4.23.9.</b>	<b>Estudios de poblaciones-----</b>	<b>38</b>
<b>4.23.9.1.</b>	<b>Crecimiento -----</b>	<b>38</b>
<b>4.23.9.2.</b>	<b>Ritmo de crecimiento-----</b>	<b>38</b>
<b>4.23.9.3.</b>	<b>Tasa de crecimiento-----</b>	<b>38</b>
<b>4.23.9.4.</b>	<b>Sobrevivencia -----</b>	<b>39</b>
<b>4.23.9.5.</b>	<b>Factor de conversión alimenticia-----</b>	<b>39</b>
<b>4.23.9.6.</b>	<b>Rendimiento productivo-----</b>	<b>39</b>
<b>V.</b>	<b>Resultados y discusión -----</b>	<b>40</b>
<b>5.1.</b>	<b>Gráfico #1 Oxígeno Disuelto -----</b>	<b>40</b>
<b>5.2.</b>	<b>Gráfico #2 Temperatura-----</b>	<b>41</b>
<b>5.3.</b>	<b>Gráfico # 3 Salinidad-----</b>	<b>42</b>
<b>5.4.</b>	<b>Gráfico # 4 Peso del camarón-----</b>	<b>43</b>
<b>5.5.</b>	<b>Gráfico # 5 Ritmo de crecimiento -----</b>	<b>44</b>

5.6. Gráfico # 6 Tasa de crecimiento -----	45
5.7. Gráfico # 7 Supervivencia-----	46
5.8. Gráfico # 8 Factor de Conversión Alimenticia-----	47
5.9. Gráfico # 9 Rendimiento productivo-----	48
5.10. Gráfico # 10Crecimiento de colonias-----	49
<b>VI. Conclusión -----</b>	<b>50</b>
<b>VII. Recomendaciones -----</b>	<b>51</b>
<b>VIII. Bibliografía -----</b>	<b>52</b>
<b>IX. Anexos -----</b>	<b>55</b>

## I. INTRODUCCION

El dramático incremento en la población mundial en los últimos dos siglos, sumado a la sobreexplotación de diferentes pesquerías, son factores que explican en parte el déficit de proteína para consumo humano. De acuerdo con el informe de la FAO, Estado de la Acuicultura Mundial: 2006, la acuicultura es una actividad con un alto potencial para satisfacer la creciente demanda de alimentos acuáticos ya que es probablemente el sector productivo de más rápido crecimiento, que genera actualmente alrededor del 50% de la producción de pescado en el mundo. El camarón es uno de los productos cultivados más importantes en Asia y la región Pacífica de Asia, con una producción de 1.1 millones de toneladas para 2006, mientras que Latinoamérica alcanzó 260,000 toneladas (Villamil L. et al.2009).

Por otro lado, Nicaragua posee un gran potencial para el desarrollo del sector, en especial la costa del Pacífico. Según estudios de la FAO han estimado en la región un área de 39,250 hectáreas, aptas para el cultivo de camarón. Además, según MEDEPESCA la región se ha consolidado como un polo de la camaronicultura, gracias a que en sus aguas se encuentran las especies silvestres más conocidas y con mejores resultados de producción, *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*. Esto ha generado muchas expectativas en cuanto a lograr un empuje a la macroeconomía del país. Para el año 2006, (Martínez E. et al 2009), reportan la existencia de 13,600 hectáreas construidas y en proceso de producción.

Villamil L. et al 2009. Señala que una de las principales dificultades que existe en el cultivo comercial de organismos marinos es la aparición de enfermedades infecciosas como resultado de la incidencia de bacterias, hongos y virus frecuentemente asociados con el aumento en las densidades de cultivo y rápido desarrollo de la acuicultura con deficiencias en los métodos de manejo, calidad de aguas, valor nutricional del alimento, entre otros factores. En el subsector cultivador de camarón marino, las enfermedades son consideradas actualmente como el principal factor causante de pérdidas económicas.

Dentro de estas enfermedades la más común es la Vibriosis la cual es una enfermedad bacteriana que ataca frecuentemente al camarón. Las bacterias del género *Vibrio* son reportados 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 vibrios 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 oportunista proliferan cuando el camarón se encuentra debilitado. La mortalidad de camarón originada por este grupo de bacterias puede variar desde rasgos insignificantes hasta presentar mortalidades del 100% afectando principalmente a las post-larva y juveniles. (Herrera C. 2010).

Ante la aparición de cualquier síntoma de enfermedad, se recurrió al uso incontrolado de agentes químicos como los antibióticos, cuyo espectro de acción es obviamente limitado para la prevención y control de enfermedades y, además, causan efectos adversos como la aparición de cepas bacterianas multi-resistentes que incluso pueden llegar a afectar la salud del consumidor. Las granjas deben garantizar producciones en las cuales no se utilicen agentes terapéuticos como antibióticos para garantizar un camarón seguro e inocuo. La alternativa encontrada es la utilización de microorganismos benéficos llamados *Probióticos* en el cultivo de camarones con el objetivo de mantener controlado el ecosistema de los estanques, disminuir el riesgo de ingreso y permanencia de bacterias patógenas en el sistema, mejorar la absorción de nutrientes en el intestino y degradar la materia orgánica de manera eficiente, beneficiando directamente las altas tasas de rendimiento en la producción de camarón. (Altamirano C. 2010).

La elaboración del probiotico utilizado en este trabajo es a base de suero de leche de vaca, ahí se encuentra la bacteria *Lactobacillus acidophyllus*, usada para controlar la enfermedad de la Vibriosis en camarones juveniles, para conocer el efecto y control que tiene esta bacteria ante la Vibriosis, se comprobó que es una alternativa para combatir esta enfermedad y que genera beneficios para el productor alcanzando menores costos de producción.

## II. OBJETIVOS

### Objetivos General:

Evaluar el efecto de las bacterias *Lactobacillus acidophyllus* utilizadas como probiótico para el control de la enfermedad de vibrio en el cultivo de camarones juveniles *Litopenaeus vannamei*.

### Objetivos Específicos:

1-Verificar si los factores físicos-químicos como oxígeno disuelto y temperatura influyen en el efecto del probiótico sobre la enfermedad de vibrio (*alginolyticus*) en camarones juveniles.

2-Comparar el efecto de la aplicación de probiótico *Lactobacillus acidophyllus* y la no aplicación, en la cantidad de unidad formadora de colonias de vibrión (*alginolyticus*) presentes en el hepatopáncreas de camarones juveniles.

3- Determinar el crecimiento, ritmo de crecimiento, sobrevivencia, factor de conversión alimenticia y rendimiento productivo de los camarones *Litopenaeus vannamei* en su etapa juvenil, con y sin aplicación del probiótico.

### III. HIPOTESIS

Ho: La bacteria *Lactobacillus acidophyllus* usado como probiótico NO es un buen controlador de la Vibriosis en el camarón en su etapa juvenil.

H1: La bacteria *Lactobacillus acidophyllus* usado como probiótico es un buen controlador de la Vibriosis en el camarón en su etapa juvenil.

## IV. LITERATURA REVISADA

### 4.1. Generalidades del camarón

Las principales especies del cultivo del camarón de nuestros litorales pertenece a la familia Litopenaidae presenta, cuerpo subcilindrico, alargado, comprimido con abdomen o cuerpo más largo que el cefalotórax o cabeza. La talla comercial varía de 11.5 a 20 cm(Herrera C. 2009).

El ciclo de vida de los camarones *Litopenaeus vannamei*, ocurre cuando los adultos copulan y desovan en aguas oceánicas costeras a profundidades entre 18 y 27 m los desoves comienzan a partir de Marzo, Junio, Agosto y Septiembre. Los camarones *Litopenaeus vannamei* tienen un ciclo de vida muy complejo y corto de unos 18 meses el cual va desde huevo, estadios larvales (nauplios, zoea, mysis, postlarva), juvenil y adulto.

La cópula y el desove ocurre en aguas marinas, después de la eclosión del huevo, el animal va pasando por cada uno de los estadios larvales planctónicos, a la vez que se desplaza a las costas, esteros y lagunas. De la cantidad de huevos desovados por una hembra (500,000) aproximadamente tan solo el 1 % en el medio natural llega a etapa madura, existe una gran mortalidad natural, sin embargo la naturaleza los ha dotado de un gran potencial reproductivo, el cual asegura la permanencia de la especie.

El ciclo larvario tiene una duración total de 2 a 3 meses según la especie y la condición ecológica, donde las larvas van variando sus hábitos alimenticios. Los nauplios se alimentan del vitelo proveniente del huevo, las zoea son fitófagas y las mysis zooplanctófagas al igual que las postlarvas.

Al llegar al estado de postlarva el animal ya presenta características morfológicas típicas del camarón y las corrientes las han aproximado a los esteros y lagunas donde se desarrollan las que logran sobrevivir, pues encuentran una mayor disponibilidad de alimento, mayores temperaturas y protección de los depredadores. (Urey E. 2009).

Las postlarva ingresan a los esteros con una talla entre 4 a 12 mm y para esto necesita la ayuda de las mareas. Muchas investigaciones han recalado la influencia del ciclo lunar en la migración de las postlarva debido a que las fases lunares son las responsables directas de las mareas. Las altas mareas inunda a los playones una o dos veces al mes período en el cual coinciden con el arribo de postlarva a los esteros. (Urey E. 2009).

#### **4.2. Morfología.**

El cuerpo de los camarones se divide en tres regiones: cefalotórax, abdomen y telson. Los apéndices del cefalotórax son: anténula, antena, mandíbula, maxila, maxilipido y periopodos; el abdomen está formado por 6 segmentos y 6 pares de apéndices llamados pleopodos cuya función es natatoria. En el telson se encuentran los Uropodos que sirven también para natación. El exoesqueleto es la región del cefalotórax, que presenta diversos procesos: espina, satura y surcos cuya forma, tamaño y distribución es característico para cada especie.

Presenta un cuerpo poco o considerablemente comprimido, rostro bien desarrollado y comprimido lateralmente, pedúnculos oculares moderados o muy alargados anténulas con flagelos, mandíbulas con un proceso incisivo y el palpo con una o dos artejos, los primeros 3 pares de apéndices similares, quelados, planos incrementándose en longitud posteriormente, cuarto y quinto par de apéndices bien desarrollados y simples. (Urey E. 2009).

El camarón juvenil en su etapa natural según las especies y región llegan a juvenil luego 4 meses aproximadamente con una longitud de entre 7 y 10 cm posteriormente se alejan de la zona de crianza e ingresan a mar abierto para reproducirse en la región de aguas más profundas donde habitan unos meses más.

### 4.3. Mudas en camarones

El comportamiento fisiológico y la reproducción en crustáceos esta intrínsecamente ligada al ciclo de muda, este se divide en las siguientes etapas: muda, postmuda, intermuda y premuda.

Durante el ciclo de muda, los camarones acumulan en la glándula digestiva reserva de nutrientes que son utilizados mayormente en la construcción del futuro exoesqueleto y en la síntesis de nuevos tejidos. Este ciclo se repite a todo lo largo del ciclo de vida del camarón y disminuye su frecuencia según el organismo se vaya haciendo más viejo. (Herrera C. et al. 2009)

A continuación se presentan intervalos generales de muda del camarón en diferentes tallas:

PESOS DEL CAMARON (grs.)	INTERVALO DE MUDA (Días)
2.0 – 5.0	7 – 8
6.0 -9.0	8 – 9
10.0 -15.0	9 – 12
16.0-25.0	12 –15

Navas E. 2008

### 4.4. Sistema digestivo.

El tubo digestivo de los decápodos se divide en tres partes: intestino anterior o estomodeo, intestino medio o mesenterón y el intestino posterior o proctodeo. El estomodeo y el proctodeo están cubiertos de quitina, y este recubrimiento se pierde en cada exuviación o muda.

En seguida de la boca se encuentra el esófago y luego el estómago, en el cual se pueden distinguir dos partes: cardiaca o anterior, separada por una válvula cardiopilórica de la parte pilórica o posterior. La primera sirve de receptáculo de los alimentos ingeridos y presenta una gran elasticidad, en la parte posterior se

encuentran una serie de piezas calcáreas, sedas, espinas y filtros, así como repliegues y sillones por los cuales pasan los alimentos en el transcurso de sucesivas moliendas.

Las partes posteriores del estómago cardiaco y pilórico están reforzadas y soportadas por un conjunto de piezas calcáreas articuladas, las placas y los oscículos, que son zonas de espeso revestimiento quitinoso de este órgano. (Cruz, E.2007).

Las piezas masticadoras del estómago (molino gástrico) son manipuladas por músculos propios, exteriores a la pared del estómago, controlados por un conjunto de elementos nerviosos. Estas piezas más o menos calcificadas tienen disposiciones y formas muy diversas de unos grupos de crustáceos a otros. El estómago está provisto de elementos duros u oscículos, con una función trituradora. La eficiencia del estómago está ligada a su complejidad, y ésta varía de manera inversa a la complejidad de las mandíbulas. Los alimentos se desplazan por el tubo digestivo, las partículas de gran tamaño se quedan en la bolsa cardiaca y son dirigidas por movimientos musculares hacia la parte dorsal de la bolsa, en donde son tratadas por el molino gástrico. Las partículas suficientemente pequeñas pasan al saco pilórico y son finalmente filtradas por sedas muy cerradas entrando a la glándula del intestino medio o hepatopáncreas. Las partículas más gruesas son retenidas por un filtro a la entrada de la glándula y son dirigidas posteriormente hacia el intestino, donde son cubiertas por una membrana de muco polisacáridos: membrana peritrófica, dando lugar a las heces fecales. Estas últimas son a menudo reingeridas por los mismos camarones.

La bolsa pilórica presenta movimientos de contracción, sucesivos y coordinados que aseguran la filtración y permiten la progresión del alimento hacia el intestino medio y posterior. En virtud de la presencia de múltiples filtros, principalmente en los crustáceos decápodos, se pueden considerar como filtradores intensos (de ahí la importancia de una buena molienda de los insumos en los alimentos balanceados).

El hepatopáncreas es un órgano compacto que ocupa una gran parte de la cavidad cefálica posterior a la cavidad cardiaca del estómago. Tiene dos lóbulos separados, los cuales están compuestos por hileras de túbulos ciegos que vierten, por el extremo

abierto, sus productos de secreción al estómago. Cada lóbulo está conectado ventralmente con el tubo digestivo en la unión del estómago pilórico y la parte anterior del intestino.

Las paredes de los túbulos están constituidas por células de varios tipos: células de absorción y de acumulación, células secretoras, células embrionarias y células fibrilares. (Cruz, E.2007).

#### **4.5. Enfermedades Bacterianas.**

El cultivo de camarón crea condiciones artificiales en su ambiente que favorece la selección, adaptación y crecimiento de bacteria que son parte normal de la flora bacteriana de los organismos. Los vibrios uno de los géneros que conforman esta microbiota, son microorganismos oportunistas que responden a los cambios en las condiciones ambientales generado a la acuicultura. La vibrios ha sido reportada como la causa de serias pérdidas económicas en la producción de camarón de cultivo de Nicaragua. Existen diversas especies y cepas de vibrios que afectan al camarón como: *V.alginoliticus*, *V harveyi*, *V. parahaemolyticus*.

