ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERÍA MARÍTIMA Y CIENCIA DEL MAR.

PROYECTO DE GRADUACIÓN.

"CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS MARINAS PRESENTES EN SUELOS DE PISCINAS CAMARONERAS EN TIEMPO DE POST-COSECHA Y PRE-SIEMBRA, LUEGO DE LA PREPARACIÓN DE SUELOS MEDIANTE EL METODO DE APLICACIÓN DE FUENTES DE NITROGENO"

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIÓLOGO.

PRESENTADA POR:

NINO SANTIAGO RODRÍGUEZ LOAIZA.

MARÌA GABRIELA SANDOVAL PRADO.

INGENIERÍA EN ACUICULTURA.

CARLOS BOLÍVAR FARINANGO ROMERO.

GUAYAQUIL – ECUADOR.

2010

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestras familias por habernos apoyado durante todo este tiempo, confiar en nosotros y por sus palabras de aliento de seguir adelante.

También a nuestros profesores que con su guía hemos podido desarrollar este proyecto principalmente a PhD Marcelo Muñoz y a nuestra profesora Francisca Burgos, Msc, y a Ricardo Cedeño, Msc quienes creyeron en nuestras ideas y nos ayudaron a desarrollarlas.

DEDICATORIA

A Dios, mis padres que siempre me apoyaron y me guiaron, mis hermanos por demostrarme que con esfuerzo se puede lograr lo que deseamos y mis sobrinos por ser mi alegría de todos los días.

(C. F.)

A mi madre que con su amor, esfuerzo y confianza hizo posible mi sueño, a mi hermana que siempre me apoyó en todo en momento y a mi esposo que con su cariño y paciencia junto con mi pequeña Natalia me han ayudado a cumplir mi objetivo y sobre todo a Dios por ser siempre nuestro protector.

(G.S)

A mis padres por el apoyo y amor que me brindaron todos estos años de estudio, a mis hermanos, a mis abuelitos y tíos que siempre los tendré presente por el cariño que me han dado, a mis compañeros por la amistad que me brindaron y los maestros por el conocimiento que nos dieron en todo estos años.

(N. R)

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Conforman el Tribunal los siguientes miembros

Marcelo Muñoz, PhD

Docente de la FIMCM

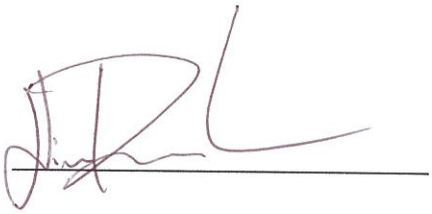
Francisca Burgos, Msc

Directora de Proyecto

DECLARACION EXPRESA

La responsabilidad del contenido de este trabajo final de graduación me corresponde exclusivamente y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral

Carlos Farinango Romero



Nino Rodríguez Loaiza

Gabriela Sandoval Prado

RESUMEN

Este proyecto tiene la finalidad de realizar un análisis microbiológico de las piscinas camaroneras de Acuario 5 en los tiempos de post cosecha y pre siembra luego de haber realizado una preparación de las piscinas con fuentes de nitrógeno, de esta manera obtener muestras e identificar la población bacteriana de cada uno de los tiempos y así realizar mediante cuadros estadísticos comparaciones entre las poblaciones y la cantidad de nitrógeno administrada.

El método utilizado es el tradicional, debido a que se pretende implementar un laboratorio en el lugar de estudio, pero teniendo como opción laboratorios especializados, con esto obtendremos el 1% de la biomasa bacteriana.

Con la finalidad de dar un aporte al sector camaronero pueden tener como referencia las bacterias presentes que determinan la calidad de sus suelos y aprovecharlas potenciando su función con el fin de que su producción mejore.

INDICE GENERAL

Antecedentes y Justificación………………………………………………….. 1

Marco Teórico………………………………………………………………….. 8

Principales Impactos……………………………………………………………. 22

Metodología………………………………………………………………………. 24

Método ……………………………………………………………………… 27

Análisis Estadístico ………………………………………………………… 35

Actividades………………………………………………………………………. 39

Distribución de Presupuesto …………………………………………… 41

Cronograma de Actividades……………………………………………… 42

Resultados y Recomendaciones………………………………………….. 43

Conclusiones ……………………………………………………………….. 44

Bibliografía……………………………………………………………………….. 45

Anexos ……………………………………………………………………… 50

ÍNDICE DE GRAFICOS

Figura # 1 Comparación de las envolturas celulares bacterianas……..….12

Figura # 2 Representación grafica de las interacciones de *vibrios* en diferentes compartimentos del ecosistema costero…….16

Figura # 3 Piscina camaronera…….....25

Figura # 4 Técnicas de dilución y siembra de superficie de placa……29

Figura # 5 Morfología de colonia en placa…….. ……31

Figura # 6 **:** Representación en Barras de las UFC encontradas en los tiempo de Post cosecha y pre siembra…….. .36

Figura # 7 Concentración en porcentajes de gran positivas y negativas encontradas…… ..37

