UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA FACULTAD DE CIENCIAS DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA



TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Caracterización y Control de Vibrio sp en cultivo Semi-intensivo de Litopeneues vannamei Granja - Dos Aguas Estero Real

Presentada por:

Mélida Esther Santos García

Tutor: Salvador Ortega Urroz, MSc

Asesoría. Dr. Jorge Áreas

Noviembre de 2004



194.473 C-2

INDICE

Índice	2
Resumen	3
I – Introducción	4
Objetivos	5
II - Literatura Revisada	6 -7
II.1 - Familia Vibrionacea II.2- Características Generales que Presentan Los Vibrios II.2.1- Morfología II.3 Características Microscópicas Frecuentes Causadas por Vibrios	
II.4 Diferentes Pruebas Bioquímicas para Llegar a Diagnóstico de Vibril.4.1 - Prueba de Purificación II.4.2 - Prueba de Sensibilidad. II.4.3 - Prueba de Oxidasa. II.4.4 - Prueba de Fermentación. II.4.5 - Prueba de Descarboxilación.	rios9 10 10 11
II.5 Proceso de Descarboxilación del aminoácido Lisina	13 14
II.8.1 - La Temperatura II.8.2 - El Oxigeno II.8.3 -Fertilizante II.8.4 -El Agua II.8.4.1 - La transparencia o Turbidez del Agua II.8.5 -Suelo	15 16 16 17
III - Materiales y Métodos	. 19 - 21
IV - Resultados y Discusión IV.1 - De la 1ra a la 12 va Semana	. 22 - 25
V - Conclusiones	26
VI - Recomendaciones	27
VII - Bibliografía	. 28 - 29
VIII.1 - Manual Analítico bacteriológico de la F.D.A	31 de vibrio 32 33
IX - Fotografías	. 35 - 38

BIO 378.2 S237c 2004

RESUMEN

En la época lluviosa del 19 de Agosto al mes de Noviembre en la cuenca hidrográfica del Estero Real, en la granja camaronera **Dos Aguas** ubicada a 30 Km. de la desembocadura del Golfo de Fonseca, se investigó la presencia de bacterias del genero Vibrio en cultivo semi-intensivo de camarones <u>Litopeneues vannamei</u> y su control mediante compuestos químicos Tyncem y Oxitetraciclina sin recambio de agua. El protocolo que se diseñó y se aplicó para caracterizar las bacterias presentes tanto en la microflora del agua como en el hepatopáncreas y la hemolinfa de los camarones dio los resultados esperados ya que se caracterizaron las bacterias <u>V. alginolyticus, V. parahemolyticus, V. Hollisae.</u> Se puso aprueba la acción y la residualidad de los compuestos químicos utilizados, encontrándose que su acción disminuye en el tiempo por lo que no se debe utilizar un solo compuesto químico para control de bacterias y que no son residuales según los análisis realizados, no afectan la población fitoplanctónica, ni la producción del camarón que fue de 1.200 lbs por hectárea. El problema que se dio con el no recambio de agua fue el aumento de los fosfatos en el estanque, se considera que está en relación con el aumento de la densidad del grupo de las algas Cianofitas. El factor temperatura se mantuvo en un rango entre 27°c y 29°c, la salinidad entre 29 y 31 por mil, el oxígeno entre 5 y 7 mg/l. El rango del ph fuè entre 7.5 y 8.5, El estado de estos factores ambientales contribuyeron en la presencia de los cuatros grupos de Microalgas y a los resultados obtenidos en el cultivo semi-intensivo. Los resultados de las observaciones en fresco de la hemolinfa se coaguló a los 15 segundos y la presencia de túbulos aserrados confirmaron el ataque por bacterias.

I - INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la acuicultura en América Latina ha sido paulatino pero constante, actualmente es una de las actividades productivas que tienen potencial suficiente para crecer tanto en cantidad de hectáreas, como en diversidad de especies a cultivar.

Una de las limitantes mayores en el campo de la acuicultura es el desconocimiento de los agentes patógenos y la carencia del adecuado manejo técnico de las granjas, para el debido control que incide en el medio de cultivo del camarón. Otro factor que influye en las enfermedades causadas por Vibrio es la mala calidad del agua y el desconocimiento de las técnicas de diagnóstico y tratamientos. Merece que se le de gran importancia a estos conocimientos porque los ambientes acuícola son cambiantes, se necesita de diagnóstico rápidos de manejo, para tomar decisiones que prevengan pérdidas irreparables si no se presta atención a tiempo, ya que las enfermedades afectan el crecimiento del camarón, cambiando sus características organolépticas, desmejorando su calidad sensiblemente, hasta causar la muerte.

Las contaminaciones de origen bacteriano han sido causa de grandes incidencias en las granjas camaroneras ocasionando grandes pérdidas económicas. En la actualidad, el estudio de la microbiología patológica es una herramienta que aún no alcanza un buen nivel de desarrollo en las diferentes industrias marítimas, donde es difícil determinar el organismo patógeno causante de grandes mortalidades del camarón, desde la fase larvaria hasta la cosecha.

La investigación plantea el esfuerzo técnico para caracterizar las bacterias del genero Vibrio y su control que se presentan en la granja camaronera *Dos aguas* ubicada en el Estero Real, usando el método de producción semi-intensivo cerrado, de acuerdo a los intereses productivos.

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar las bacterias del género Vibrio en el agua del cultivo semi-intensivo y en camarones <u>Litopeneues</u> <u>vannamei</u>, para su control mediante compuestos químicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la microflora bacteriana del genero Vibrio del estanque de cultivo semi-intensivo, mediante pruebas bioquímicas.
- Reconocer los signos clínicos de las enfermedades causadas por Vibrio en camarones frescos de Litopeneues vannamei.
- Conocer la sensibilidad de las cepas, a los antibióticos utilizados Tyncem (Amonio Cuaternario) y Oxitetraciclina (Antibiótico).

II - LITERATURA REVISADA

El rápido crecimiento durante veinte años de la industria del cultivo del camarón <u>Litopeneues vannamei</u>, ha venido acompañado de un impacto negativo como es la presencia de Enfermedades. Están representadas por agentes etiológicos y por factores adversos en el manejo del cultivo. La importancia relativa de algunas enfermedades depende del tipo de sistema de cultivo empleado.

Existen tres tipos básicos de sistema de cultivo usados en las granjas camaroneras: Sistema de cultivo intensivo donde se siembra una alta densidad de camarones y un alto manejo de técnicas de los estanques. Sistema de cultivo semi-intensivo, densidad de siembra de camarón deseada y el manejo de los estanques de manera práctica. Sistema extensivo esta basado en una baja densidad de siembra y la falta de existencia de manejo práctico del estanque (Salser et al .1, 978).