Conforme se ha incrementado la producción de camarón por unidad en cada estanque con los sistemas intensivos, la susceptibilidad de los organismos hacia enfermedades también se ha visto aumentada, debido al estrés que sufren por las altas densidades de siembra, casi todas las bacterias señaladas como patógenas para los organismos en los cultivos han sido encontradas en ellos como su flora normal, en su habita natural. Las bacterias del género vibrio debido a su patogenosidad constituyen el grupo más importante. Este género es muy abundante y cosmopolita, por lo que prácticamente se encuentra en cualquier agua empleada para cultivo. También se les encuentran en los sedimentos y tracto digestivos de los organismos, tanto en larvas como en adultos. Este generó está formado por aproximadamente 40 especies caracterizadas por ser bacilos Gram negativos móviles pro flagelos polar, requieren de VI diferentes concentraciones de sal para crecer adecuadamente. (Medina M. 2006.)

#### **4.6. Transmisión de vibrio sp.**

Todos los estadios de vida están aparentemente expuestos a vibrios sp. La Vibriosis puede presentarse luego de una fuerte colonización de bacterias en la cutícula superficial del camarón, especialmente en heridas por el consumo de un gran número de bacterias que pueden estar en el agua de cultivo, en detritus orgánico, en tejidos de otros camarones o en partículas de alimento, principalmente en nauplios de artemia.(Herrera C. 2010).

#### **4.7. Signos de la enfermedad**

La Vibriosis larval y de adulto puede reconocerse fácilmente por exámenes microscópicos. Los organismos afectados pueden presentar algunas o todas las anormalidades siguientes:

- Tracto digestivo vacío (la larva y adulto no comen).
  - Aletargamiento.
  - Opacidad en la musculatura abdominal.
  - Altas mortalidades.
  - Retardo en la coagulación de hemolinfa menor de un minuto.
  - Camarones moribundos con nado errático en la superficie.
  - Presencia de gaviotas en la piscina.
  - Uropodos y telson con cromatóforos distintivos (cola roja).
  - Antenas rugosas descoloridas, cortadas (apariencias de quemadas, necrosis).
- (Herrera, C 2010).

#### **4.8. Vibrión sp.**

Las especies de género *Vibrio* son invariablemente bacilos Gram negativos, de entre 2 y 3  $\mu\text{m}$  de largo, de forma algo curva, dotados de un único flagelo polar que les permite una elevada movilidad. Soportan bien los medios alcalinos, así como las concentraciones salinas. No forman esporas, son oxidasa positiva, y anaerobios facultativos. Es posible encontrarlas unidas en sus orillas, por lo que forman agregados espirales o en forma de S.

#### **4.9. Clasificación científica**

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Vibrionales

Familia: Vibrionaceae

Género: Vibrio

(Barón, S. 2011)

#### **4.10. Comportamiento de vibrio en estado de vida libre.**

Cuando los vibrios se encuentran en su forma de estado libre (planctónica) nos queda claro que las condiciones en este hábitat son extremas, ya que el material suspendido en la columna de agua, así como el contenido de nutrimentos en general es bajo. En tal situación adopta una condición morfológica diferente a la que conocemos, disminuye su tamaño (pueden pasar filtros de hasta 0.2  $\mu\text{m}$ ) por lo que en este estado se denominan microvibrios.

Diversos estudios señalan que los vibrios tienen preferencia por los ecosistemas acuáticos como epibionte, asociado tanto a sustratos vivos como abióticos. Su asociación con material suspendido les asegura que en algún momento pueden ser depositados en el sedimento donde encontrarán mayor concentración de nutrimentos, por otro lado también se pueden mover hacia niveles superiores a través de la cadena alimentaria iniciando su viaje con organismos bentónicos filtradores y detritívoros. Se sabe que los vibrios pueden adherirse a diversos organismos acuáticos, *V. cholera*, por ejemplo, se asocia con copépodos del plancton, otros del zooplancton, raíces de lirio acuático, algas etc. También se ha observado que la bacteria sobrevive y crece en dos especies de amibas de agua dulce. (Canales F.2010).

La adherencia de los vibrios a los sustratos bióticos se considera como una interacción de tipo comensal, en este caso las bacterias utilizan compuestos de excreción como las llamadas proteínas de adhesión asociadas a la superficie. Durante este proceso es importante considerar propiedades como la producción de enzimas como la quinolasa que le confiere a la bacteria la capacidad para actuar como degradador de la quitina. Este polímero es muy abundante en los sistemas salobres y marinos, ya que forma parte del exoesqueleto de crustáceos como la jaiba y el camarón, por lo que representa una fuente muy rica de carbono y nitrógeno. (Canales F.2010).

#### **4.11. Vibrio en su hábitat.**

Es importante analizar los casos en que los vibrios pueden actuar como patógenos de organismos acuáticos de importancia comercial, o bien que estos organismos puedan ser un vector de patógenos para el hombre. Al respecto se ha estudiado la relación entre *Vibrio* y los copépodos, por un lado la bacteria utiliza la quitina de estos últimos como sustrato y por otro, dado que uno de los sitios de colonización es el saco ovífero, cuando el copépodo libera los huevos fertilizados al ambiente estos se constituyen en un vehículo para la diseminación de los vibrios.

Con respecto a su participación como patógeno, se ha reportado que *V. anguillarum*, *V. alginoliticus* y *V. splendidus* son responsables de ocasionar la muerte de larvas de ostión. Se ha estudiado el posible mecanismo por el cual coloniza y producen la muerte de dichas larvas, los resultados señalan que un estado de estrés del hospedero da lugar a una respuesta neuroendocrina que incrementa los niveles de noradrenalina induciendo la liberación de hierro, elemento importante para la reproducción de los vibrios. Se ha establecido que ciertos factores ambientales afectan el comportamiento de la bacteria, diversos estudios muestran como el incremento de la temperatura influye en el comportamiento patógeno de diferentes especies de *Vibrio*. (Canales F.2010).

## **4.12. Bacterias Gram negativas.**

### **4.12.1. Síndrome de la gaviota:**

Esta es una manifestación más de Vibriosis y su nombre proviene de la presencia de las gaviotas que se alimentan de camarones moribundos que nadan en la superficie y en las orillas de los estanques.

### **4.12.2. Vibriosis Sistémica:**

Esta enfermedad se considera una infección generalizada que involucra varios sitios como: cutícula, hepatopáncreas, órgano linfoide, musculo estriado. (Herrera, C.2010)

### **4.12.3. Síndrome de las bolitas:**

Es llamada así ya que presenta unas bolitas en la parte del intestino, se puede observar a través del microscopio con muestra al fresco. Es una Vibriosis que presenta una descamación de las células del epitelio del hepatopáncreas e intestino de las larvas, hay interrupción en la alimentación, cesan los movimientos contráctiles del tubo digestivo, mortalidades altas y llegan hasta el 100% de la población.

### **4.12.4. Vibriosis luminiscente:**

La bacteria causante de la luminiscencia es el Vibrio harveyi ha sido responsable de esta un 70% de la productividad en los laboratorios, como en la mayoría de las bacterias, constituye la flora normal de las aguas costeras y lagunas. (Herrera, C.2010)

Existen una serie de procedimientos básicos en bacteriología, incluyendo preparación de medios de cultivo y rayado de placas para aislamiento que deben ser técnicamente dominados. Estos procedimientos son fundamentales para el estudio de los diferentes grupos bacterianos así como para el aislamiento y la identificación de bacterias importantes a partir de diferentes tipos de muestras. (Rodríguez R. et al 2008).

#### **4.12.5. Bolitas blancas**

En el lumen o la luz de los túbulos del hepatopáncreas, se ha observado la presencia de pequeñas formaciones blancas, que han sido llamadas “bolitas blancas”, dichas bolitas son células descamadas del hepatopáncreas o hepatocitos hipertrofiados y redondeados que se ven como formaciones esféricas. Esas células a menudo llegan a ser vistas en el tracto digestivo. Se piensa que las bolitas son una reacción a la presencia de toxinas bacterianas (principalmente de *Vibrio* sp.) y de manera menos común, al efecto de metales pesados. Muchos laboratorios de producción de postlarvas han detectado casos de la enfermedad conocida como síndrome de Zoea II en donde han sido observadas “bolitas blancas”. *Vibrio alginoliticus* ha sido registrado en las larvas con el síndrome de Zoea II y mientras que *V. alginoliticus* y *V. harveyi* han sido asociados al síndrome de “bolitas blancas”.

Este síndrome se ha relacionado con el desarrollo de luminiscencia, con reducción de la tasa de alimentación, crecimiento lento, reducida respuesta de escape y altos porcentajes de mortalidad.(Gómez B. et al 2008).

#### **4.12.6. Camarón manchado o “brown spot disease”**

En este síndrome se incluyen aquellos problemas relacionados con infecciones en la Cutícula, apéndices o branquias. Se presentan lesiones localizadas en tonos de café a negro, en las cuales la cutícula se encuentra erosionada. Es una enfermedad auto limitante y cuando el camarón muda es generalmente eliminada. Esta infección, además de estar asociada a *Vibrio* sp., también involucra a otras bacterias oportunistas como *Aeromonas* sp., *Spirillum* sp. Y *Flavobacterium* sp. y representa una amenaza para las poblaciones de camarones cuando éstas se encuentran bajo severo estrés. Si no es controlada, esta enfermedad se vuelve más grave dando lugar al desarrollo de “astillas negras”, que a su vez puede llegar a convertirse en una “Vibriosis sistémica”.

En los sistemas de cultivo intensivo el espacio restringido que comparten los organismos promueve la competencia por el espacio y así las peleas entre organismos ocasionan heridas en el exoesqueleto y abren puertas de entrada para las bacterias quitinoclásticas. (Gómez B. et al 2008).

Generalmente estas infecciones comienzan con lesiones en la cutícula producidos por agresiones entre los animales, manejo descuidado, etc. Las bacterias que se encuentran en la superficie del camarón o en el agua circundante penetran en la herida y mediante la producción de enzimas quitinolíticas empiezan a degradar la cutícula. El camarón como defensa produce melanina, cuya función es bloquear la penetración de las bacterias, esta sustancia tiene una coloración negra u oscura y esta es la razón por la que se observen manchas negras en el camarón. Si la infección no es detenida en la superficie cuticular, las bacterias pueden continuar degradando hasta penetrar al interior de los tejidos. Comercialmente, el camarón se deprecia debido al mal aspecto que ocasionan las manchas en la "cáscara" y muchas veces es incluso rechazado por el consumidor. (Gómez B. et al 2008).

#### **4.12.7. Astillas negras o “Black splinter”**

No existe un nombre en español para esta enfermedad, pero podría traducirse como astillas negras. Esta es una forma crónica de Vibriosis, empieza con pequeñas lesiones localizadas en la cutícula que se infectan secundariamente con especies de *Vibrio* y semelanizan. La infección progresa hasta desarrollar áreas ennegrecidas en el tejido muscular y si estas lesiones se erosionan y los camarones no mueren de infección generalizada, las manchas permanecerán en la cutícula para siempre. Esta forma de Vibriosis parece ser más común en camarones adultos debido, probablemente, a que los camarones grandes son más propensos a herirse entre sí por disputas territoriales, sexuales o por alimentos. (Gómez B. et al 2008)

#### **4.13. Medios de cultivo:**

Un medio de cultivo consiste en un gel o una solución que cuenta con los nutrientes necesarios para permitir (bajo condiciones favorables de pH y temperatura) el crecimiento de virus, microorganismos, células o incluso pequeñas plantas.

Generalmente se presentan desecados en forma de polvo fino o granular antes de ser preparados, al prepararse podemos encontrarlos en estado sólido, semisólido y líquido. (Brandon H. 2011).

El objetivo último del cultivo es variado: antibiograma, identificación, multiplicación. Los Virus, por ejemplo, son obligados parásitos intracelulares por eso necesitan de un medio que contenga células vivas. (Brandon H. 2011).

Los medios de cultivo se dividen de acuerdo a sus características en: Generales, Selectivo y Diferenciales.

1. Generales: permiten el crecimiento de cualquier tipo de bacteria
  - Agar de soya tripticasa (T.S.A)
  - Agar marino
  - Agar nutritivo
2. Selectivo: solo permite crecer un cierto número de bacteria.
  - Agar T.C.B.S: Vibrio
  - Agar cetrimida: Pseudomonas
  - Caldo lactosado: Coniformes
3. Diferenciales: permiten distinguir entre dos o más bacterias por características coloniales.
  - Agar T.C.B.S: diferencias entre colonias amarillas y verdes de vibrio.
  - Agar Eosina Azul de metileno: coliforme y E coli

#### **4.14. Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa.)**

##### **Procedimiento:**

- Se pesa la cantidad requerida de acuerdo al número de cajas que se desea elaborar, y se disuelve en agua destilada en un matraz.
- Se pone a calentar en un termo agitador hasta que hierva(2 veces); se deja enfriar hasta una temperatura de 45 c
- Se mide el pH el cual debe ser de 8.6 mas o menos  $\pm 0.2$

- Posteriormente se vacía en los platos petri (aproximadamente 20ml a cada plato de 90x10). Se espera a que gelifique y se meten a secar en un horno a 30°C por 24 horas.

Nota: este medio no requiere de esterilización. (Herrera, C 2009).

#### **4.15. Conteo de las unidades formadoras de colonia.**

La placa de TCBS es incubada a 30°C durante un período de 18 a 24 horas. Pasado el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de colonia por mililitro los rangos aceptables para las colonias alginolíticas en hepatopáncreas es de  $10^6$ . (UFC/ml). (Herrera, C 2009).

#### **4.16. Antibiótico.**

En el pasado, ante la aparición de cualquier síntoma de enfermedad, se recurrió al uso incontrolado de agentes químicos como los antibióticos, cuyo espectro de acción es obviamente limitado para la prevención y control de enfermedades y, además, causan efectos adversos como la aparición de cepas bacterianas multi-resistentes que incluso pueden llegar a afectar la salud del consumidor. De igual manera, debido al largo tiempo de vida media en el agua de algunos antibióticos como la oxitetraciclina, los residuos de antibióticos generados en granjas de cultivo en algunos pueden modificar las comunidades microbianas de los ecosistemas próximos.

De acuerdo con estos indicios, es claro que los acuicultores necesitan evitar la aplicación innecesaria de antibióticos y entender la complejidad de la comunidad microbiana que está presente en el agua de cultivo e implementar la aplicación de bacterias benéficas para combatir a las patógenas y las eventuales mortalidades a las que pudiera dar lugar. Considerando el resultado exitoso que se ha obtenido en algunos experimentos científicos realizados en granjas de peces, camarones y ostras, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, definió el desarrollo de probióticos para mejorar la calidad del medio y organismos acuáticos. (Espinoza A. et al 2005).

## **4.17. Probiótico.**

### **4.17.1. Concepto.**

Los **probiótico** son microorganismos vivos que se adicionan a un alimento, permaneciendo activos en el intestino y ejerciendo importantes efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes tienen efectos muy beneficiosos, como contribuir al equilibrio de la flora bacteriana intestinal del huésped y potenciar el sistema inmunitario. Son capaces de atravesar el tubo digestivo y recuperarse vivos en las heces, pero también se adhieren a la mucosa intestinal. No son patógenos, excepto en casos en que se suministran a individuos inmuno deficientes.