Figura # 8 Población Bacteriana por especies encontradas en porcentajes…38.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla# 1 Costo de infraestructura y materiales…….…….50

Tabla# 2 Análisis microbiológicos del centro de servicios para la acuicultura……..…50

Tabla# 3 Costos de Materiales de Infraestructura del laboratorio……....51

Tabla# 4 Costos de Materiales de laboratorio……..…….51

CAPITULO I

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION:

Al final de la década de los sesenta se inició la industria camaronera en el Ecuador y con ello nació una de las industrias de mayor crecimiento y tecnificación en nuestro país [1] Según Marriot (2003), la producción de camarón puede realizarse en varios tipos de cultivo, que van desde extensivo a ultra-intensivo, siendo los más utilizados los sistemas extensivos, semi-intensivos e intensivos [2].

El cultivo de camarón se constituyó en una de las actividades económicas de mayor crecimiento productivo durante las décadas del 70, 80 y 90 sin embargo para la década de los 90 numerosos brotes epidémicos se registraron en el cultivo de *Penaeus vannamei* [3]

El Ecuador inició como pequeño productor y se consolidó años después como uno de los principales productores dentro del sector acuícola, llegando en 1998 a producir y exportar 159,878 Toneladas métricas (TM) de camarón,

convirtiéndose en el primer exportador de camarón en cautiverio del hemisferio Occidental (Cámara Nacional de Acuicultura, 1999; Piñas, P. 2000).

La industria con el pasar del tiempo aprendió a sobrellevar la mayoría de estas enfermedades pero, aquellas provocadas por virus como el (White Spot Virus) Virus de la Mancha Blanca han producido serios estragos hasta la actualidad.

En 1999 se reportó oficialmente en Ecuador la presencia del Virus de la Mancha Blanca el mismo que se propagó hasta afectar el 100% de las camaroneras a nivel nacional. Con el impacto del Virus de la Mancha Blanca se pudo evidenciar el decrecimiento de la producción en el año 2000, provocando una reducción de un 65% de la producción total [2]

La producción acuícola a nivel mundial enfrenta varios problemas relacionados con el desequilibrio ambiental y enfermedades infecciosas como producto de su desarrollo y propagación [1].

A pesar del aumento de áreas de camaroneras en el Ecuador, los productores no habían realizado estudios concernientes a bacterias presentes en el

sedimento de las piscinas, por lo que no podían determinar el potencial que éstas ejercían en la producción de camarón.

Es por esto, que tiempo después, la producción comenzó afectarse con alta concentración de nutrientes, debido a la falta de control en los parámetros físicos y químicos de las camaroneras.

Los sistemas de cultivo intensivos crean un ambiente modificado para los organismos marinos incrementando de por sí el crecimiento bacteriano, las bacterias llegan a tomar ventajas de los cambios ecológicos introducidos en los sistemas, llegando a causar enfermedades en sistemas donde normalmente predominan las bacterias Gram negativas [5]. En particular los miembros de la familia Vibrionaceae y principalmente el género *Vibrio* son causantes de septicemias o enfermedades en los camarones cultivados.

En la acuicultura, se puede temer no solo a la aparición de cepas bacterianas patógenas, sino también a su dispersión debido a la ausencia de adecuadas medidas profilácticas y de diagnóstico [6].

La mayor parte de las técnicas usadas para el diagnóstico de enfermedades en camarones *penaeidos* y de las investigaciones en laboratorio han sido adaptadas de la metodología tradicional usada en peces, en medicina veterinaria y en medicina general [7].

Hasta hoy a nivel mundial han sido reportados un número considerable de enfermedades de naturaleza infecciosa y no infecciosa, encontrándose dentro del primer grupo las de etiología viral y bacteriana [4]. Estas infecciones causadas por *Vibrio* y Virus han ido devastando la producción de camarón alrededor del mundo desde la década del noventa.

Entre los agentes patógenos bacterianos se encuentran algunas especies como *Vibrio harveyi, V. anguillarum, V. parahaemolyticus y V. vulnificus*, estos han sido frecuentemente asociados a mortalidades siendo responsables de grandes pérdidas económicas tanto en larvicultura como engorde [8]. Estas especies de *Vibrio* son consideradas oportunistas que con cambios ambientales favorables pueden producir focos de infección [9]. Así por ejemplo en la especie *Penaeus stylirostris* el *Vibrio peneicida* es una bacteria altamente patógena capaz de causar mortalidades masivas en pocos días, pero esta patogenicidad se manifiesta sólo durante los períodos de cambio de temperatura y salinidad [10].

Como muchas bacterias existen en el medio ambiente en estado latente, es importante medir su actividad, de modo que las bacterias ecológicamente relevantes y no células inactivas que no contribuyen al ecosistema sean evaluadas.00 [11]

Las comunidades bacterianas no solo son vectores de enfermedades también cumplen un rol muy importante en los sistemas de cultivo pero se conoce poco con respecto a la composición microbiana (niveles y especies) bajo diferentes condiciones y densidades de cultivos. [9]

Es por esto, que es necesario seguir realizando investigaciones que permitan una mejoría en la producción de camarón, por lo que es importante ejecutar un análisis microbiológico en nuestros suelos, ya que estos microorganismos ejercen una gran influencia en la captación de nutrientes para el desarrollo de la producción.