En los cultivos semi-intensivos e intensivos hay un reconocimiento, prevención y tratamiento de enfermedades si es posible. El tratamiento de enfermedades es impracticable sin un diagnóstico, además, estos sistemas de cultivo de manera natural favorecen el desarrollo y transmisión de algunas enfermedades (Bell and Lightner 1,987).

Con el paso del tiempo un número de especies de bacterias ha sido implicado como agentes que causan infecciones y enfermedades en camarones <u>Litopeneues</u>, infecciones por Vibrio sp. Son las más numerosas (Lightner 1,993). Las bacterias Gram. Negativas son las predominantes en el ambiente marino y usualmente constituyen la mayoría de las bacterias presente en la microflora normal de cultivos de cautiverio y cultivos silvestres (Brigon et al 1,965).

Los Vibrios son comunes en los ecosistemas acuáticos (marinos), y forman parte de la microflora normal de branquias, intestino y la cutícula del camarón. La mayoría de ellas son reportadas como patógenas y dado el grado de complejidad

que presentan en el camarón, es valedero la caracterización de estas especies lo cual incurre en diversas pruebas Bioquímicas, paso clave para la caracterización de los Vibrios. Los más comunes en los estanques de cultivo y más patógenos para el camarón son: V. Parahemolyticus, V. harvey, V. anguillarum, V. vulnificus.

El <u>Vibrio Parahemolyticus</u> es miembro del género Vibrio es un halófilo, se encuentra en aguas tibias marinas y puede encontrarse en el agua donde se crían los ostiones principalmente. Algunas de sus principales características son colonias pequeñas, con el centro verde – azulado. Con un crecimiento a 40°C, utiliza etanol, L-leucina y presenta un olor a putrefacción. En Japón es considerado como la principal causa de gastroenteritis, en Estados Unidos y Canadá es un problema de salud pública, por su capacidad de producir diarrea, presenta los síntomas de dolor abdominal, náuseas, vómitos y fiebre principalmente en los niños, los síntomas se presentan durante las primeras 24 horas de la ingestión de organismos contaminados, la enfermedad está limitada a tres días. Este organismo es capaz de provocar una infección en la piel, cuando una herida abierta está expuesta en agua tibia de mar.

El <u>Vibrio Alginolyticus</u>, se conoce por sus colonias grandes y amarillas, al usar el medio de cultivo T. C. B. S. Con el indicador mixto, Azul de Bromo timol este tipo de bacteria consume la sucrosa del medio lo cual el medio de cultivo presenta un claro viraje de color amarillo y se vuelve ácido. En algunos laboratorios del mundo y en Nicaragua se está usando como probiòtico. (Areas, Jorge 2,000)

II.1 - La familia Vibrionaceae, contiene tres géneros: Vibrio Sp., Plesiomonas y Phtobacteriam, son bacilos rectos o curvados, mótiles debido a un flagelo polar pero en medios específicos pueden sintetizar un flagelo más en la parte lateral, son Quimiorganotótrofos capaces de fermentar la D- glucosa principalmente y producir hidrógeno H2 y CO2 como productos finales

II.2 - Características generales que presentan los Vibrio.

Morfología:

- ✓ Bacilos rectos o curvados, flagelo polar recubierto.
- ✓ Requerimiento de sodio para el crecimiento. + (2-3%)
- ✓ Producción de gas (-)
- ✓ Sensibilidad al Vibriotato (2,4- Diamina-6,7-disopropil- pteridina)
- ✓ Fermentación del Manitol +/-
- ✓ Luminiscencia +/-
- √ Patógenos en humanos +
- √ Oxidasa +
- ✓ Lisina descarboxilasa. +
- √ Arginina +
- ✓ Ornitina diaminasa +
- √ Catalasa +
- ✓ Indol +
 - ✓ Producción de Lipasa. +

II. 3 - Características Macroscópicas Frecuente Causadas por Vibrios

Las enfermedades de origen bacteriano causadas por vibrios en algunas regiones de Latinoamérica se le llegó a conocer como el síndrome de la gaviota, porque los camarones moribundos suben a la superficie del estanque y a la orilla de los bordes de los muros donde las aves generalmente las gaviotas se dedican a alimentarse, este tipo de enfermedad está acompañada de signos morfológicos macroscópicos característicos en los camarones causados por sp. Vibrios son:

- ✓ Altas mortalidades en estado post larval y juveniles.
- ✓ Camarones moribundos con nado errático en la superficie.
- ✓ Presencia de gaviotas en la piscina.

- ✓ Urópodos y telson con cromatóforos expandidos (rojos).
- ✓ Presencia de ampollas en los urópodos
- ✓ Antenas rugosas, descoloridas, cortadas.
- ✓ Intestino semi-lleno.
- ✓ Hemolinfa turbia y con un tiempo de coagulación retardado. (Lightner 2,000)

II. 4 - Diferentes Pruebas Bioquímicas para Llegar a un Diagnóstico de Vibriosis

Para llegar a un diagnóstico confirmatorio del agente etiológico que afecta a la especie de camarón <u>Lipeneues Vannamei</u> utilizado en acuicultura se da a través del procedimiento siguiente: aislamiento de la bacteria desde el ambiente acuático, a partir de tejidos de hepatopáncreas y pruebas de hemolinfa, purificación de bacterias usando los medios de cultivos apropiados, identificación de bacterias usando métodos clásicos empleando indicadores tales como: tolerancia a la sal, reacciones bioquímicas, fermentación de carbohidratos selectos y el crecimiento de colonias usando algunos compuestos como la única fuente de carbono (citrato).

Para realizar un diagnóstico en fresco, se utilizan las siguientes estructuras del camarón, hemolinfa y el hepatopáncreas. La hemolinfa se extrae con una jeringa estéril, se coloca en un porta-objeto y se lleva el tiempo de coagulación de 0 a 10 segundos no presenta alteraciones, de 10 a más se está en presencia de un ataque de bacteria del genero Vibrio. Para el hepatopáncreas se toma la muestra y se monta en un porta-objeto, se le adiciona una gota de solución salina, en el microscopio se procede a buscar la presencia o pérdida de lípidos y deformación de los túbulos si están en forma de sierra, indica que hay un ataque de bacterias del genero Vibrio. Para llegar a un diagnóstico confirmativo, se hace un plateado en forma de zig - zag en agar selectivo para Vibrio (Agar T.C.B.S.) que se utiliza

para aislamiento y cultivo selectivo de Vibrio cholera y otros entero patógeno (Nakanishi 1,962) y modificado por (Kobayashi 1,963).

II.4.1 - Prueba de Purificación (T.S.A.)

EL agar Tripticasa de Soya (T.S.A) con cloruro de sodio puede ser usado como medio de aislamiento y purificación en agar general (T.S.A.) con 2.5% de cloruro de sodio, se hace con la finalidad de verificar la motilidad, se prepara una impresión para determinar la tinción de Gram. El uso del cloruro de sodio es importante, ya que los organismos marinos requieren adición de sal para su crecimiento y porque pueden ocurrir reacciones negativas falsas si se usa cloruro de sodio 0.85% no se debe usar agua de mar, ya que los minerales en estas condiciones también causan reacciones falsas las cuales confunden para la identificación.