### **4.17.2. Elaboración del probiótico.**

#### **4.17.2.1. Insumos utilizados.**

**4.17.2.1. I. Probiótico *Lactobacillus acidophyllus*:** Básicamente es un tratamiento biológico que consta de un grupo de bacterias (Bacilos, Lactobacillus, Levaduras) que se encargan 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.

**4.17.2.1. II. Melaza:** distribuida por los Ingenios locales Ing. San Antonio y Monte Rosa. Es un jarabe oscuro, viscoso, que proviene de la separación del 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, rico en vitaminas del complejo B.

**4.17.2.1. III. Agua:** El agua utilizada fue agua filtrada extraída con una bomba de 3 pulgadas del océano pacífico de Nicaragua.

**4.17.3. Activación del probiótico:** la activación del Probiótico es el proceso mediante el cual se mezclan en cantidades proporcionales de ingredientes como suero de leche de vaca que es donde se encontró presente la bacteria *Lactobacillus acidophyllus*, y melaza. El inicio del proceso ocurre con el mezclado de los ingredientes a razón de:

Suero .de leche de vaca            500Lts

Melaza                                    20 Lts

#### **4.17.4. Utilidad del probiótico.**

Los probióticos son generalmente administrados como alimentos microbianos suplementarios. Una microflora intestinal estable ayuda a resistir las invasiones de patógenos, particularmente vía tracto gastrointestinal. Los antibióticos reducen la microflora específica o un amplio espectro de ella y los probióticos pueden tener un tratamiento potencial pos antibiótico para restaurar el balance microbiano. (Anónimo 2010.)

Los probióticos son ampliamente utilizados en la crianza animal pero su uso en la acuicultura es relativamente nuevo. Sin embargo, existen muchos reportes sobre el potencial de los probióticos para la acuicultura de camarón, la cual ha sido plagada por bacterias oportunistas, como las luminiscente *Vibrio harveyi* y en algunos casos los probióticos han reportado una importante reducción del uso de antibióticos en los laboratorios de camarón. La supresión en la proliferación de ciertas bacterias patógenas (ejemplo, *Vibrio* sp.) en los laboratorios de camarón ha sido alcanzada introduciendo (inoculando) cepas no patogénicas o especies de bacterias que compiten por recursos de metabólicos microbianos. Este procedimiento muestra una promesa de ser efectivo y económico, no obstante, se necesita de mayor refinamiento de administración y cargas de concentración requeridas para una supresión del patógeno efectiva. También se requiere de mayor investigación sobre probiótico viable efectivo y económico para cepas óptimas de organismos probiótico, y una evaluación rigurosa bajo condiciones de campo de su viabilidad económica.

El uso de probióticos implica varios pasos tales como: aislamiento y selección del posible organismo candidato, preparación del cultivo de trabajo, cálculo del volumen

de lotes de cultivo necesarios, medio ideal para lotes de cultivo, enumeración de las densidades bacteriales, estudios de eficacia de los probióticos .La evaluación de probióticos en acuicultura se ha abordado en diferentes artículos científicos y también están disponibles en el mercado productos comerciales, el concepto de "probiótico" y su eficacia en acuicultura sigue siendo poco conocido y controvertido, en cierta manera, porque relativamente pocos estudios han abordado los mecanismos de acción de la cepas probióticas seleccionadas utilizando condiciones estandarizadas y reproducibles.(Anónimo 2010.)

Los principales microorganismos usados como probióticos son bacterias del ácido láctico (LAB), y distintas especies del género Bacillus y otras de origen acuático. Se cree que los modos de acción de éstos en el hospedero son la competencia por nutrientes y sitios de fijación en el intestino, la modulación de la respuesta inmunitaria no específica, la producción de compuestos antimicrobianos, entre otros.

#### **4.17.5. Formas de aplicar el probiótico.**

Estos microorganismos pueden ser añadidos al agua o al alimento, en el manejo del sistema de cultivo para el control de una enfermedad de índole bacteriana, a una concentración de  $10^5$  hasta  $10^8$  células/ml. Estos aditivos representan un beneficio potencial a través de las siguientes modalidades de actividad:

- 1- Inhibición competitiva de la bacteria patógena, por espacio, nutrientes, o de fuentes de energía disponible que son usados tanto por el patógeno como por el probiótico.
- 2- Abastecimiento de fuente suplementaria de nutrientes limitantes como vitaminas y por ende se incrementa la tasa de crecimiento, y es fuente de micro y macro nutrientes.
- 3- Descomposición de materiales orgánicos a inorgánicos en el ambiente, especialmente en los suelos de las piscinas de engorde, mejorando la calidad del agua.
- 4- Producción de componentes inhibitorios como antibióticos, bacteriocinas, y quelantes que disminuyen el crecimiento del patógeno.

5- Contribuciones enzimáticas a la digestión que se ven traducida en un incremento en el peso del camarón. (Anónimo 2010.)

#### **4.17.6. Clasificación de tratamientos microbianos usados en acuicultura.**

Los tratamientos de probióticos son considerados como métodos de control biológicos y por ello se les ha llamado organismos de biocontrol, los cuales limitan o eliminan plagas por la introducción de organismos adversos, parásitos libres o patógenos específicos. Algunos científicos proponen como métodos de biocontrol, tratamientos usando “el antagonismo entre microbios” a través de los cuales los patógenos pueden ser eliminados o reducidos en número en los estanques de cultivo. En otra clasificación aparte, debería considerarse las aplicaciones de bacterias nitrificantes que están relacionadas con el concepto de bioremedación. Biocontrol implica solamente que la cepa es antagónica a patógenos y bioremedación se refiere a la eliminación de residuos contaminantes por los microbios. (Anónimo 2010.)

#### **4.17.7. Entre los principales mecanismos de los probióticos podemos citar:**

##### **4.17.7.1. Exclusión competitiva de bacterias patógenas:**

La micro flora endógena del hospedero desempeña un rol importante contra la incursión de microorganismos patógenos por la fermentación de productos bacterianos, incluyendo metabolitos primarios como ácido láctico, dióxido de carbón, diacetil, acetaldehído y peróxido de hidrógeno. Además, por la producción de bacteriocinas, sideróforos y lisosomas. Observaron que una bacteria marina *Pseudomonas* produce una sustancia de bajo peso molecular, estable al calor, soluble al cloroformo y resistente a enzimas proteolíticas que inhiben el crecimiento de vibrios patógenos en el cultivo de crustáceos como *V. harveyi*, *V. fluviales*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela*, *V. vulnificus*.

#### **4.17.7.2. Mejoramiento de la nutrición por el suministro de nutrientes esenciales:**

Los probióticos pueden constituir directamente como suplementos nutricionales por su composición celular, compuesta por altos niveles proteicos y vitamínicos. Se puede ver que una cepa *Pseudomonas*. Constituye un suplemento alimenticio para el crecimiento y supervivencia de *Artemia* por la presencia de altos niveles de aminoácidos esenciales. (Talavera V. et al 1997).

#### **4.17.7.3. Incremento de la digestión por el suministro de enzimas esenciales:**

Por naturaleza, la producción enzimática está presente en los microorganismos, por lo tanto, al colonizar los probióticos la microflora, le transmiten beneficios al hospedero por un incremento sustancial del proceso digestivo gracias al suministro de enzimas. Encontraron una rápida ingestión y establecimiento de cepas *Pseudomonas* sp. Y *Arthrobacter* sp. En el sistema digestivo de larvas *Argopectenpurpuratus*, sugiriendo que estas participarían en el proceso por la producción de enzimas extracelulares tales como proteasas y lipasas.

#### **4.17.7.4. Estimulación de la respuesta inmune en el hospedero:**

El sistema inmune específico de los animales puede ser estimulado por la presencia de compuestos de origen microbiano como lipolisacáridos, peptidoglucanos y  $\beta$ -glucanos. Observaron que la incorporación de *Bacillus*S11 como probiótico en el cultivo de *Litopenaeus monodon* incrementó el índice inmunitario. Además, Sakai y cols. Demostraron que la administración oral de la bacteriana *Clostridium butyricum* en el cultivo de *Oncorhynchus mykiss*, mejoró la resistencia de los peces a Vibriosis por incrementó de la actividad fagocítica de los leucocitos.

#### **4.17.7.5. Procesos bioquímicos:**

Estudios han demostrado que la administración de probiótico en los sistemas de cultivo mejora la calidad del medio por degradación de la materia orgánica. Demostraron que la administración de *Bacillus* sp. En el cultivo de *P. monodon* durante 120 días de cultivo, presentaron una tasa de supervivencia mayor al 83%, mientras el control 55%. Además, las poblaciones de *Vibrios* sp.

Y la concentración de materia orgánica fue menor en el tratamiento (probiótico) con respecto al control. Este fundamento se basa en que las bacteria Gram positivas, especialmente *Bacillus* sp. Son más eficientes para convertir la materia orgánica en CO<sub>2</sub> que las bacterias Gram negativas. (Talavera V. et al 1997).

#### **4.18. Lactobacillusacidophyllus.**

##### **4.18.1. Clasificación científica**

Reino: Bacteria.

División: Firmicutes.

Clase: Bacilli.

Orden: Lactobacillales.

Familia: Lactobacillaceae.

Género: Lactobacillus.

Especie: L.acidophilus.

##### **Nombre binomial.**

##### **4.18.2. Concepto:**

El término Lactobacillus es la unión de un prefijo y una raíz: *lacto* que significa leche y *Bacillus* que quiere decir en forma de barra o vara. Por otro lado, Acidophyllus quiere decir con afinidad por los ácidos. Esta bacteria crece, fácilmente, en medios mucho más ácidos que los ideales para otros microorganismos (pH 4-5 o menores) y crece en condiciones óptimas a unos 45 °C. El L. acidophyllus crece de manera natural en una gran variedad de alimentos, incluidos la leche, la carne, el pescado y los cereales. No solo está presente en los intestinos de los animales y en el del propio ser humano, sino también en la boca y la vagina. El L. acidophyllus absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico. Ciertas variedades genéticamente similares (conocidas como heterofermentivas) también producen etanol, dióxido de carbono y ácido acético como subproductos (hay que reseñar que el L. acidophyllus produce exclusivamente ácido láctico). Como cualquier bacteria puede ser eliminada por un exceso de calor, humedad, o la luz solar directa.

#### **4.18.3. Morfología de la bacteria Lactobacillus.**

El género *Lactobacillus* (**lactis-leche; Bacillus-pequeños bacilos**) se caracteriza por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia puede observarse bacilos cortos o coco-bacilos coryneformes lo cual hace que se puedan confundir con géneros aislados habitualmente de materiales clínicos. Estos bacilos se presentan comúnmente formando cadenas y en general son no mótils, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación peritrica. Son Gram positivos y sólo las células muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram. Además, no esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato. Los grandes bacilos homofermentativos presentan gránulos internos revelados por tinción de Gram o por tinción con azul de metileno. (Pía Taranto et al, 2009).

#### **4.18.4. Estructura de la bacteria Lactobacillus.**

La pared celular de los *Lactobacillus*, observada al microscopio electrónico es típicamente Gram positiva y contiene peptidoglicanos (mureínas) de varios quimio tipos, de ahí que el peptidoglicano del tipo Lisina-D-Asparagina sea el más ampliamente distribuido. Esta pared también contiene polisacáridos unidos al peptidoglicano mediante enlaces fosfodiéster, pero sólo presenta ácidos teicoicos relacionados a ella en algunas especies. También pueden apreciarse al microscopio electrónico grandes mesosomas que caracterizan a este género.

#### **4.18.5. Crecimiento de Lactobacillus.**

Dentro de los factores extrínsecos más importantes que afectan la viabilidad y sobrevivencia de las células se encuentran: el pH (condiciones de acidez derivadas del proceso de fermentación), el oxígeno disuelto (especialmente para bifidobacterias), las interacciones antagónicas entre especies, la composición química del medio de cultivo, la concentración final de azúcares (aumento de la presión osmótica), las prácticas de inoculación (es importante conocer el momento adecuado para el agregado del cultivo probiótico), la temperatura y duración de la fermentación.

**4.18.6. pH:** Los *Lactobacillus* crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 -4,5 y con uno óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 4 hasta 3,6 en dependencia de especies y cepas y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos. Los *Lactobacillus* son capaces de disminuir el pH del sustrato donde se encuentran por debajo del valor 4,0 mediante la formación de ácido láctico. De esta forma evitan o al menos disminuyen considerablemente el crecimiento de casi todos los otros microorganismos competidores, exceptuando el de otras bacterias lácticas y el de las levaduras. (Pía Taranto et al, 2009).

**4.18.7. Necesidades de Oxígeno:** La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO<sub>2</sub> (de aproximadamente 5% o hasta el 10%) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos. (Pía Taranto et al, 2009).

**4.18.8. Temperatura de crecimiento:** La mayor parte de los *Lactobacillus* son mesófilos (entre 30 - 40°C), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53°C, algunos crecen por debajo de 15°C y hay cepas que crecen por debajo de 5°C. Otros crecen a temperaturas bajas, cercanas al punto de congelación (por ejemplo, los que habitan en carnes y pescados congelados).

Los llamados *Lactobacillus* "termófilos" pueden tener un límite superior de temperatura de 55°C y no crecen por debajo de 15°C. Aún no se conocen los verdaderos *Lactobacillus* termófilos que crezcan por encima de 55°C (Canales F.2010).

#### **4.19. Calidad de agua.**

Los camarones son organismos delicados, susceptible de sufrir estrés antes condiciones ambientales adversas. En condiciones de estrés no comen bien tienden a enfermarse y crecen despacio al mantener condiciones ambientales los granjeros

pueden incrementar la supervivencia, la conversión alimenticia y producción de su cultivo.

El medio ambiente en un estanque de camarón es esencialmente suelo y agua y los factores que afectan al camarón son las variables de calidad de agua y suelo. Los efluentes de las granjas pueden causar efecto adverso en las aguas costeras de nutrientes, materia orgánica y sólidos suspendido no obstante, el efecto negativo de los efluentes es menor si las granjas son adecuadamente manejadas y si se mantienen buenas condiciones en la calidad de suelos y agua. (Herrera C. et al 2009).

El soporte principal del medio de cultivo de camarones es el agua. Del agua dependen los parámetros físico-químicos siendo los más importantes:

#### **4.20. Factores físicos-químicos.**

**4.20.1. Oxígeno disuelto (O.D):** El oxígeno de la atmósfera se disuelve con facilidad en el agua hasta que ésta se satura. Una vez disuelto en el agua, el oxígeno se difunde muy lentamente y su distribución depende del movimiento del agua aireada. Las plantas acuáticas, las algas y el fitoplancton, producen también oxígeno como un subproducto del proceso de fotosíntesis. La cantidad de oxígeno requerida varía de acuerdo a las especies y a su grado de crecimiento. Los niveles de oxígeno disuelto por debajo de 3 mg/L dañan a la mayor parte de los organismos acuáticos y por debajo de 2 ó 1 mg/L los peces mueren. Para el desarrollo de los mismos se requieren usualmente niveles de 5 a 6 mg/L. (Martínez E. 2009).