II.4.2 - Prueba de Sensibilidad

EL Agar Muller- Hinton se utiliza para ensayo de sensibilidad, o para ensayos de resistencia de agentes patógenos a medicamentos importantes frente a antibióticos y sulfonamidas, según (Muller Hinton 1,941). La composición de estos medios de cultivos garantiza por una parte condiciones favorables de crecimiento a las bacterias y por otra parte cuenta con la ausencia muy considerable de antagonistas de las sulfonamidas.

Se dejan crecer los organismos en (T.S.A) con 2.5% de cloruro de sodio, dentro del agar se remueve el exceso de agua y se raya el plato y se invierte para asegurar que el inóculo se distribuya bien, se deja secar la placa durante 5 a 10 minutos, se colocan los discos sobre las placas inoculadas y se distribuyen con una pinza estéril, se incuban los platos petri durante 24 horas a 25-30°C, se mide el tamaño de las zonas que se presentan en las colonias registrando la sensibilidad, resistencia o de acuerdo a las instrucciones inmediatas que se expresan en el instructivo comercial de los discos utilizados. Para la prueba de

sensibilidad se puede usar el agar Mueller- Hinton con 2.5% de cloruro de sodio, no se debe de usar después de una semana de preparado.

II.4.3 - Pruebas de Oxidasa

La prueba de Oxidasa está basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa, esta reacción se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la reacción del citocromo reducido por el oxígeno molecular. Todas las bacterias aeróbicas obtienen su energía por la respiración, proceso responsable de la oxidación de diversos sustratos, el oxígeno molecular oxida un sustrato con la intervención del sistema de transporte de electrones.

El sistema citocromo solo se encuentra por lo general en organismos aeróbicos, lo que los hace capaces de utilizar el oxígeno como un aceptor de hidrógeno final para reducir el oxígeno molecular en peróxido de hidrógeno, último enlace de la cadena de la respiración aeróbica.

Stell 1,945 demostró que todos los organismos oxidasa positiva que estudió eran aeróbicos o anaeróbicos facultativos. Gordon y Mc Leod aseguran que la reacción oxidasa positiva está limitada a aquellos organismos capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno y producir al mismo tiempo la enzima Catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno dado que su acumulación es tóxica.

II.4.4 - Prueba de Fermentación

Las pruebas de fermentación oxidativa sirven para confirmar grupos taxonómicos aislados, para grupos de Vibrio con Oxidasa positiva, se utiliza glucosa fermentativa, creciendo sólo con cloruro de sodio adicionado y nitrato positivo.

Se puede utilizar la prueba de fermentación de carbohidratos como única fuente de carbono, para ello se prepara un medio basal comercial con cloruro de sodio al 2.5%, y se guarda a 50°C para que se mantenga en estado líquido. A 20 ml de agar se le adicionan 2 ml de solución estéril al 10% de carbohidratos, se deja solidificar y se le adiciona por punción un inoculo de (T.S.A.) se incuba de 25 a 30°C, se lee a las 24 hrs., se chequea diariamente el cambio de color por un período de 14 días por posible reacciones lentas, si el color es verde es que la condición es alcalina si no realiza ningún cambio por lo tanto es negativo, si el color es amarillo la condición es ácida y la reacción es positiva. (Boy, E. Claude 1,983).

II.4.5 - Pruebas de Descarboxilación

Las pruebas de las descarboxilasa se realizan para medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para formar una amina, estas pruebas se emplean fundamentalmente para determinar grupos bacterianos, y es un proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasa especificas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH) dando como resultado una amina o una diamina y anhídrido carbónico.

Las enzimas descarboxilasa son numerosas y cada una es específica para un sustrato determinado, las tres descarboxilasa importantes utilizadas para la identificación son: Lisina, Arginina y Ornitina esto debido a que la descarboxilación está limitada a aquellos aminoácidos que poseen por lo menos un grupo químicamente activo (-NH2) ó un grupo carboxilo (-COOH) y la descomposición de los aminoácidos se produce anaeróbica mente El proceso descarboxilación es irreversible, no oxidativo y requiere de una coenzima común el fosfato de piridoxal.

Se puede aplicar descarboxilación de Arginina, Lisina, Ornitina, para medir la capacidad enzimática de grupos bacterianos mediante la presencia de enzimas para descarboxilar los aminoácidos.

A- L+ O+ V. Agynoliticus, V. harveyi, V. parahaemoliticus, V. vulnificus.

- A- L+ O- V. campbelli, V. fischeri, V. logei, V. marinus.
- A- L- O- <u>V. natrigenes, V. peligus I, II, V. nigripuritudo, V. spendidus, V. hollisae.</u>
- A+ L- O- <u>V. anguillarum I, V. costicola, V. fluvialis, V. furssini, V. Ners, V. damsela.</u>

Las especies de Vibrios que se presentan con mayor frecuencia en las instalaciones de crianza y engorde de camarones los que se reportan a la fecha están <u>Vibrios parahemolyticus</u>. <u>V. harvey</u>. <u>V. alginolyticus</u> Y <u>V vulnificus</u>. En los laboratorios de producción de larvas de camarón se incluyen <u>V. harvey</u>. <u>V. vulnificus</u>. <u>V parahemolyticus</u>. <u>V. alginolyticus</u>. Hay algunas especies que se reportan ocasionalmente como <u>V. fischeri</u> y <u>V. vulnificus</u>. (Lightner 2,000).

II.5 - Proceso de Descarboxilación del Aminoácido Lisina

El aminoácido Lisina sufre una descarboxilación para dar Cadaverina (una diamina) y anhídrido carbónico por la acción de la enzima descarboxilasa.

II.6 - Proceso de Descarboxilación del Aminoácido Arginina

El aminoácido Arginina es catalizado a través de dos sistemas que pueden ocurrir simultáneamente y separadamente. Estos dos caminos son el sistema de la Arginina-debidrolasa y el sistema de la Arginina- descarboxilasa, en este sistema la Arginina sufre descarboxilación para dar agmatina, la acción catalítica de la enzima agmatinasa desdobla la agmatina en dos compuestos: Putrescina y Urea.

Si se encuentra la enzima ureasa, la urea es catalizada para dar dos moléculas de amoníaco (NH2) y anhídrido carbónico (CO2). Moller encontró que la Putrescina no sufre una nueva descomposición de grado demostrable.