**4.20.2. Temperatura:** El rango óptimo de temperatura del agua para el normal desarrollo de estas especies es de 27 - 32 °C grados centígrados, temperaturas superiores causan "STRESS" y temperaturas inferiores generan su crecimiento lento, y mueren a temperaturas de 12 grados centígrados. El camarón es un animal poiquiloterma y por tanto la temperatura influye en modo directo en su metabolismo. El período de digestión depende de la temperatura desde el momento que interviene un gran número de reacción química, cuya velocidad se encuentra determinada por la naturaleza del camarón; a mayor actividad enzimática hay una intensificación de los procesos de digestión y alimentación.

**4.20.3. Salinidad:** los intervalos de tolerancia de la salinidad para los camarones es muy amplia y pueden sobrevivir de 0ppm hasta 50ppm, el intervalo de crecimiento óptimo es de un promedio de 15-25ppm. La salinidad alta tiene consecuencia nefasta sobre el ecosistema del estanque sabemos en efecto que para las salinidades altas o bajas los organismos marinos deben utilizar una gran parte de su energía para equilibrar su medio interior con el exterior esto se hace en contra de la sobrevivencia y el crecimiento. El camarón es un organismo euralino ya que soportan rangos de salinidad aunque no de forma brusca. (Martínez E. 2009).

**4.20.4. pH:** es el logaritmo de la concentración de iones hidrogeno, es un parámetro que en los ambientes acuáticos pueden ser la causa de muchos fenómenos químicos y biológicos pero también pueden tener consecuencia de otro fenómeno se refiere principalmente al contenido de hidrogeno en el agua, el rango óptimo en acuicultura es de 7.5-8.5.

Cuando los organismos son expuestos a pH bajos la cantidad de mucus de la superficie branquial aumenta, lo cual interfiere en el intercambio gaseoso que se realiza através de las branquias. Por tanto un daño a nivel del balance acido- básico sanguíneo, resulta en estrés respiratorio (Martínez E. 2009)

#### **4.21. Manejo de alimentación.**

Los alimentos para acuicultura no son simplemente alimento para pollos o cerdos que han sido molidos finamente y formulados de forma diferente. Los alimentos para acuicultura deben mantener su carga útil después de ser sumergidos en el agua. Aproximadamente de los 40 nutrientes esenciales presentes en el alimento, todos los aminoácidos, 10 de las vitaminas y la mayoría de los minerales son solubles en el agua y esto constituye un problema. Para el pez que consume el alimento casi de una vez, tal como salmón y trucha, el problema no es tan serio, pero para peces que comen lentamente y especialmente para camarones, puede ser un problema la lixiviación de los nutrientes del alimento después de la alimentación pero antes que sea consumido. Es peor aún en el camarón por la manera en que come. Los camarones son masticadores externos, lo que significa que mastican el alimento fuera de su boca. Ellos rompen los pellets e ingieren pequeñas partículas, pero no comen

cada pizca: algunas partículas se disuelven o se quedan en el fondo o flotando. Los productores de alimento tratan con este problema de varias maneras: Primero, muelen los ingredientes a un tamaño muy pequeño para dispersar nutrientes en los pellets. (Hardy, R. 1999).

Si el camarón solo come una pequeña esquina del pellet, esa esquina debe contener todos los nutrientes esenciales en el alimento. Pequeños tamaños de partícula en el pellet también previene que el camarón agarre y escoja partículas para consumir. Si el camarón prefiere las partículas de la harina de pescado sobre las partículas de la mezcla de minerales en el pellet, la molienda previene que coman todas las partículas de harina de pescado y dejen las partículas de mineral y por ende deje de consumir su requerimiento dietario de minerales. Segundo, los productores de alimento también usan aglutinantes para incrementar la estabilidad en el agua. (Hardy, R. 1999).

Los aglutinantes usualmente no son ingredientes nutritivos, lo que significa que ocupan espacio en la formulación del alimento y solo contribuyen a la producción de sólidos fecales. Tercero, los fabricantes de alimento usan formas estables al agua de algunos nutrientes, tales como productos encapsulados.

Estos productos pueden resistir la lixiviación, ser ingeridos, pero no digeridos por el camarón. El punto de este esfuerzo es incrementar la proporción de los nutrientes en el pellet del alimento para camarones que son consumidos por el camarón y usados para crecimiento, para hacer que el camarón sea parecido a la trucha en lo referente a consumo y factores de conversión. (Hardy, R. 1999).

La importancia del alimento y manejo del mismo no puede dejar de enfatizar en el cultivo del camarón. El costo del alimento constituye por lo menos el 50% del costo total de producción. Por lo tanto esta importante actividad debe ser cuidadosamente supervisada.

El programa de alimentación debe modificarse en periodos específicos durante el cultivo. El cambio en el tipo de alimento debe ser basado en el peso promedio de los camarones. (Navas, E. 2008)

#### **4.21.1. Uso de charolas.**

Las charolas se utilizan para monitorear consumos de alimentos y para observar el comportamiento y condición del camarón. Así como para ajustes de alimentación. La cantidad de alimento consumido por los camarones nos indica el incremento o reducción de la cantidad de la ración del día siguiente.

Algunas charolas se instalan después de la siembra para observar la condición y crecimiento del camarón, así como la presencia de plagas depredadoras y competidoras. Deben distribuirse proporcionalmente por la orilla del estanque, evitando áreas que los camarones no frecuentan debido a la posible existencia de tóxicos como amonio.

El monitoreo de consumo de alimento y ajustes de indicadores comienza del día 16 al 21 de cultivo cuando el camarón alcanza de 1-2 gramos de peso dependiendo de la temperatura del agua. El período de consumo es el tiempo asignado para que el camarón consuma el alimento. El comportamiento alimenticio del camarón dicta la hora para revisar las charolas después de alimentar. Los camarones pequeños requieren períodos de consumo más largos por que le toma más tiempo llegar a la charola comparada con camarones más grandes. (Navas. E, 2008)

Es importante tomar la hora cuando se coloca el alimento en las charolas ya que esta servirá como hora de referencia cuando se revise el consumo.

#### **4.21.2. Cantidad de alimento y criterios de ajustes.**

Bajo condiciones óptimas de cultivo se recomienda la siguiente cantidad de alimento y ajuste del alimento.

- a) Inmediatamente después de la siembra, utilizar migaja fina 35% proteína el cual se distribuye de acuerdo al programa de alimentación (tabla). Los ajustes se realizan gradualmente mediante tablas de alimentación elaboradas para los primeros 15 – 20 días de cultivo.
- b) Después del primer muestreo poblacional en el día 30 – 35 de cultivo los ajustes de alimentación se realizan tomando en cuenta la biomasa estimada y lectura de consumo de charolas.

Es de suma importancia confirmar con cada muestreo poblacional y de crecimiento la cantidad de alimento que se está proporcionando a la población de camarones por demanda y consumo en las charolas. En ambos métodos existe un alto riesgo de estimación por factor humano (condición de muestreo, falta de lectura, etc.) que hace necesaria la supervisión en la toma de datos. (Navas. E. 2008).

Para estimar el incremento o reducción correspondiente al consumo de alimento se utiliza el consumo promedio en las charolas donde se estima el alimento consumido al tiempo de la lectura se anota para calcular el promedio del estanque y dividir si le corresponde incremento o reducción en la ración de esa hora al día siguiente. (Navas. E. 2008).

#### **4.21.3. Consejos para el manejo de alimento.**

- a) Mantener siempre un ambiente saludable en el estanque manteniendo los parámetros de calidad de agua a su nivel óptimo. Los camarones en buenas condiciones aprovechan mejor el alimento y ganan mayor peso más rápido por lo tanto obtienen un mejor factor de conversión alimenticio.
- b) Mantener transparencia en 30 – 40 cm. de profundidad del estanque para proveer un ambiente oscuro en el fondo y simular condiciones de noche. Esto provoca que los camarones se alimenten activamente durante el día.
- c) Mantener niveles de oxígeno disuelto (O. D) no menores de 3mg/L a las 6:00 a.m. Cancelar o reducir 30% de la ración diaria cuando los niveles de O.D en el estanque sean menores de 3.0 mg/L a las 6:00 am.
- d) Reducir alimento si hay un colapso de fitoplancton.
- e) Reducir alimento durante lluvias fuertes.
- f) Durante el periodo de muda el camarón come menos de lo normal, el supervisor debe conocer el ciclo de muda en las diferentes tallas para minimizar las pérdidas de alimento y prevenir una sobre alimentación que resulta de un F.C.A alto. Aunque esto puede variar dependiendo de la región, estación del año y especie de camarón. (Navas. E. 2008).

#### **4.21.4. Factor de conversión alimenticia (FCA).**

El factor de conversión alimenticia es una medida del peso del camarón producida por kg de alimento establecido varía dependiendo de la densidad de siembra, calidad del alimento y tamaño del camarón cosechado, puede ser influenciado por otras razones como:

- ❖ Mortalidad repentina del camarón.
- ❖ Subalimentación del camarón quizás debido a densidades mayores de lo programado.
- ❖ Aporte del alimento suplementario junto con el balanceado.
- ❖ Todo el camarón o pérdida del alimento ante de suministrarlo al estanque.

El FCA varía durante el ciclo de producción y entre las poblaciones lo óptimo sería 0.6 a 1.0 en camarones hasta de 10 grs de peso entre 1.0 y 1.3 para tallas mayores. (Herrera C. et al 2009).

##### **4.21.4.1. Fórmula para determinar el FCA.**

$$\text{Factor de conversión FCA} = \frac{\text{Alimento aparentemente consumido (g)}}{\text{Incremento en peso (g)}}$$

#### **4.22. Estudios biológicos.**

En el proceso de cultivo de camarón es indispensable conocer la biomasa existente en el estanque, para poder realizar los cálculos de alimento a suministrarse para el crecimiento normal; y a la vez obtener datos de producción necesarios para los planes de comercialización futura del producto.

##### **4.22.1. Crecimiento.**

Es el aumento de peso y volumen de las células, órganos e individuos. Seguido por un incremento del tamaño acompañado de su diferenciación, un proceso en el que desempeña una importante función las interacciones celulares dadas durante el desarrollo del organismo.

Los muestreos de crecimiento deberán realizarse con 2 objetivos fundamentales uno para determinar el peso promedio de la población y el segundo es de estar en contacto directo con los camarones y hacer una evaluación objetiva de su condición basada en la observación de los camarones. (Herrera C. et al 2009).

Al realizar los muestreos se deberá tomar en cuenta lo siguiente:

- ✚ Utilizar siempre los mismos atarrayadores.
- ✚ La atarraya deberá ser la adecuada para el tamaño de los organismos.
- ✚ Iniciar muestreos de crecimiento 3 semanas después de la siembra.
- ✚ Realizarlo a temprana hora desde las 10 de la noche hasta a las 8 de la mañana.
- ✚ No realizarlo a temperaturas menores a 24° C sin presencia de viento entre otros. (Herrera C et al 2009).

#### **4.22.2. Ritmo de crecimiento.**

Es el crecimiento en peso de los organismos en un período de tiempo determinado.

El crecimiento semanal promedio en peso de los camarones puede ser obtenido a partir de camarones capturados en los comederos y/o extrayendo muestras mediante atarraya, una vez por semana. El ritmo de crecimiento debe ser de 1.0 grs semanalmente.

Para encontrar el ritmo de crecimiento del camarón se realiza la siguiente fórmula:

“R.C: peso actual del camarón – peso anterior del camarón” (Talavera V. et al 2005).

#### **4.22.3. Tasa de crecimiento.**

La Tasa de crecimiento es la forma de conocer la velocidad de crecimiento de los camarones en cada semana durante el periodo del cultivo.

El camarón en su estadio de postlarva tiene una mejor tasa de crecimiento que un camarón en su estado juvenil o adulto.(Martínez. E. 2011. Sugerencia personal)

#### **4.22.4. Muestreo de población.**

Para la evaluación de la población de camarón dentro del estanque, se debe tener conocimiento de ciertos datos previamente registrados como: peso promedio semanal del camarón, cantidad de alimento suministrado en el estanque mediante comederos durante los períodos de mayor actividad del camarón (fuera de muda y después de la rotación), que porcentaje (%) del peso corporal representa el alimento suministrado a ese peso promedio (para lo cual, se debe tener una tabla de suministro de alimento, adaptada y ajustada a las características de la camaronera o en último de los casos, otra tabla guía como las sugeridas por los proveedores de alimento).

Es necesario que los datos sobre muestreos poblacionales sean analizados constantemente, ya que pueden variar los consumos de alimento de acuerdo a su estación (el consumo es mayor en verano que en invierno), el aporte de la productividad natural del estanque, calidad del alimento, control consiente del consumo en comederos por el personal del alimentador. (Boletín Nicovita 2005.)

#### **4.22.5. Sobrevivencia.**

El estudio de la población se realiza para conocer la sobrevivencia del estanque así como su biomasa. Para calcular población, biomasa y sobrevivencia se procede como sigue:

1- Se determina la atarraya teórica,  $A = \pi \times r^2$ . El radio se mide con la atarraya extendida, el área de la atarraya real se calcula a partir del área teórica multiplicado con un factor de corrección de 0.65 está determinado por:

- a- Viento imperante.
- b- La eficiencia del hombre que tira la atarraya en abrirla en 100%.
- c- Profundidad del estanque.
- d- Peso de la atarraya, este factor de corrección de la atarraya trata de corregir la eficiencia de la atarraya al momento de caer al fondo del estanque.

2- Se realiza de 3-5 lances por hectáreas y se promedia el número de camarones entre el número de lances y se obtiene individuo x lances.(Herrera C. et al 2009).

3- Se obtiene un número de camarones por m<sup>2</sup>, para ello se debe tomar en cuenta el factor de corrección de la atarraya.

4- Se aplica el factor de corrección este factor corrige el cálculo de números de camarones que se encuentran al momento de caer la atarraya abierta al 100% en la superficie del estanque, los camarones que se encuentran en ese instante en el fondo del estanque en el área donde cae la atarraya.

#### **4.22.6. Rendimiento Productivo.**

Este se basa en el buen manejo del FCA para que de esta manera la biomasa esperada a la hora de la cosecha sea parecida a la proyección de cosecha inicial que hacemos antes para saber si nos va a rendir o no la producción es decir si es rentable o no.

Biomasa final = peso promedio x números de individuos sobrevivientes final. (Herrera C.et al 2009).

## 4.23. MATERIALES Y METODOS.

### 4.23.1. Localización del sitio donde se establece el experimento.

Laboratorio de Investigaciones Marinas y Acuícolas de la UNAN-León (LIMA) se encuentra ubicado en la comunidad Las Peñitas a 20km al suroeste de la ciudad de León. Las Coordenadas UTM son 496455.8m E y 1367340.7m N. Esta investigación duro 30 días.

### 4.23.2. Dispositivo experimental.

Este dispositivo era con flujo de agua continua, contenía un reservorio con capacidad de 450 Lts de agua, este tenía aireación por medio de un blower y agua filtrada, extraída del mar con una bomba de 3 pulgada para luego depositarla a un reservorio madre y después bombearla con una bomba sumergible al reservorio del dispositivo, este reservorio le suministraba agua y aireación a 6 recipientes plástico con capacidad de 80 Lts de agua, donde 3 recipientes se le aplicaba probiótico y a los otros 3 recipientes no se le aplicaba probiótico.