NH
$$(CNH_2)_2$$
 $CH_2 - NH_2$
 NH
 $(CH_2)_3$
 $CH_2 - NH_3$
 $CH_2 - NH_3$
 $CH_3 - NH_2$
 $CH_2 - NH_3$
 $CH_3 - NH_2$
 $CH_3 - NH_3$
 $CH_4 - NH_2$
 $COOH$
 $COOH$

II.7 - Proceso de Descarboxilación del Aminoácido Ornitina

El aminoácido Ornitina es descarboxilado por la enzima ornitinadescaboxilasa para dar la diamina Putrescina y anhídrido carbónico.

II.8 - Parámetros Fisicoquímicos

II.8.1 - Las temperaturas

Debemos tener temperaturas óptimas de 28° C y 33° C del agua para un crecimiento rápido, las cuales son registradas durante las tempranas horas de la mañana y de la tarde, para conocer la temperatura mínima y máxima del estanque diariamente.

Como el camarón es un animal poiquilotérmico la temperatura influye de modo directo sobre su metabolismo.

II.8.2 - El oxigeno

Es el parámetro más importante de los ecosistemas acuáticos, el grado de la solubilidad de este elemento es una variable que depende de la temperatura y la presión, la salinidad, materia orgánica e inorgánica así como el ritmo de producción y ritmo de consumo característico por cada ecosistema. La falta de oxigeno no solo reduce la actividad de los camarones, sino, que puede causar la muerte. El oxigeno influye en la oxidación que es necesaria para la respiración y movimientos de los organismos, la falta de oxigeno lleva a la acumulación de ácido láctico, a medida que disminuye el oxigeno disuelto la actividad intermediaria (celular) es menor, es considerado un freno metabólico que desacelera el crecimiento cuando su concentración esta por debajo de 3 mg/lt, cuando varia entre 1.5 y 2.3 mg/lt tiene un efecto sub-letal y de 0.5 y 1.5 mg/lt el efecto es letal. (Lightner 1,987)

II.8.3 - EI pH

Es la medida de acidez o basicidad del agua, el rango óptimo para el desarrollo del camarón fluctúa de 7.2 a 8.2. Los suelos costeros aluviales de manglares pueden tornarse muy ácidos cuando sé despalan para la construcción de estanques (Martín 1,994)

El pH es un factor ambiental importante, presenta un ciclo de variación diario que va ligado principalmente al fenómeno de la fotosíntesis y al proceso de la respiración de la biomasa, puesto que la fotosíntesis implica el consumo de CO2, el pH sube durante el día alcanzando su pico más alto entre las 2:00 y 3:00 p.m. siendo su punto menor a las 6:00 a.m. porque la respiración libera CO2, el cual al reaccionar con el agua produce ácido carbónico y el pH baja, este factor ambiental incide en la variación de las formas en que se presentan los elementos en el agua. El carbono sirve para formar esqueletos carbonados de la materia orgánica, a pH menor de 6 existe un efecto lacerante sobre las branquias y ojos de los organismos acuáticos, a mayores de 9, el nitrógeno forma un compuesto que es tóxico para los organismos llamado hidróxido de Amonio (NH4OH).

II.8.3 - Fertilizante

Los fertilizantes son utilizados para estimular el desarrollo de los organismos del bento y fitoplancton, aumentando la productividad natural del estanque, esta actividad ha sido beneficiosa en los estanques donde se usa el método semi-intensivo, contribuyendo notablemente a mejorar el desarrollo del camarón (Franco 1,990).

II.8.4 - El Agua

El agua de mar se caracteriza por abundancia de iones cloruro y sodio (Na+ Cl-) y las aguas continentales por los iones, bicarbonato y calcio (Ca+ HCO3). Todos los elementos químicos prácticamente se encuentran disueltos en una u otra forma en las aguas naturales aunque muchos de ellos en cantidades mínimas. Los elementos denominados mayores en el agua de mar y salobre, tienen como término el de salinidad que incluye a todas las sales inorgánicas disueltas considerando también a todos los carbonatos y bicarbonatos (Arredondo 1,990).

II.8.4.1 - La transparencia o turbidez del agua

Se refiere a todo el material en suspensión que se encuentra en toda la columna de agua, el cual interfiere el paso de la luz solar. La transparencia deseada resulta de una concentración adecuada de organismos fitoplactónicos. A medida que la visibilidad del disco de Secchi disminuye a una profundidad de 30 cm, aumenta la frecuencia de los problemas, como ejemplo la escasez de oxigeno disuelto. Cuando los valores del disco Secchi aumenta la profundidad por encima de 30 y 40 cm, la luz penetra a profundidades deseables fomentando el crecimiento de las poblaciones del plancton y la alfombra biológica que se encuentra en el fondo del estanque que sirve como alimento a los camarones.

Una mayor concentración de sólidos en suspensión afectan al fitoplancton por limitar la penetración de luz al cuerpo de agua, se limita la actividad de la fotosíntesis y obstaculiza la penetración de oxigeno de la atmósfera, lo que provoca ceguera en muchos peces y afecta el desarrollo de los huevos de peces, crustáceos y moluscos. (Arredondo 1,990).

Sin embargo Pretto a señalado que las comunidades del plancton están variando constantemente en composición y abundancia, dependiendo de los cambios de los factores físicos-químicos los cuales en momento determinado pueden ser limitantes para una población y beneficiosa para otra.

Mantener consistentemente una buena calidad de agua es esencial para el crecimiento y supervivencia del camarón, una densidad estable de fitoplancton tiene el mayor efecto en la calidad del agua. El exceso de alimentos balanceados, materia fecal y otros metabolitos contribuyen al crecimiento de algas no deseadas y microorganismos patógenos.

II.8.5 - Suelo

El suelo desempeña un papel importante en los estanques, libera tanto nutrientes como materia orgánica y es un medio para el desarrollo de organismos bentónicos y bacterias asociadas, pueden ser una fuente de alimento para los camarones, reciclan los nutrientes y degradan la materia orgánica, aunque el fondo de los estanques proviene de suelos terrestres, su condición es distinta a la de la superficie terrestre. La materia orgánica adicionada o producida en el estanque, el suelo que contiene llega por arrastres de la lluvia y las partículas suspendidas que continuamente son depositadas en el fondo como una capa de sedimento. La concentración de oxígeno disuelto es baja en las aguas del fondo y la descomposición de la materia orgánica progresa a menor paso que en el suelo terrestre. Es común que los carbonatos (adición de cal), hidróxidos férricos (comunes en los estanques construidos en áreas donde existieron manglares) y fosfatos (adición de fertilizantes) provenientes de la columna de agua (arrastres fluviales) se precipiten depositándose en el fondo, siendo el receptor final de todos los residuos de sustancias que se aplican al estanque.

Los camarones son organismos delicados, susceptibles de sufrir estrés ante condiciones ambientales adversas, no comen, tienden a enfermarse y su crecimiento es lento. El ambiente en un estanque para el camarón esencialmente es suelo y agua, los factores que mas lo afectan son las variables que están relacionados con la calidad de los mismos. La temperatura tiene un alto impacto en los procesos químicos y biológicos afectando el crecimiento y la respiración, por lo tanto el camarón crece dos veces más rápido por cada 10°C que aumenta la temperatura y consume dos veces el oxígeno. (Boy E. Claude.1993).

III - MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en la granja camaronera **Dos Aguas**, ubicada en el Estero Real a 30 Kms. de la entrada del Golfo de Fonseca. La extensión del área de cultivo de la granja camaronera es de 380 Has. Contiene 36 estanques cuya extensión por estanque se encuentra entre 7 y 12 Has. El agua se tomó directamente del curso principal del Estero Real.

La investigación se realizó en el estanque No 1 que tiene una extensión de 10.21 has. Se siguió el procedimiento de producción utilizado en la granja camaronera. Para la siembra del estanque se fertilizó con Urea, Nutrilake y Super Fosfato Simple para incentivar la producción primaria, los camarones se sembraron a 10 por metro cuadrado, como alimento suplementario se utilizó Larro y Krustralin al 35 % de proteínas, aplicándose dos dosis por día, la primera a las 7:00 a.m. y la segunda a las 4:00 p.m. se anotaron datos de los factores: salinidad, temperatura, oxígeno y pH.

Para reconocer el estado de salud de los camarones, a partir de los 21 días de sembrados, se tomaron muestras de 50 camarones cada semana durante tres días consecutivos a las 6:00 am y a las 6:00 pm, el examen morfológico consistió en observar la expansión de los cromatóforos a lo largo del cuerpo y apéndices, consistencia y coloración de antenas, contenido intestinal, textura del caparazón, manchas negras y coloración del abdomen .Durante cada muestreo se anotaron los datos de temperatura, salinidad, oxígeno y pH.

En el estanque de cultivo se tomó muestras de agua en la compuerta de salida, se utilizó un recipiente de plástico de boca ancha con un volumen de 300 ml, el que se enjuagó previamente con agua del estanque. Para la toma de la muestra se introdujo el recipiente tapado hasta una profundidad de 80 cm., en el interior se abrió y a la misma profundidad y luego se tapó, se trasladó al laboratorio de la granja donde se homogenizó y se tomó una muestra con un asa flameada para inocular en el medio de (T.C.B.S.) al 3% de cloruro de sodio, por 24 horas se dejó a temperatura de 28 - 32°C, al día siguiente se analizó la morfología y coloración de las colonias, se realizaron pruebas de purificación de bacterias con el medio (T.S.A) con cloruro de sodio al 2.5% incubando durante 24 horas a una temperatura de 32°C., se hizo pruebas de tolerancia en concentraciones porcentuales de cloruro de sodio al 0, 3, 6, 8 y 10%, y las pruebas de oxidasa positivas y negativas.

Se realizó pruebas de sensibilidad mediante un antibiógrama con el medio de Mueller Hinton y antibióticos: Tyncem (5kg/Hect.) y Oxitetraciclina (225 g/qq, 5 mg/lb).

Finalmente se aplicaron pruebas Bioquímicas que son necesarias e importantes para la caracterización de las bacterias, semanalmente se tomaron 12 muestras, el criterio de clasificación fuè el crecimiento de la colonia. Los parámetros tomados como referencias fueron: ALTOS después de 10 x 10⁴ (U.F.C) MEDIAS

6 x 10³ (U.F.C). MINIMA entre 1.5 x 10² -8 x 10² (U.F.C). Las pruebas bioquímicas aplicadas fueron: Descarboxilación de Aminoácido (Arginina, Lisina y Ornitina) y pruebas de Fermentación de Azucares como fuentes de carbono SALLICIN, ARABINOSA, CELLOBIOSA, entre otros, preparado al 2,5% de cloruro de sodio. Se realiza el procedimiento de inoculo de las bacterias en las diferentes pruebas bioquímicas, tomándolas del medio de purificación de T.S.A. de manera estéril se incuban por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente de 28 – 32°C. y posteriormente se procede a su caracterización basándose en los parámetros establecidos en la tabla de bacteriología del F.D.A. caracterizándose V. Hollisae, V. Alginolyticus y V. Parahemolyticus.

Para confirmar el estado de salud de los camarones se tomó una muestra de 10, se les extrajo el hepatopáncreas con un asa flameada para ser analizado, se coloca en un plato - petri conteniendo (T.C.B.S.) al 3% de Nacl, dejándose incubar durante 24 hrs. a 28°C – 32°C, al día siguiente se analizó la morfología y coloración de las colonias, se realiza proceso de purificación de T.S.A. al 2.5% de Nacl de las bacterias que crecieron en el medio de T.C.B.S. posteriormente se hacen pruebas de tolerancia al 0, 3, 6, 8, 10% de Nacl, se incuban a 24 horas y temperatura ambiente de 28 – 32°C.

Las pruebas de sensibilidad se realizan con el medio de Muller Hinton con 2.5% de Nacl.

Para la caracterización de las colonias encontradas en las muestras de hepatopáncreas es necesario hacer las pruebas bioquímicas de descarboxilación de los aminoácidos y la fermentación de azúcares.

De manera estéril se toman muestras de colonias del hepatopáncreas, previamente purificadas en medio de T.S.A. se inoculan a las diferentes pruebas bioquímicas y se procede a incubarlas a periodos de 24 horas a temperatura de 28 – 32° C, seguidamente pasado el proceso de incubación se realiza lectura de caracterización de especies de Vibrio dando como resultado <u>V. Alginolyticus</u> y <u>V. Parahemolyticus</u>.

Se toman muestras de diez camarones, con jeringa de insulina estéril se extrae la Hemolinfa del camarón y se deposita en el medio de cultivo de T.C.B.S. al 3% de Nacl, se incuban a temperatura de $28-32^{\circ}\text{C}$ por periodo de 24 horas, pasado este tiempo se observa crecimiento de colonias verdes y amarillas, seguidamente se procede a purificar estas colonias en medio T.S.A. al 2.5% de Nacl. Se hace prueba de tolerancia de 0, 3, 6, 8, 10% de Nacl. Dichas pruebas se incuban en un periodo de 24 horas a temperatura ambiente de $28-32^{\circ}\text{C}$.

Se realiza prueba de sensibilidad usando medio de Muller Hinton al 2.5% de Nacl, para su identificación realizamos las pruebas de descarboxilación de aminoácidos y fermentación de azúcares. Se inoculan muestras de colonias de hemolinfas ya purificadas en T.S.A. Se inoculan a las diferentes pruebas bioquímicas muestras de colonias de hemolinfas que fueron purificadas en T.S.A. y se incuban por periodo de 24 horas a temperatura de 28 – 32°C culminando el periodo de

incubación se realizan lecturas de caracterización, obteniendo \underline{V} . Alginolyticus y \underline{V} . Parahemolyticus.