**Repetición con probiótico:** En esta investigación se usaron 3 recipientes de 80 Litros de capacidad con una profundidad de 20 centímetros cada recipiente, se sembró con una densidad de siembra de 35 camarones por metro cuadrado en cada recipiente, este se oxigenó las 24 horas con un blower para que el agua que llegue a los 6 recipientes del experimento tengan siempre oxígeno disuelto en el agua. En tres recipientes se usó la bacteria *Lactobacillus acidophyllus* como probiótico.

**Repetición sin probiótico:** En esta investigación se usaron 3 recipientes de 80 litros de capacidad con una profundidad de 20 centímetros cada recipiente, se sembró con una densidad de siembra de 35 camarones por metro cuadrado en cada recipiente, este se oxigenó las 24 horas con un blower para que el agua que llegue a los 6 recipientes del experimento tengan siempre oxígeno disuelto en el agua, y en estos tres recipientes no se usó la bacteria *Lactobacillus acidophyllus* como probiótico.

#### **4.23.3. Elaboración del probiótico.**

La activación de la solución madre y replica del probiótico a base de suero de leche de vaca consiste en proporcionarle productos tales como: suero, agua salada y melaza.

Las proporciones que se utilizaron para su activación fue de 8:1 lo que significa 80% de suero y 10% de melaza diluido en un recipiente herméticamente cerrado esto es para completar 3 litros de probiótico, se dejó fermentando durante dos días hasta que tenga pH ácidos y un sabor agridulce esto significa que el proceso de activación está completo.

#### **4.23.4. Proceso de replicación.**

Concepto de replicas: secuencia idéntica de las células madres. A continuación se detalla el procedimiento de replicas:

A la réplica se le aplicó una proporción de 8:1:1 lo que significa 80% de agua, 10% de la solución madre y 10% de melaza para completar los 3 litros de probiótico utilizado en esta investigación.

#### **4.23.6. Factores físicos químicos.**

**4.23.6.1. Oxígeno disuelto (O.D):** Se midió con un Oxígenómetro marca YSI 550, a 4 veces al día (8 am, 12 pm, 4 pm, y 8 pm.) Este se introdujo en cada recipiente a una profundidad de 15 cm observando en la pantalla del Oxígenómetro la medición del Oxígeno disuelto.

**4.23.6.2. Temperatura (T°C)** Se midió con un Oxígenómetro marca YSI 550<sup>a</sup> 4 veces al día (8 am, 12 pm, 4 pm, y 8 pm.) Este se introdujo en cada tina del experimento a una profundidad de 15 cm Observando en la pantalla la temperatura.

**4.23.6.3. Salinidad (S<sup>0</sup>/<sub>100</sub>):** Se midió con un Salinómetro marca Hannah, 4 veces al día (8 am, 12 pm, 4 pm, y 8 pm). Para poderlo medir primero se calibró con agua dulce dejándolo a salinidad cero luego se toma una gota de agua salada de cada

recipiente del experimento se coloca el instrumento hacia la luz para ver la cantidad de sal que hay en el agua en cada recipiente del experimento.

#### **4.23.7. Estudio de bacterias *Lactobacillus acidophyllus*.**

Al realizar este experimento se observó el hepatopáncreas del camarón a través del microscopio para ver más detallado el comportamiento de la bacteria *Lactobacillus acidophyllus*, lo hicimos de la siguiente manera:

Se capturó un camarón cada 5 días por cada recipiente para hacerle un estudio bacteriológico, en donde se le extraía el hepatopáncreas para ver si había presencia de vibrión o no, para esto se utilizó el siguiente procedimiento:

- Peso del hepatopáncreas (Hp) diluido en 10 ml de solución salina al 25%.
- Luego se cultivó el hepatopáncreas y se colocó un cuarto de cada muestra en Agar TCBS en los platos petri.
- Se colocó en una caja cerrada de madera a una temperatura de 30°C por 18 a 24 horas.
- Se sacó de la caja para hacer el conteo de colonias formadoras de vibrión *Alginolyticus*.

#### **4.23.8. Medios de cultivo:**

Tipo de medio de cultivo: selectivo, este permite solo un tipo de crecimiento de bacterias

Agar TCBS: vibrio

Procedimiento:

- Se pesó 89 gramos de Agar TCBS, en una balanza gramera con capacidad de 200g, y se disuelve en un litro de agua destilada en un matraz.
- Se puso a calentar en un termo agitador hasta que hirvió (2 veces); se dejó enfriar hasta una temperatura de 45°C
- Posteriormente se vació en los platos petri (aproximadamente 20ml a cada plato de 90x10). Se espera a que gelifique y se metió a secar en un horno a 30°C por 24 horas.

Nota: este medio no requiere de esterilización.

#### **4.23.9. Conteo de las unidades formadoras de colonia.**

La placa de TCBS es incubada a 30°C durante un período de 18 a 24 horas. Pasado el tiempo de incubación se procedió a realizar el conteo de colonia por mililitro (UFC/ml).

#### **4.23.10. Estudios de poblaciones.**

##### **4.23.10.1. Crecimiento.**

Se sacaron cinco camarones de cada recipiente del experimento con un chayo para colocarlos luego en un balde con agua del mismo recipiente de cada repetición se pesaron en una balanza marca OHAUS con 200 grs de capacidad, antes de pesar cada camarón se secaron con un trapo seco para tener una mejor lectura del peso del camarón, esto se hizo semanalmente para llevar un control del peso.

##### **4.23.10.2. Ritmo de crecimiento.**

Con el procedimiento anterior de crecimiento nos dimos cuenta cuanto ha crecido el camarón semanalmente y de esta manera hacer el ritmo de crecimiento que es simplemente, la diferencia en peso de los camarones de la semana anterior con la actual. R.C: peso actual-peso anterior

##### **4.23.10.3. Tasa de crecimiento.**

Para sacar la tasa de crecimiento se pesaron los camarones semanalmente de cada recipiente y el peso acumulado de cada semana resultaron ser nuestra tasa de crecimiento de esa manera nos dimos cuenta con que velocidad está creciendo los camarones semanalmente tanto camarones con aplicación y sin aplicación de probiótico.

T.C:  $+((( -\text{LOG}_{10}(S_4) + \text{LOG}_{10}(S_3) * 100) / 5))$

Log<sub>10</sub>(s<sub>4</sub>): semana actual

Log<sub>10</sub>(s<sub>3</sub>): semana anterior

#### **4.23.10.4. Supervivencia:**

Se observó todos los días cada una de los recipientes del experimento para ver si hay muertos o no y poder calcular la supervivencia final de la investigación.

#### **4.23.10.5. Factor de Conversión Alimenticia.**

Fórmula de factor de conversión alimenticia:

$$\text{Factor de conversión FCA} = \frac{\text{Alimento aparentemente consumido (g)}}{\text{Incremento en peso (g) Alimenticia}}$$

#### **4.23.10.6. Rendimiento Productivo.**

El rendimiento productivo se calcula con la siguiente fórmula:

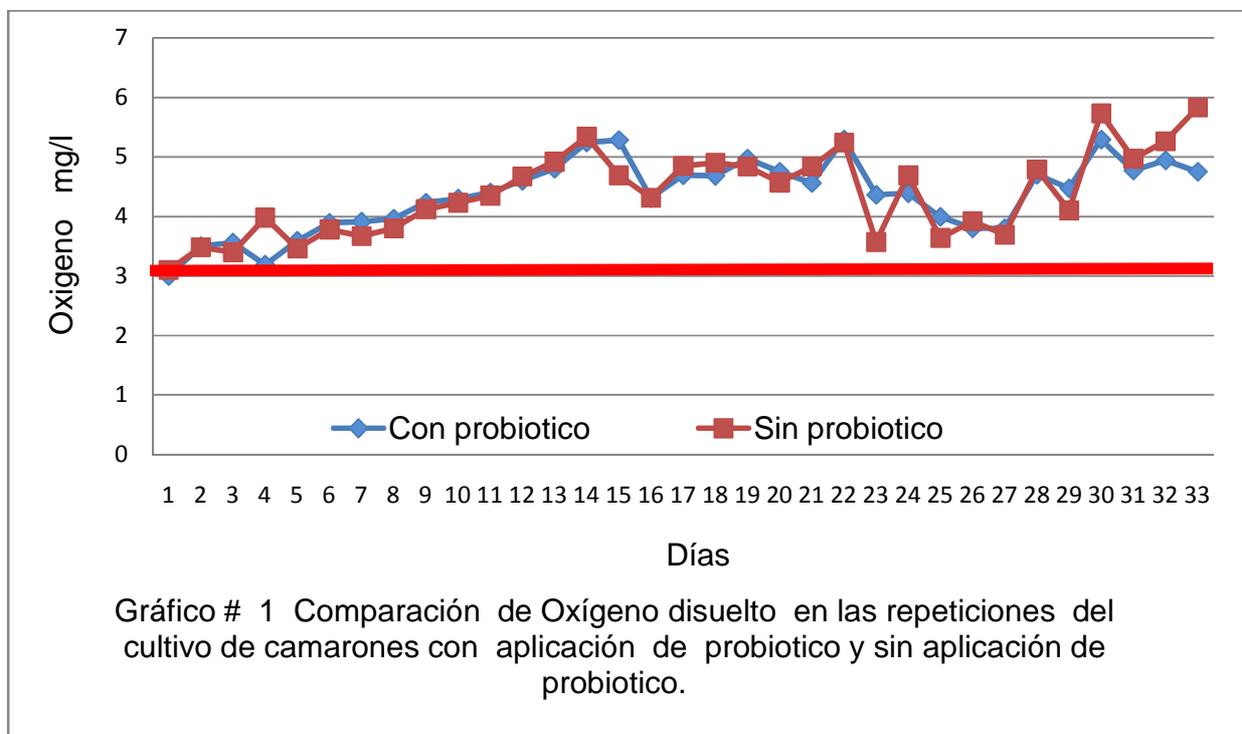
“Biomasa final = peso promedio x números de individuos sobrevivientes final.”

Lo que significa que las libras cosechadas fue igual al peso promedio que obtuvo el camarón al final del cultivo por los camarones sobrevivientes al final del cultivo.

## V.- RESULTADO Y DISCUSIÓN

### Oxígeno Disuelto

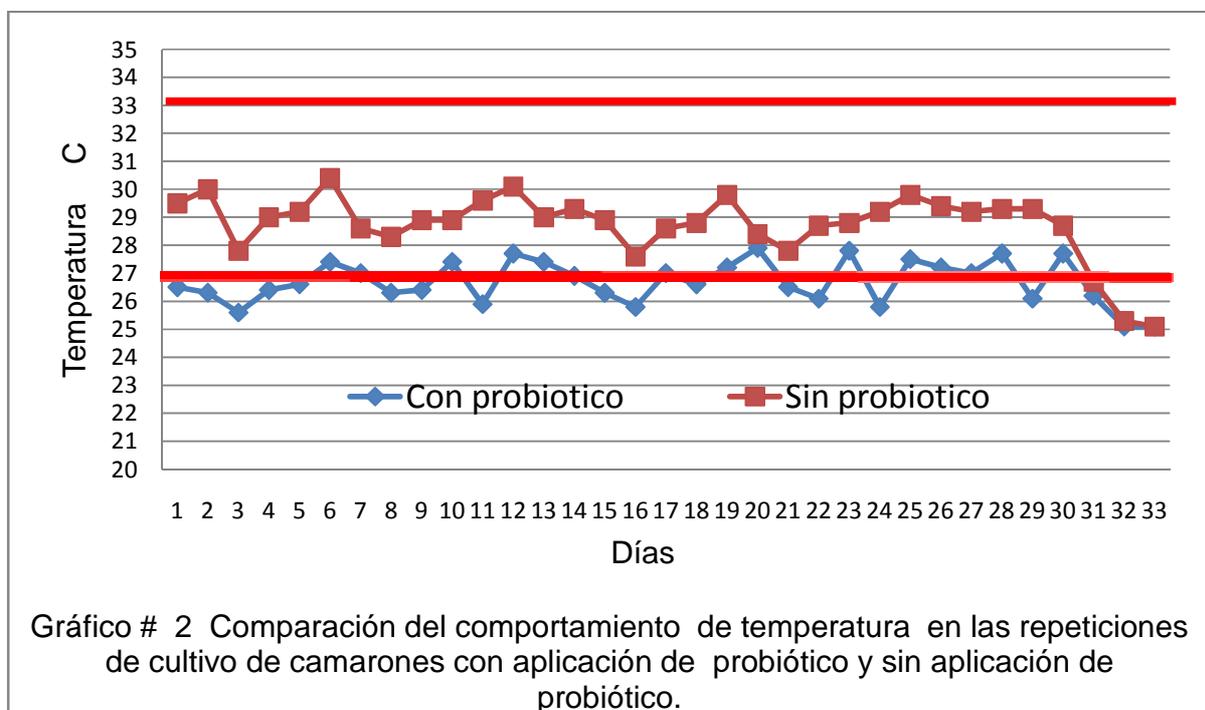
En la gráfica# 1 puede observarse que los valores de oxígeno disuelto variaron entre 3 y 6 mg/L en ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probiótico) sin diferencias significativas. En la condición con probiótico los valores máximos fueron 5.2 mg/L el día 15 y 30. Los valores mínimos fueron registrados los días 1 y 4 con una concentración de 3 y 3.1 mg/L. En la condición experimental sin probiótico los valores máximo fueron de 5.8 mg/L el día 30 y 5.9 mg/L el día 33. Los registros mínimos de O.D fueron el primer y tercer día con 3 y 3.2 mg/L. El comportamiento del O.D en el transcurso del experimento se mantuvo entre sus rangos óptimos. Según Martínez; E 2009, el oxígeno disuelto en el ambiente del organismo es muy importante para su buen desarrollo y crecimiento, ya que con niveles por debajo de 3 mg/L dañan a la mayor parte de los organismos, lo que se puede ver en la gráfica # 1 que el oxígeno disuelto no afectó en el crecimiento del camarón por qué estuvo por encima de los rangos óptimos.