El antibiótico Oxitetraciclina se mezclo con alimento peletizado, mediante la composición siguiente, por cada kilogramo de alimento se utilizó 4.5 gramos de Oxitetraciclina, en una tina plástica se colocó la mezcla, se aplicó como adherente aceite vegetal, luego se homogenizó hasta que el alimento tomó un color oscuro, de esta manera quedó listo para la aplicación al estanque, el tratamiento de control se dejó actuar durante 7 a 10 días.

El químico Tyncem es un Amonio Cuaternario (bacteriostático), se aplica directamente al agua a concentraciones de 0.5 ppm (5 kg/hec). Se toman 5kg de Tyncem y se diluyen en una tina con 50 litros de agua del estanque que se va a aplicar, se mezcla, se distribuye al voleo.

IV - RESULTADOS Y DISCUSION

Para la investigación se utilizó el estanque número 1, de la granja "Dos Aguas ", ubicada en el Estero Real, durante el período de Siembra de la estación lluviosa del cultivo del camarón <u>Litopeneues vannamei</u> con el método semi-intensivo.

El mayor número de colonias de bacterias, se encontró en las muestras de agua, provenientes del reservorio, lugar donde se dejó en reposo el agua por un período de 5 días para disminuir la presencia de metales pesados y que el agua sufra un proceso de maduración.

Los resultados se expresan semanalmente, ya que se adaptó la investigación al método de producción que se realizó en la granja durante la siembra de la estación lluviosa.

Primer Semana de cultivo (19 de Agosto)

En las muestras de agua del cultivo y en el hepatopáncreas de los camarones se encontró 8 X 10⁴ Unidades Formadoras de Colonias (UFC) amarillas, caracterizadas por las pruebas Bioquímicas se identificó la presencia del <u>Vibrio alginolyticus</u> (ver tabla 2).

Segunda Semana (25 de Agosto)

En el muestreo del medio acuático, análisis del hepatopáncreas y hemolinfa de los camarones no se encontró en el medio de cultivo selectivo para bacterias, crecimiento de ningún tipo de colonia, se confirmó la efectividad bactericida del compuesto químico Tyncem.

Tercer Semana de cultivo (30 de Agosto)

En las muestras de agua del estanque y del análisis del hepatopáncreas de los camarones, resultó la presencia de crecimientos de colonias verdes en el agua, y crecimiento de colonias amarillas en el hepatopáncreas (tabla 2). A través de las pruebas bioquímicas se identificó <u>V. Parahemolyticus</u> (C. Verdes) y <u>V. Alginolyticus</u> (C. Amarillas) (tabla. 2). Con estos resultados se encuentra la no residualidad del compuesto y la necesidad de nueva aplicación de Tyncem..

Cuarta Semana (7 de Septiembre).

De la muestra de agua y del análisis del hepatopáncreas de los camarones, no se encontró crecimiento de ningún tipo de colonia en los controles de T.C.B.S. confirmándose la actividad del Tyncem como bactericida.

Quinta Semana (12 de Septiembre).

En las muestras de agua del estanque se encontraron colonias amarillas que se identificaron como <u>V. Hollisae</u> (tabla 2) y en muestras del hepatopáncreas de los camarones, en los resultados apareció el crecimiento de una colonia amarilla que corresponde al <u>V.alginolyticus</u>, se decidió aplicar Tyncem como medida de control.

Sexta Semana (19 de Septiembre)

En el análisis de agua y del hepatopáncreas de los camarones en esta semana no se encontró crecimiento de colonias.

Séptima Semana (26 de Septiembre).

Las muestras de agua y la observación del hepatopáncreas y la hemolinfa resultó con un alto crecimiento de colonias amarillas y verdes tanto en el agua como en el hepatopáncreas y hemolinfa identificándose <u>V. Alginolyticus</u> y <u>V. Parahemolyticus</u>, esta situación que se presentó ,fue producto de la introducción de agua nueva al estanque proveniente del Estero Real (tabla. 2).

Se realizó una prueba de sensibilidad a las bacterias con Tyncem se encontró una disminución del diámetro del halo, lo que indica una disminución de la acción del Tyncem, ante esta situación se tomó la decisión de aplicar un nuevo componente químico Oxitetraciclina incluido en el alimento a una porción de 180 gr. / qq de alimento.

En las **Semanas 8**^a, **9**^a, **10**^a y **11**^a, del cultivo del camarón no se encontró crecimiento de ningún tipo de colonias en los muestreos realizados, considerándose que es producto de la acción del antibiótico oxitetraciclina.

En la **Semana Doceava** se decidió cosechar el camarón, en los muestreos de control de bacterias, se encontró en las muestras de agua <u>V. Alginolyticus</u>, para reducir la incidencia de esta población bacteriana se aplicó 3qq / hectárea, de cal hidratada.

Analizando las experiencia de cultivo en Taiwán, Hawai y en Nicaragua por Martín y Lin, se encontró que el incremento del tamaño promedio del camarón fue de 0.97 gr x cada semana de cultivo, resultó una producción de 1,200 libras por hectárea, con el método semi-intensivo, controlando las bacterias presentes con Tyncem y Oxytetraciclina.

En la observación del estado de salud de los camarones cada semana de muestreo se diagnosticó que la hemolinfa se coaguló a los 15 segundos por lo

tanto se identificó de inmediato un ataque de bacterias, al revisar el hepatopáncreas los túbulos se encontraron en forma aserrada confirmándose la presencia de bacterias.



V - CONCLUSIONES

- 1. Se caracterizó durante el ciclo de producción en la Granja Dos Aguas, en el Estanque No. 1 las siguientes bacterias: <u>V. Alginolyticus</u> y <u>V. Parahemolyticus</u>, lo encontramos en Agua, Hepatopáncreas y Hemolinfa y <u>V. Hollisae</u>, lo encontramos en agua. La Identificación se estableció en base que los resultados de las pruebas bioquímicas coinciden con los parámetros establecidos por el manual analítico bacteriológico del FDA (Ver Tabla 1,2)
- 2. Entre los signos clínicos más comunes encontrados en camarones afectados por V. Alginolyticus, V. Parahemolyticus tenemos: Cromatóforos expandidos, presencia de ampollas en los urópodos, antenas rugosas y flacidez, intestino vacío o semi-lleno.
- Los químicos, Tyncem y Oxitetraciclina, utilizados para el cultivo del camarón resultaron eficientes, ya que disminuye en un 80% la carga bacteriana.

VI - RECOMENDACIONES

- Establecer un sistema de monitoreo bacteriano continuo durante el periodo de cultivo del camarón, mejorando las técnicas de manejo, garantizando de esta manera un aumento en la producción.
- Es recomendable el uso de Tyncem y Oxitetraciclina para el control bacteriano, ya que en el estudio demostró ser un producto eficiente; disminuyendo la carga bacteriana hasta en un 80%.