## Temperatura

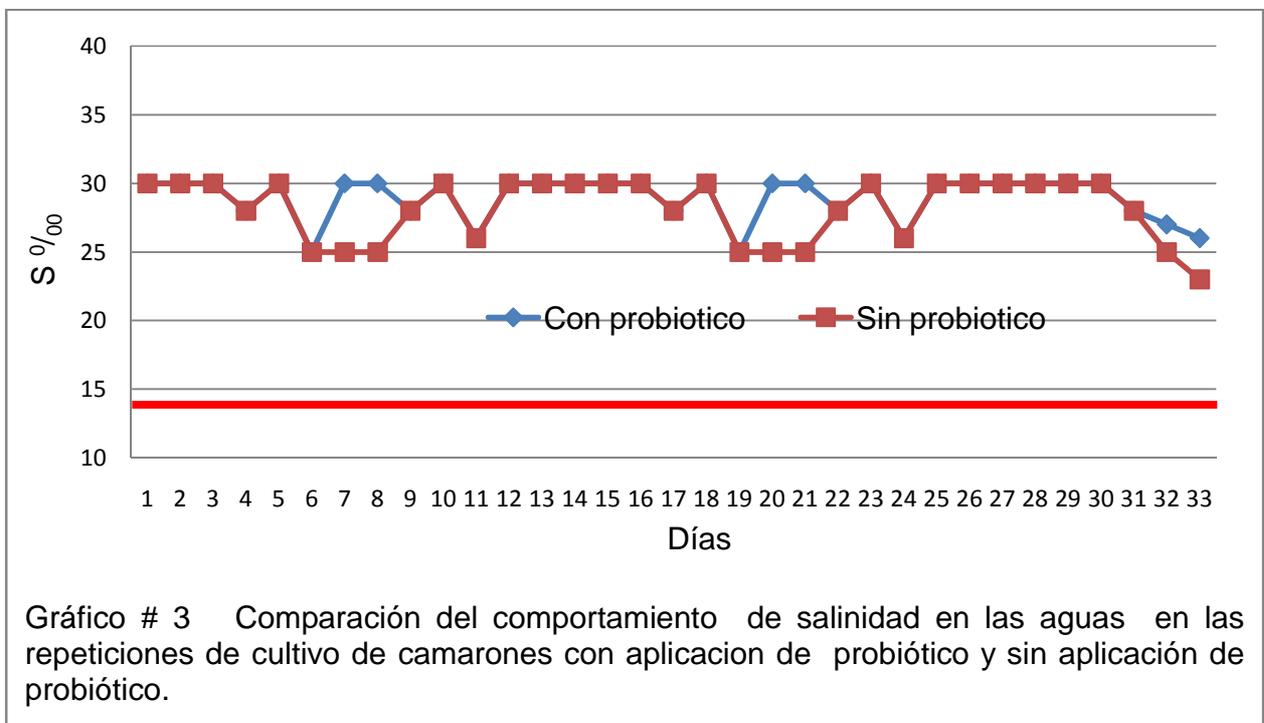
En la gráfica # 2 puede observarse que los valores de temperatura variaron entre 25 y 30 °C en ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) posiblemente se deba a la incidencia directa del sol sobre las repeticiones de la condición experimental "Sin Probiótico" el cual registra los valores mayores. En la condición "con probiótico" los valores máximos fueron de 28°C el día 20 y 27.8 °C el día 12. Los valores mínimos fueron de 25 °C los días 32 y 33. En la condición experimental sin probiótico los valores máximos fueron de 30.2 °C el día 6 y el día 12 de 30 °C. Los registros mínimos fueron de 25 y 25.2 los días 32, y 33.

Según Martínez. E 2009, el camarón es un organismo poiquiloterma lo que indica que si la temperatura se mantiene fuera de sus rangos óptimos que son entre 27-33 °C afecta el metabolismo, cuando está por debajo de estos intervalos detiene el proceso metabólico impidiendo el buen crecimiento del camarón, lo que se pudo demostrar en la gráfica# 2 que la repetición con probiótico estuvo casi siempre por debajo de los intervalos aceptables, lo que puede indicar que este factor afectó al camarón en el transcurso del experimento.



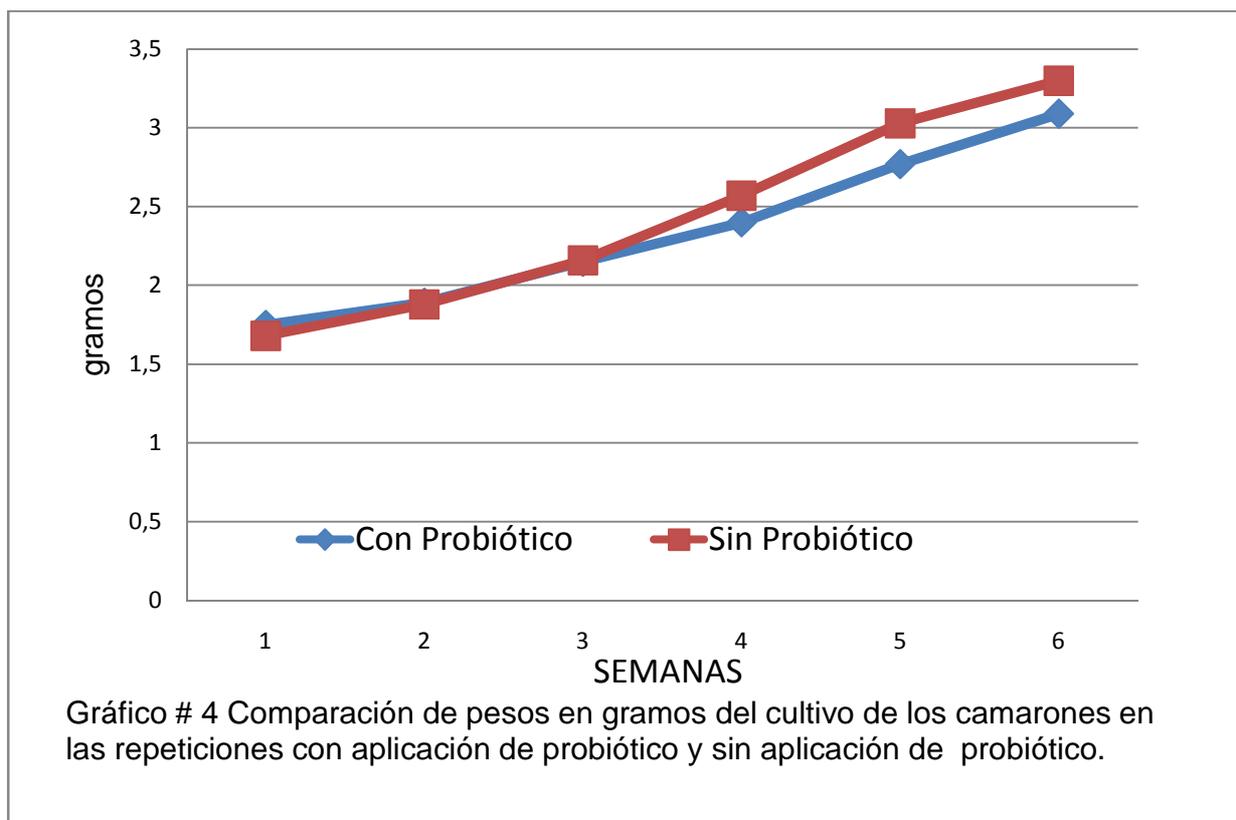
### Salinidad

En la gráfica # 3 puede observarse que los valores de salinidad variaron entre 23 y 30‰. En ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) se observa el mismo comportamiento de la salinidad sin diferencias significativas. En la condición con probiótico los valores máximos fueron de 30‰ el primer día y se mantuvo casi igual en la mayoría de días. Los valores mínimos fueron registrados los días 6 y 19 con una concentración de 25‰S. En la condición experimental sin probiótico los valores máximos fueron para el día 1 de 30‰ y se mantuvo constante durante la mayoría de los días. Los registros mínimos fueron los días 32 y 33 con una concentración de 24.9 y 23‰. La tendencia observada fue que la salinidad se mantuvo constante durante la mayoría de días del experimento y sólo se redujo al finalizar. Según Martínez E. 2009 el camarón es un organismo euralino ya que soporta amplios rangos de salinidad que van desde 15‰ a 32‰, si el camarón está fuera de estos rangos puede tener consecuencias nefastas para él, ya que ocupa energía en equilibrar su medio interior con el exterior en vez de ser ocupada para su crecimiento, en nuestros resultados se observó que la salinidad se mantuvo entre sus rangos aceptables.



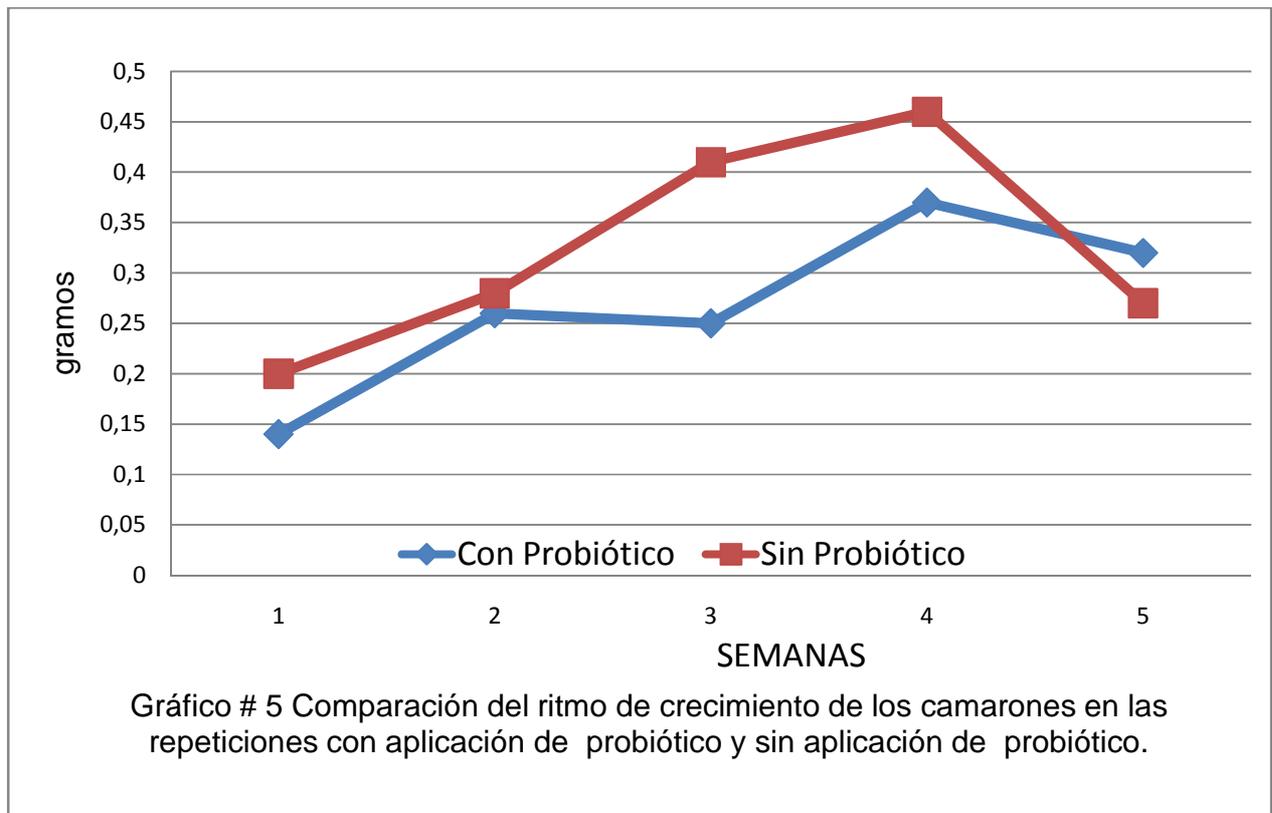
### Crecimiento en peso

En la gráfica # 4 puede observarse que los valores de peso variaron entre 1.8 y 3.3. En ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) se observa el mismo comportamiento del peso sin diferencias significativas. En la condición con probiótico los valores máximos de peso fueron la sexta semana con 3.09 grs. Los valores mínimos fueron registrados la primera semana con 1.8 grs. En la condición experimental sin probiótico los valores máximo fueron en la sexta semana con 3.3 grs. Los registros mínimos fueron en la primera semana con 1.7 grs. La tendencia observada fue que se mantuvo constante el peso durante las primeras 4 semanas y las 2 últimas semanas se incrementó el peso. Según Martínez. E 2009, el crecimiento del camarón debe crecer semanalmente 1gr. Y en el gráfico # 4 se observó un lento crecimiento de los camarones comprobando que los factores físico-químicos en este caso la temperatura influyó en el crecimiento del camarón.



### Ritmo de crecimiento

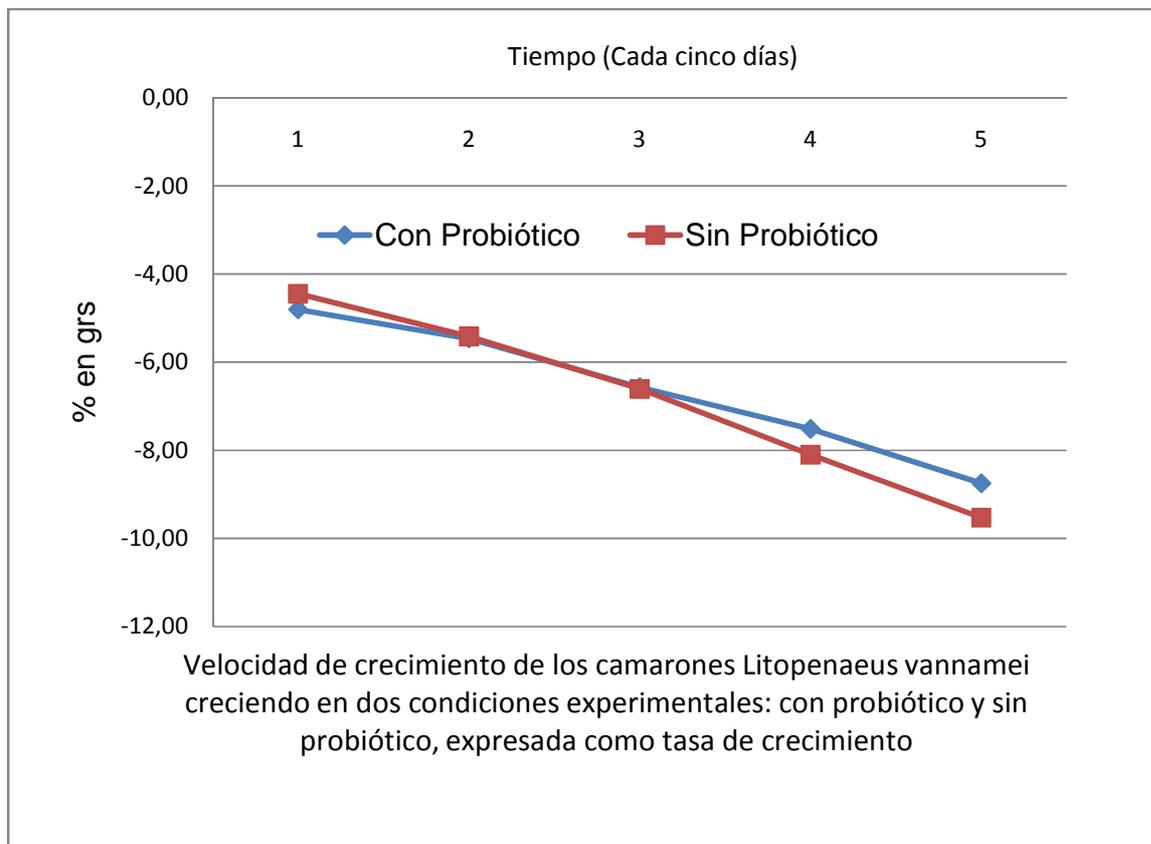
En la gráfica# 5 puede observarse que los valores de ritmo de crecimiento variaron entre 0.14 y 0.46. En ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) se observó el mismo comportamiento del ritmo de crecimiento. En la condición con probiótico los valores máximos de ritmo de crecimiento fueron la cuarta semana con 0.37 grs. Los valores mínimos fue registrado la primera semana con 0.14 grs. En la condición experimental sin probiótico los valores máximo fueron en la cuarta semana con 0.46 grs Los registros mínimos fueron en la primera semana con 0.2 grs. La tendencia observada es que mediante va pasando el tiempo fue aumentando su peso hasta la última semana que disminuyó ambas repeticiones. Según (Talavera. V) el ritmo de crecimiento debe ser de 1.0 grs por semana y en el gráfico # 5 se mostró que obtuvo un crecimiento lento debido a las bajas temperaturas, afectando el buen metabolismo del camarón.



### Tasa de crecimiento

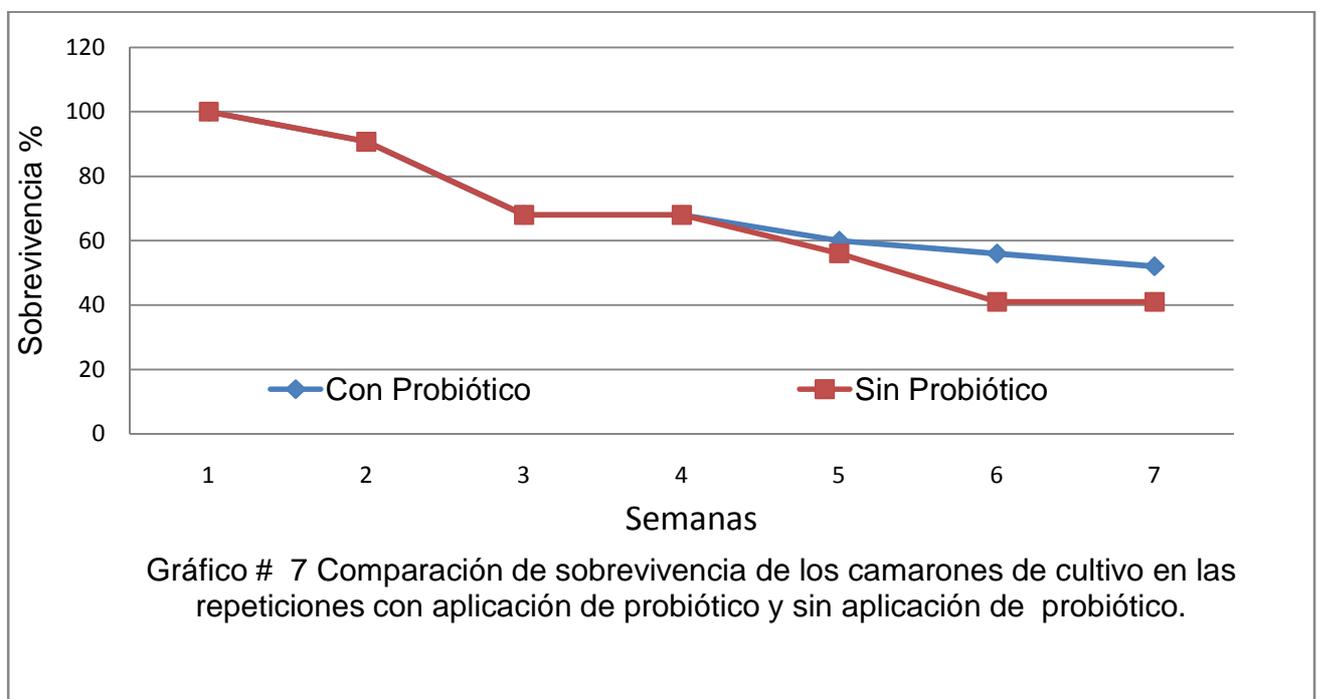
En la gráfica # 6 puede observarse que los valores de tasa de crecimiento variaron entre 4.8 y 8.1 unidades. En ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) se observó el mismo comportamiento de la tasa de crecimiento. En la condición con probiótico los valores de la velocidad con que crecieron los camarones se hicieron progresivamente diferentes con respecto a la velocidad con que crecieron los organismos en la condición sin probiótico, a partir de la semana 3. Sin embargo en las dos primeras semanas la velocidad de crecimiento de los camarones sin probiótico fue más rápida que la velocidad de crecimiento de los camarones con probiótico.

Como es lógico esperar las tasas de crecimiento en las primeras edades de los camarones es la más alta y luego de manera progresiva va bajando. Por otro lado, se pudo establecer que los animales con la aplicación de probióticos a partir del tercer muestreo mejoró la tasa de crecimiento y cada vez se hizo más rápida que los animales sin probiótico.



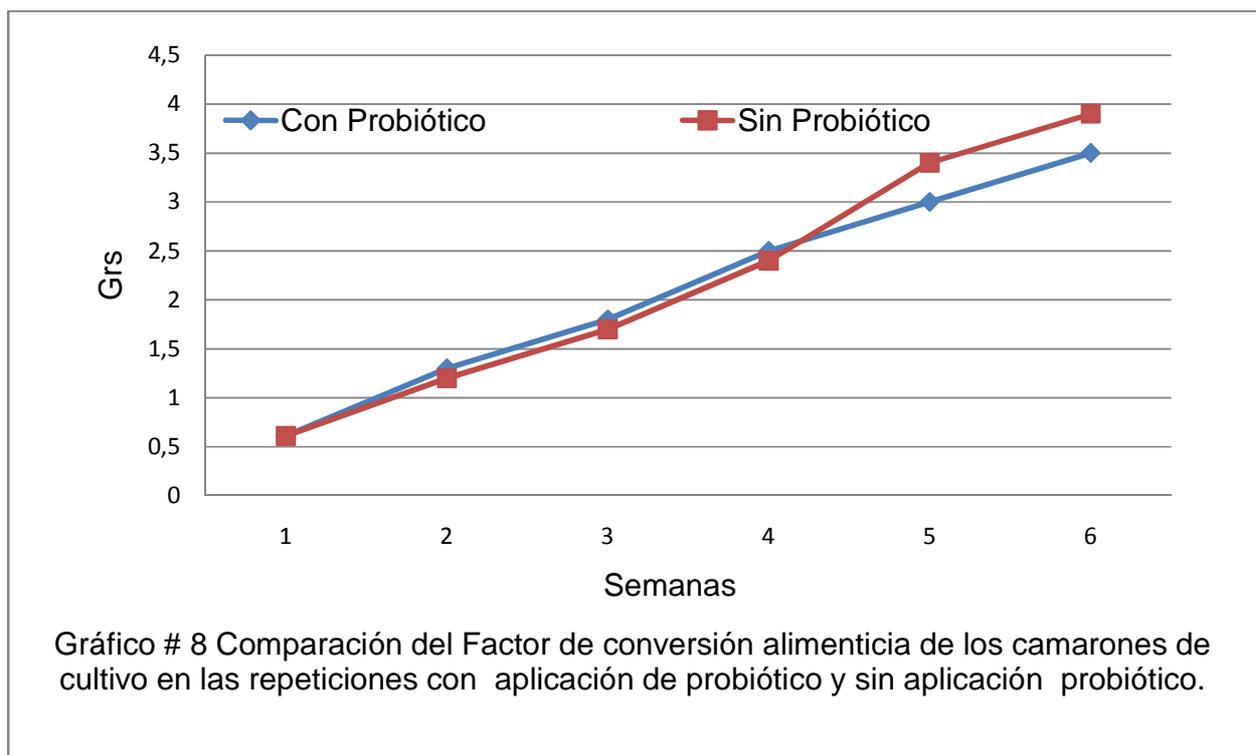
## Sobrevivencia

En la gráfica # 7 puede observarse que los valores de sobrevivencia variaron entre 40 y 100% de camarones en ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos). En la condición con probiótico los valores máximos de sobrevivencia fueron del 90% de camarones en la segunda semana. Los valores mínimos fueron de 52% en la sexta semana en la condición con probiótico. En la condición experimental sin probiótico los valores máximos fueron de 90% en la segunda semana. Los registros mínimos fueron de 41% en la sexta semana en la condición sin probiótico. La tendencia observada fue que se mantuvo constante entre los 2 experimentos la sobrevivencia durante las primeras 3 semanas y las 3 últimas semanas la condición experimental sin probiótico tendió a disminuir el porcentaje de sobrevivencia un poco más en comparación a la condición con probiotico. Según Martínez E. 2009 la sobrevivencia aceptable al finalizar el cultivo del camarón es de 50% al 80%, y en la gráfica # 7 se puede ver un mejor resultado de sobrevivencia en donde se aplicó probiótico.



### Factor de Conversión Alimenticia

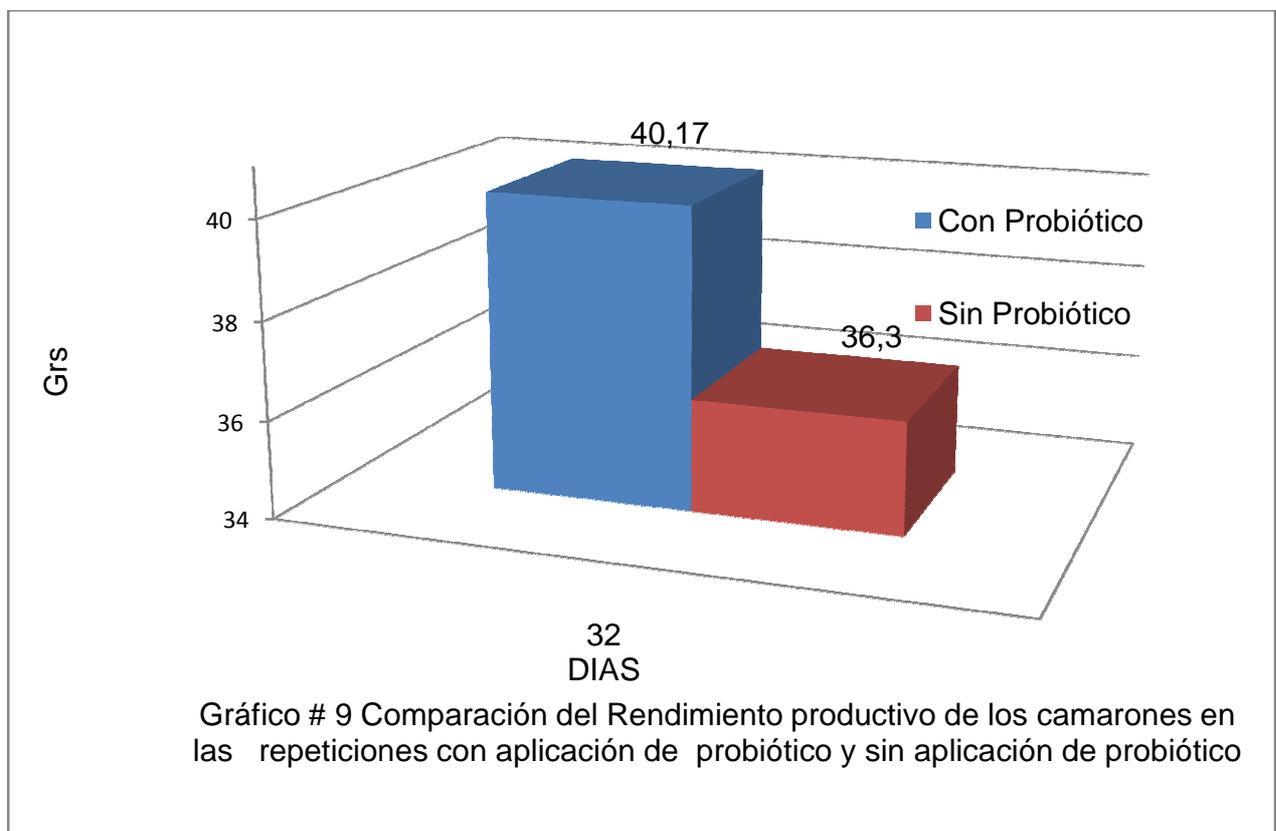
En la gráfica # 8 puede observarse que los valores del factor de conversión alimenticia variaron entre 0.61 a 3.9 grs. En ambas condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos) En la condición con probiótico los valores máximos del factor de conversión alimenticia fueron de 3.5 grs. en la sexta semana. Los valores mínimos fueron de 0.61grs en la primera semana. En la condición experimental sin probiótico los valores máximos fueron de 3.9 grs en la sexta semana. Los registros mínimos fueron de 0.61 grs. en la primera semana. La tendencia observada fue que se mantuvo constante el factor de conversión alimenticia las primeras 3 semanas y en las 2 últimas semanas tendió a aumentar. Según Martínez. E 2009, el factor de conversión alimenticia aceptable para el crecimiento del camarón es de 1 a 1.5 libra de camarón por 1 a 1.5 de alimento y en el gráfico se pudo observar que estuvo un poco por encima de lo aceptable.



### Rendimiento productivo

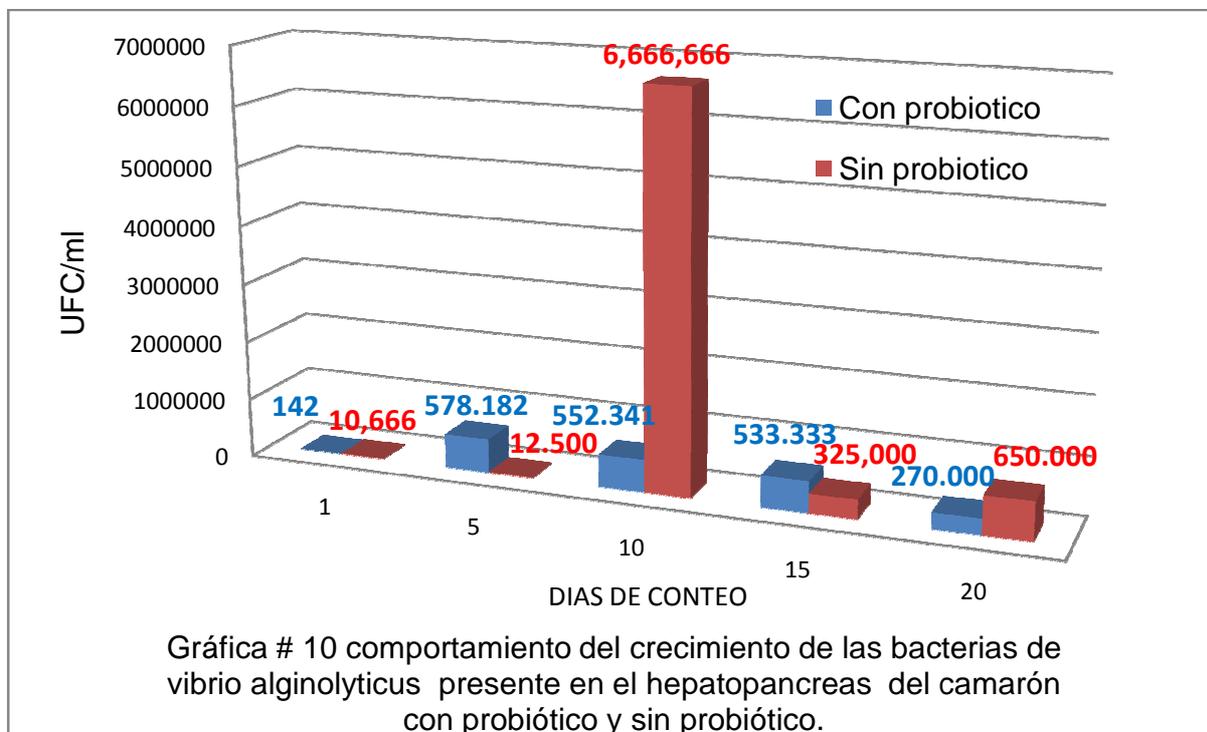
En la gráfica # 9 puede observarse que los valores del Rendimiento Productivo estuvieron entre 36 y 40 grs. En las condiciones experimentales (Con probiótico y sin probióticos). En la condición con probiótico su rendimiento productivo final fue de 40 grs. Y en la condición experimental sin probiótico su rendimiento productivo fue de 36 grs. La tendencia observada fue que la repetición con probiótico obtuvo un mayor rendimiento productivo que la repetición sin probiótico. El Rendimiento Productivo en cualquier cultivo de camarón usando probiótico debe tener una buena producción en libras de camarón, en el gráfico # 9 se pudo observar que si se obtuvo un mejor resultado en la aplicación con probiótico que en la sin aplicación de probiótico.