VII - BIBLIOGRAFIA

Arredondo M R. y Moss M.O.; 1,990; Microbiología de los Alimentos; Editorial Acribia; Zaragoza España; 464 pág.

Áreas, Jorge. 2000. Manual Técnico para identificar enfermedades parasitarias en camarones. Camanica. S,A: Nicaragua.

Bell, T.A and D. V. Lightner 1987,1993 y 2000. Am outline of penaeide Shrimp Culture methodos including infectious disease problemas and priority drug tratamens Veterinary and Human Toxicology 29

Boyd. E Claude; 1,993; Suelo y Manejo del Sedimento en Estanques de cultivo de camarones; Alabama

Brock A Jaines; 1,992; Hongos y Enfermedades Parasitarias de Camarones; Hnolulu, Hawai.

Boy E. Claude 1,993 Suelo y Manejo del Sedimento en Estanques; Alabama

Clifford. C.Henry; 1,993; Manejo de Estanques de cultivo de camarones pendidos Universidad de Florida; USA.

Chien, Yew-Hu; 1,992; Requerimientos y Manejo de la Calidad del Agua Marina; Taiwan

Hilleboe E. Herman; 1,996; Manual de tratamiento de aqua; Editorial Limusa; México; 205 pág.

Martín y Lin F; 1,994; Manual para el cultivo de camarones penaeidos; Misión China; León Nicaragua; 64 pág.

Muller Hinton Agar 1,982; Manual de Medios de Cultivo de E. Merck; R.F. de Almania. Pág. 93.

Kobayashi, Hoie. 1,963. A look at the principal bacterial of formede Shrimp. Hnolulu. Hawai.

Villalón J. R;1,994; Manual práctico para la producción comercial de camarón con método Semi-intensivo. Sonora. México.

ANEXOS

VIII.1 - FDA BACTERIAL ANALYTICAL MANUAL

8th EDITION /1998

Table 3. Biochemical Characteristics of the Vibrionaceae

	V. Alginolyticus	V. Anguillaum	V. Carchariae	V. Cholerae	V. Cincinnatiensis	V. Damsela	V. Fluvialis	V. Furnissii	V. Harvey	V. Hollisae	V. Metchnikovii	V. Mimicus	v. Parahaemolyticus	V. Vulnificus		A. Hydrophila	P. Shigelloides	Photobacterium spp.
TCBS agar	Υ	Υ	Υ	Υ	Υ	G	Υ	Υ	Y/	NG	Υ	G	G	G	Υ		G	NG/
		NO					E)		G									G
mCPC agar AGS medium	NG	NG	nd	Р	nd	NG	NG	NG	nd	NG	NG	NG	NG	Υ	NG		NG	NG
Growth in:	KA	nd	nd	Ke	nd	nd	KK	KK	nd	Ka	KK	KA	KA	KA	KK		nd	nd
0% Nacl		-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+		+	-
3% Nacl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
8% Nacl	+	+	+	-	+	V	+	+	+	+	+	_	+	+	+		-	V
10% Naci	+	-	+	-	-	-	V	+	V	-	V	-	+	-	-		=	~
Growth at 42° C	+	-	-		-	-	-	-	V			-	-	-	-		=	-
Acid From:	+	-	nd	+	-	-	V	-	V	nd	V	+	+	+	V		+	-
Sucrose	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	+	-	-	-	V		-	V
D-Cellobiose	-	+	+	-	+	+	+	-	nd	-	-	-	V	+	+		-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	+	V		-	-
Arabinose	100	V	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	V		-	-
Sallicin	-	NA	NA	nd	NA	+	nd	-	+	nd	nd	nd	-	+	nd		+	+
D- Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V		-	+
D-Mannitol	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	V	+		-	-
0xidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+		+	V
ONPG	-	+	-	+	+	-	+	+	V	-	+	+	-	+	+		-	+
Voges- Proskauer Arginine	+	+	-	V	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+			V
dihydrolase Lysine	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+		+	+
decarboxylase Omithine	+	-	+	+	+	V	-	-	+	-	+	+	+	+	V		+	V
decarboxylase Sensitivity to:	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	.=		+	-
10 Og 0/129	R	S	R	S	R	S	R	R	R	nd	S	S	R	S	R		S	V
150 0g 0/129	S	S	S	S	S	S	S	S	S	nd	s	S	S	S	R		S	S
Gelatinase	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+		-	3
Urease	-	-	_	+	-	-	+	-	-	V	-	-		V	-		-	-
Citrato	V	NA	NA	V	NA	-	+	+	NA	-	nd	nd	+	+	nd		_	-
															114			2000)

Abbrevations: TCBS, Thiosulfate-citrate.bile salts-sucrose; mCPC, modified cellobiose-polymyxin B-collistin; AGS, arginine siant, Y, yellow; G, green; P, purple; NG, no growth; nd, not deteimined; K, alkaline; A, acid; a, slightly acid; +, 80% or more of strains positive; -, 80% or more of strains negative (fewer than 20% of strains positive); V, variable reaction depending on species or strain; S. sensitive; R, resistant. Arginine glucose slant (AGS) reactions: slant, butt; all strains tested were hydrogen sulfide and gas negative. ONPG: o-nitro-B-D-galactopyranoside hydrolysis by B-galactosidase. Biochemical reactions from refs 4,7,10,11,18,21,23,24,33,34.

VIII.2 – Tabla 2 - Resultados de Caracterización de las Cepas de Vibrio Aisladas en el Estanque #1 de la Granja Dos Aguas.

	Vibrio Alginolyticus	Vibrio Hollisae	Vibrio Parahaemoliti cus.
T.C.B.S.	Α	V	V
M C P C Agua	N/A	N/A	N/A
AGS mcoliun	Ka	Ka	Ka
P. Tolerancia			
0% Nacl	-	-	-
3% Nacl	+	+	+
6% Nacl	+	+	+
8% Nacl	+	-	+
10% Nacl	+	-	-
Gowth 42°C	+	nd	+
Sucrosa	+	-	-
D- Cellobiosa	-	-	V
Lactosa	-	-	-
Arabinosa	-	+	+
Sallicin	-	nd	-
D- Mannosa	+	+	+
D - Mannitol	+	-	+
Oxidasa	+	-	+
ONPG	-	-	-
Voges Proskauer	+	-	-
Arginina Descarboxilasa	-	-	-
Lisina Descarboxilasa	+	-	+
Ornitina Descarboxilasa	+	-	+
Sensibilidad			
Tyncem	S	S	S
Oxitetra	S	S	S
Gelatinase	+	-	+
Urease	-	V	-
Citrato	V	-	+