Según Villamil. L. 2009 el rendimiento productivo en estanques con aplicación de probiótico ayuda a mejorar la calidad del agua, el sistema inmune del camarón entre otras. En el gráfico # 9 se observó que al aplicar probiótico si mejora el rendimiento productivo.



## Crecimiento de colonias bacterianas

En la gráfica # 10 puede observarse que los valores de crecimiento de colonias amarillas (Alginolíticas) variaron entre 142 UFC/ML a 6, 666,666 UFC/ML En ambas condiciones. En la repetición con probiótico los valores máximos de crecimiento de bacterias fueron de 578,182 UFC /ML en la segunda semana. Los valores mínimos fue registrado la primera semana con 142 UFC/ML .y en la repetición sin probiótico los valores máximo fueron de 6,666, 666 ufc/ml en la tercera semana. Los registros mínimos fueron de 10,666 UFC/ML en la primera semana. La tendencia observada fue que las bacterias de vibrio crecieron más en las repeticiones sin probiótico que en las repeticiones con probiotico. Según Herrera C. 2010 las bacterias de *Vibrio alginolyticus* en el hepatopáncreas deben tener un máximo de  $10^6$  de UFCA de cel. /ml, y en el gráfico 10, se demostró que el probiótico a base de suero de leche de vaca, si tuvo un efecto positivo en controlar las *Vibrios alginolyticus* presente en el hepatopáncreas.



## VI. CONCLUSION

1. Llegamos a la conclusión que los factores físicos y químicos si influyen en el crecimiento del camarón ya que la temperatura estuvo en 25 °C mientras que el oxígeno no interfirió en el crecimiento y estuvo siempre en los intervalos aceptables de 3 a 5 mg/L.
2. Las unidades formadoras de colonias en el hepatopáncreas del camarón en el tratamiento con aplicación de probiótico se mantuvo en los rangos aceptables con 386,799 cel./ml de bacterias de *Vibrio* mientras que el tratamiento sin aplicación estuvo por encima del rango óptimo con 1, 532,967 cel./ml de bacterias de *Vibrio alginoliticus* demostrándose una disminución de *Vibrio* en el tratamiento con aplicación con probiótico.
3. Los resultados del estudio poblacional como sobrevivencia nos da una respuesta positiva del buen desempeño del probiótico al obtener una sobrevivencia de 52 % en la aplicación con probiótico, en cambio en el tratamiento sin aplicación de probiótico con un 40 %, otro factor de este desempeño del probiótico es el factor de conversión alimenticia al obtener una diferencia entre tratamiento, un factor muy importante para cualquier productor de camarones es el rendimiento productivo, por eso en esta investigación se refleja claramente la efectividad del probiótico, dando un mejor resultado la aplicación con probiótico con 40 g y sin aplicación con 36 g.

## VII. RECOMENDACIONES

Mantener una buena calidad del agua ya que este es uno de los factores más involucrados en la transmisión de enfermedades.

Los factores físico-químicos son importantes en el crecimiento de cualquier organismo, ya que si estos no son tomados constantemente caeríamos a un mal crecimiento tanto de las bacterias *Lactobacillus acidophyllus* como al camarón, por eso es importante tomar siempre los factores físico-químicos como temperatura, pH en el probiotico y temperatura, salinidad y oxígeno en el aguade cultivo.

El camarón en cultivo para su buen crecimiento necesita de un alimento de buena calidad con sus nutrientes necesarios para una mejor asimilación y digestión, de esta manera al final de la producción del camarón pueda tener un mayor crecimiento y peso.

Por último les recomendamos a todos los productores que desarrollen buenas prácticas acuícolas para que así puedan llevar los ciclos de producción con un buen Crecimiento, rendimiento productivo y factor de conversión alimenticia al finalizar el cultivo del camarón.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

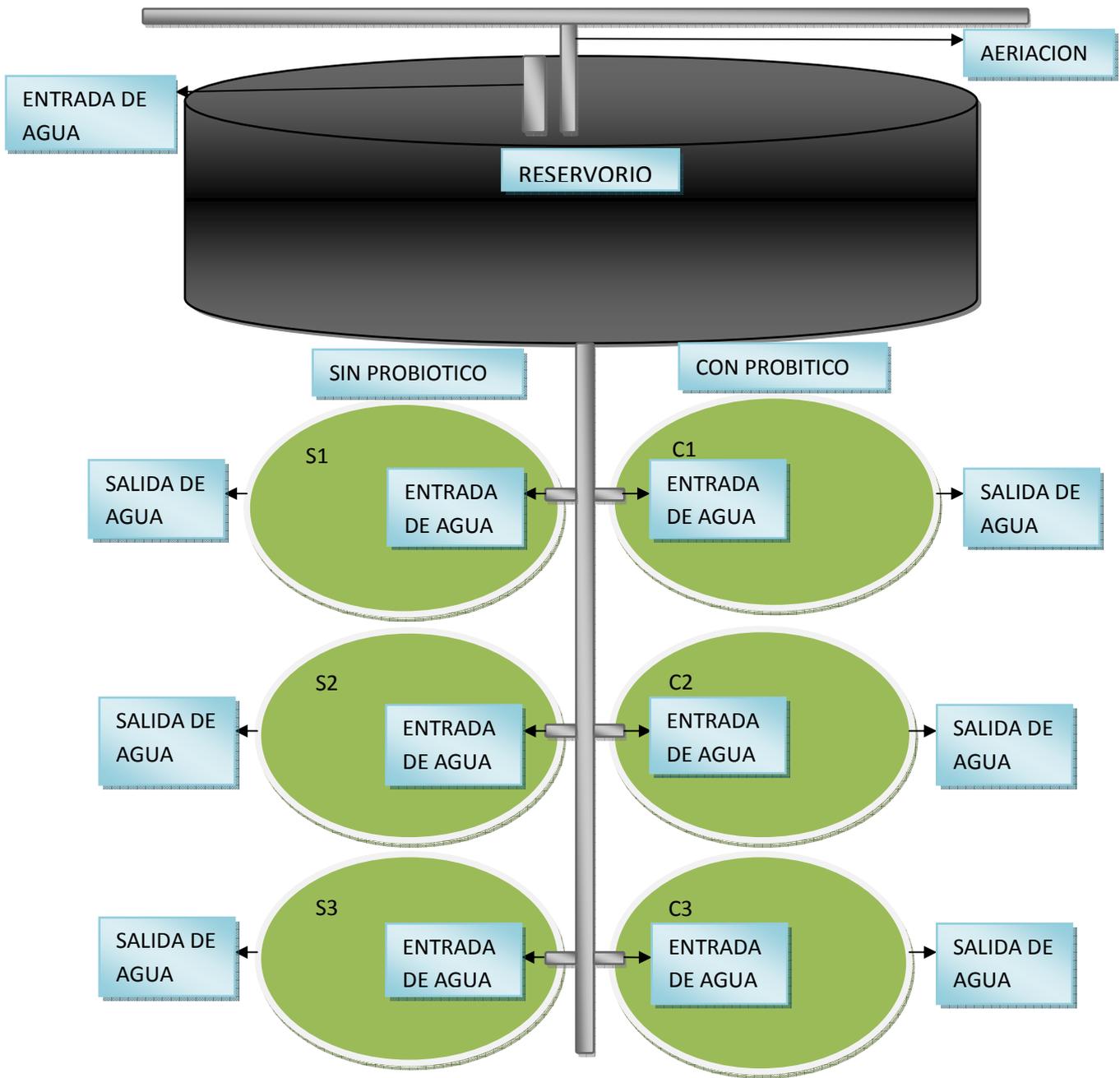
- Altamirano Carlos. Producción de probiótico proceso de activación y replica. CAMANICA ,Nicaragua, año 2010.
- *Anónimo Efecto de la dieta suplementada con probiótico en la supervivencia de camarón.* [vannameiwww.panoramaacuicola.com](http://www.panoramaacuicola.com)(publicado el 19 de agosto del 2010). consultado el 20-05-11 a las 9:10 AM. Pág. 1
- Baron, Samuel.et al "Medical Microbiology" (4th Edition). University of Texas Medical Branch at Galveston; (1996). (ISBN: 0-9631172-1-1) *Vibrio*. [es.wikipedia.org/wiki/](http://es.wikipedia.org/wiki/) consultado el 22-05-11 a las 10:00 AM. Esta página fue modificada por última vez el 28 jun. 2011, a las 02:18. Pág. 1
- Brandon Harris. Medio de cultivo [http://es.wikipedia.org/wiki/Medio\\_de\\_cultivo](http://es.wikipedia.org/wiki/Medio_de_cultivo) Consultado el 08 de septiembre de 2011. Pág.
- Canales chamorro. Fernando.Elaboración de probiótico a base de suero de leche de vaca, para combatir infecciones de Vibrios sp., en camarones *Litopenaeus vannamei*, de forma experimental. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-LEON, León, Nicaragua, 2010.
- Cruz Suárez, Elizabeth. DIGESTION EN CAMARON Y SU RELACION CON FORMULACION Y FABRICACION DE ALIMENTOS BALANCEADOS. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Programa Maricultura, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. Año 2007.
- Pía Taranto, María. Médici, Marta. y Font de Valdez, Graciela. Laboratorio de Tecnología y Genética, Centro de Referencia para *Lactobacillus* (CERELA/CONICET), Chacabuco 145, T4000CNK, Argentina: Tucumán <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v4n1/taranto.htm>. Pág. 3
- Espinoza Plascencia A. Bermúdez- Almada M.C. Uso de antibiótico y generación de resistencia bacteriana, laboratorio de análisis biológicos, centro de investigación en alimentación y desarrollo A,C ,Hermosillo Sonoro México 2005. Pág. 18-19.

- GÓMEZ GIL BRUNO, a ROQUE ANA y b GUERRA FLORES ANA L. A CIAD, A.C. Enfermedades Infecciosas más Comunes en la Camaronicultura en México y el Impacto del Uso de Antimicrobianos *Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. AP. 711 Mazatlán, Sinaloa. 82000 México. E-mail: [bruno@victoria.ciad.mx](mailto:bruno@victoria.ciad.mx) Universidad Autónoma de Sinaloa. Paseo Claussen, Mazatlán 82000 México.2006*
- Hardy, R. W. EVOLUCIÓN DE ALIMENTO PARA CAMARONES  
Aquaculture Magazine. Boletín Nicovita EJEMPLAR 09 Septiembre, 1999
- Herrera Sirias Claudia, Martínez Gonzales Evenor. Guía para una camaronicultura sostenible, bajo régimen de buenas prácticas acuícolas. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-LEON Año 2009.
- Herrera Sirias, Claudia. *Larvicultura y alimento vivo*. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-LEON, León, Nicaragua: 2010 Pág. 1-2
- Herrera Sirias, Claudia. *Diagnostico bacteriológico, folleto preparado para los estudiantes del IV año de la carrera de Ingeniería acuícola*. UNAN-LEON. Marzo 2009, pág., 22,23.
- Herrera Sirias, Claudia y Martínez G. Evenor. Calidad de agua en estanques acuícolas UNAN-LEON 2009 pág. 1-2.
- Martínez Gonzales Evenor puntos críticos en la evaluación de impacto ambiental de la camaronicultura en el pacifico de Nicaragua, durante su proceso productivo: Producción de larvas operación y abandono de granjas. Gabinete de ecología y medio ambiente facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. (UNAN-León). 2007
- Medina Mancilla, Mónica Alejandra. Pontificia Universidad Javeriana facultad de ciencias básicas carrera de microbiología industrial Bogotá D.C (Marzo 22 del 2006). *INFECCION EXPERIMENTAL DEL CAMARON BLANCO Litopenaeus vannamei con Spiroplasma penaei y respuestas de la enfermedad a 3 antibióticos y un probiotico*.  
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis267.pdf>.Pag.20-25  
consultado 29-05-11 a las 4:30 PM
- Navas Arguello. Eddy. Plan de manejo de alimentación.Serviconsa.2008.

- Rodríguez Romero, Faustino. Esteban, M<sup>a</sup> Ángeles. Meseguer, José. Bravo, Miguel. Gómez, Giovanni D. Rojas-Luna, Tyrone. Jiménez, Giovanni. Balcázar, José Luis. *Estrategias de control de enfermedades en Acuicultura* <http://www.revistaaquatic.com/civa2003/foro/index.asp?cod=67> consultado el 30-05-11 a las 3:40 PM. 1(2008).
- Talavera, Víctor. Zapata, Luis Miguel. Sánchez, Dagoberto. *USO DE PROBIÓTICOS EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DE CAMARONES PENEAIDOS*. (Volumen2). (Edición04) (Junio1997). pág. 1. [http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC\\_39\\_1.pdf](http://www.nicovita.com.pe/cdn/Content/CMS/Archivos/Documentos/DOC_39_1.pdf) consultado el 27-05-11 a las 2:10 PM.
- Talavera, Víctor. Zapata, Luis Miguel. Sánchez, Dagoberto. Muestreo poblacional en el cultivo de camarón. Edición Tumpis. Volumen 3 – ejemplar 03 marzo 2005. Pág. 1-2.
- Talavera, Víctor Zapata, Luis Miguel *Pro bióticos en acuicultura*. [lzapata@alicopr.com.pe](mailto:lzapata@alicopr.com.pe), [vtalavera@alicopr.com.pe](mailto:vtalavera@alicopr.com.pe), [www.panoramaacuicola.com/nuevo\\_foro/index.php](http://www.panoramaacuicola.com/nuevo_foro/index.php) 2005. consultado el 25-05-11 a las 11:15 AM.
- Urey Salinas Eveling Esperanza. Evaluación del crecimiento y rendimiento productivo de los camarones *Litopenaeus Vannamei* en los estanques manejados con sistema intensivo en la granja camaronera Salinitas, PoneLOYA en el periodo de abril a septiembre del año 2008. Unan – León Mayo 2009 pág. 4-5.
- Villamil Díaz, Luisa. y Martínez-Silva, María Angélica Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Grupo de Investigación en Cultivo y Manejo de Organismos Acuáticos, Santa Marta, Colombia. (M.A.M.S.) *PROBIÓTICOS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA EN EL CULTIVO DE CAMARÓN*. Bol. Invest. Mar. Cost. 38 (2) ISSN 0122-9761 Santa Marta, Colombia, (2009). [luisa.villamil@utadeo.edu.co](mailto:luisa.villamil@utadeo.edu.co) (L.V.D.), [maria.martinez@utadeo.edu.co](mailto:maria.martinez@utadeo.edu.co)

# IX. ANEXOS

## ESQUEMA DEL DISPOSITIVO EXPERIMENTAL





Bacteria Lactobacillus acidophyllus



Muestra de colonias amarillas



Balanza gramera



Oxigenómetro



Muestra de probiótico



Caseta de fermentación del probiótico