VIII.3 - Protocolo de Trabajo para Caracterización de Vibrio SPP

Recolección de muestra 19 Agosto al 01 Noviembre

Muestreo cada 5-7 días

Granja Dos Aguas

Pruebas Bioquímicas (Azúcares y Amino Ácidos Crecimiento Colonia Amariilla y Verdes Sensibilidad en Muller Hinton con 2.5% de Nacl Purificación en TSA al 2.5% de Nacl Tolerancia (0, 3, 6, 8, 10)% de Nacl Caracterización de Vibrio spp. T° incubación (28-32)°C Análisis Microbiológico TCBS al 3% de Nacl V. parahemolyticus V. alginolyticus Hemolinfa Pruebas Bioquímicas (Azúcares y Amino Ácidos Crecimiento Colonia Amariilla y Verdes Sensibilidad en Muller Hinton con 2.5% de Nacl Purificación en TSA al 2.5% de Nacl Tolerancia (0, 3, 6, 8, 10)% de Nacl Caracterización de Vibrio spp. T° incubación (28-32)°C Análisis Microbiológico TCBS al 3% de Nacl V. parahemolyticus Hepatopáncreas V. alginolyticus Pruebas Bioquímicas (Azúcares y Amino Ácidos Crecimiento Colonia Amariilla y Verdes Sensibilidad en Muller Hinton con 2.5% de Nacl Purificación en TSA al 2.5% de Nacl Tolerancia (0, 3, 6, 8, 10)% de Nacl Caracterización de Vibrio spp. T° incubación (28-32)°C Análisis Microbiológico TCBS al 3% de Nacl V. parahemolyticus V. alginolyticus V. Hollisae Agua

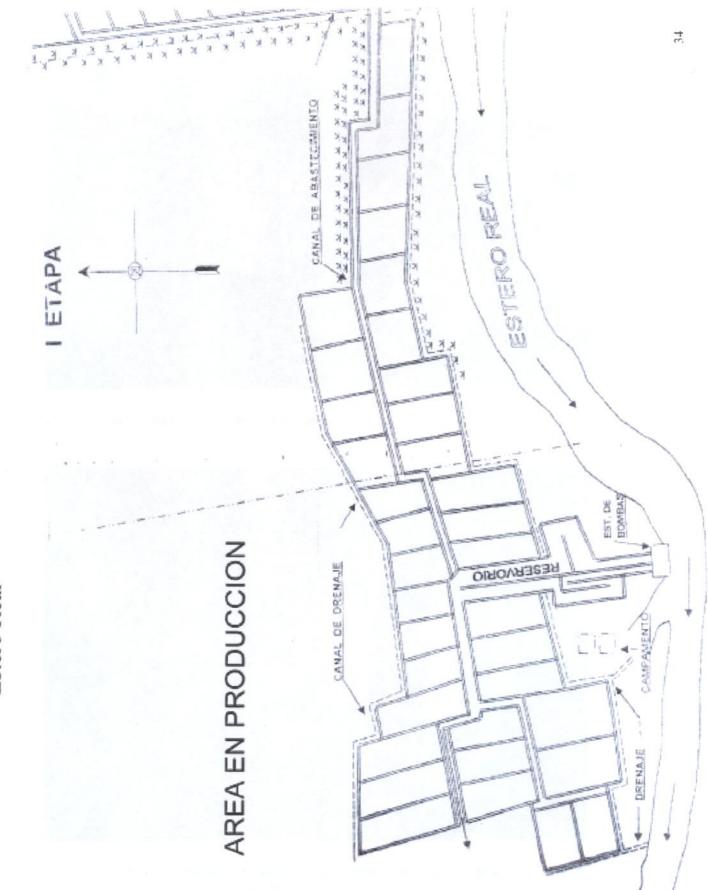




Foto 1 - Captura de Camarones para muestras, en estanques de 2 H_2O .



Foto 2 – Abdomen necrosado y con perforaciones producto de la acción de bacterias.



Foto 1 - Captura de Camarones para muestras, en estanques de 2 H_2O .



Foto 2 – Abdomen necrosado y con perforaciones producto de la acción de bacterias.



Foto 3 – Acción de bacterias en los puntos de unión de los segmentos abdominales.



Foto 4 – Camarones con Urópodos enrojecidos y leves perforaciones en el cuerpo causadas por la acción de las bacterias.

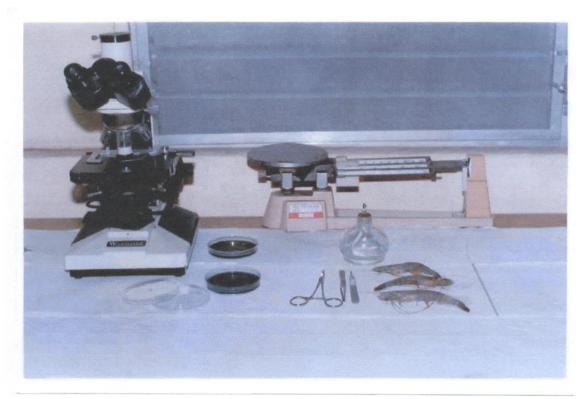


Foto 5 – Materiales y equipos utilizados en el estudio.



Foto 6 – Forma de trabajo en el proceso de investigación.

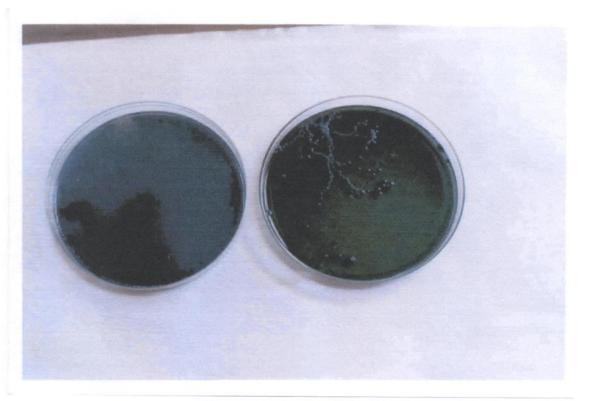


Foto 7 – Colonias de bacterias SP. V. Parahaemolyticus.

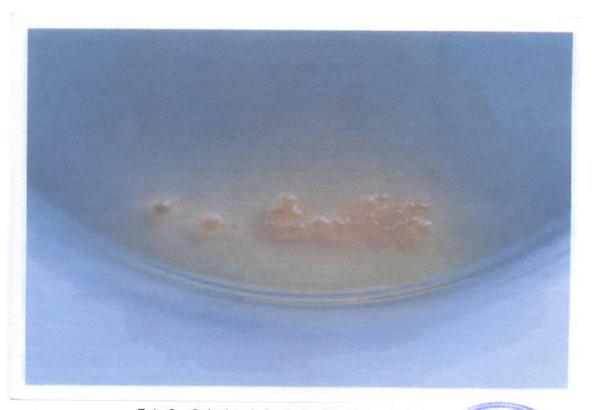


Foto 8 – Colonias de bacterias SP. V. Anginolyticus.