Nuestro sector de estudio es la camaronera Acuario 5, que se encuentra en la Isla Patria donde perteneciente al cantón Santa Rosa. En esta isla se empezó

el cultivo de camarón hace décadas atrás, y se ha mantenido hasta la actualidad.

Por lo que este estudio pretende determinar las bacterias marinas presentes en las piscinas de camarón en los tiempos de post cosecha y pre siembra con el fin de analizar este método de preparación de suelo, estableciendo que tan optimo es para el cultivo de camarón. De esta manera el productor podrá tener una referencia de que bacterias estarán presentes durante su producción.

Una vez conocidas las bacterias presentes, el productor podrá determinar cuan eficiente será su producción para así aprovecharlas y potenciar su función en cultivo de camarón.

Al centrarnos en la preparación de suelos, que es uno de los pasos básicos y más importantes en el cultivo de camarón, se evita posibles complicaciones, que se puedan dar con bacterias que serán perjudiciales para el crustáceo.

Este estudio tiene la finalidad de dar un punto de vista técnico-científico al productor camaronero, y de esta manera potenciar los microorganismos

encontrados en sus suelos y que mejor manera haciéndolo desde la preparación del suelo.

Por lo que este proyecto pretende ser de gran aporte para todo el sector camaronero del país, debido a que con el análisis de los suelos a estudiarse se busca tener la información suficiente para tomar las decisiones adecuadas y así obtener producciones optimas.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Características de los suelos:

Es importante caracterizar las condiciones superficiales y sub-superficiales de los suelos del lugar de estudio. Estas evaluaciones sobre varias características pueden en un momento dado sugerir la ubicación de mejores lugares para construcción. Entre otras, estas son algunas observaciones importantes a realizarse en el área de la mecánica de suelos; nivel freático, plasticidad, expansividad, saturación, granulometría, resistencia a la deformación, entre otras.

Suelos arcillo-limosos a arcillo-arenosos son los más convenientes para la construcción de piscinas para acuacultura. Los suelos altamente orgánicos (con capas superiores a los 0.6m de ancho) son muy poco apropiados debido a la alta tasa de filtración y pérdida de agua.

Abundante conocimiento en esta área se encuentra disponible y es materia normal de uso de las personas con experiencia en la selección de suelos para acuacultura. [12]

Según estudios realizados en 1999 se colectaron muestras de suelo del fondo de 74 piscinas camaroneras correspondiente a 40 camaroneras del Ecuador.

La mayoría de los estanques presentaron valores de pH> 6 y concentraciones de carbón total <2.5%.

El promedio de carbón orgánico en piscinas no construidas sobre fondo de manglar fue de 1.4%. El contenido de carbón es mayormente orgánico, debido a que la concentración promedio de carbón inorgánico en forma de carbonato de calcio fue de apenas 0.06%. El radio de C: N fue de 8 a 10:1 en suelos con contenido de C<2.5%.

En piscinas construidas sobre áreas de manglar, la concentración de C fue superior a 2.5% con un radio C:N de 25 a 30:1. El fondo de piscinas construidas sobre antiguas áreas de manglar también tiende a tener una mayor concentración de azufre total y bajo pH. Suelos con contenido de S>0.75% son considerados suelos potencialmente ácido-sulfurosos.

La falta de correlación entre carbón y azufre en suelos con fondo de manglar sugiere que la mayoría del azufre esta en forma inorgánica, presumiblemente como metales de sulfuro. [13]

Los suelos con un contenido superior al 0.4% de carbonato libre (como equivalente de CaCO3) tuvieron valores de pH >7. La concentración de fósforo

total promedió 898 mg/kg, y el contenido de fósforo asociado a la fracción disponible para procesos biológicos contribuyó con un 25-35% del total.

Las concentraciones de los mayores cationes y los elementos menores varían ampliamente entre suelos y exhiben rangos de hasta 3 órdenes de magnitud.

Contrariamente a la opinión de los productores de camarón, la mayoría de piscinas no son ácidas y sólo un bajo porcentaje de suelos tienen un elevado contenido de carbón total, asociados estos últimos a suelos de manglar. El uso apropiado de análisis de suelo y agua pueden mejorar la eficiencia de encalado y otras prácticas de manejo de suelo. [11]

Bacterias:

Son seres generalmente unicelulares que pertenecen al grupo de los procariotas. Son células de tamaño variable cuyo límite inferior está en las 0,2µm y el superior en las 50µm; sus dimensiones medias oscilan entre 0,5 y 1µm. Las bacterias tienen una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores: son células procariotas (su núcleo está formado por un único cromosoma y carecen de membrana nuclear). Igualmente son muy diferentes a los virus, que no pueden desarrollarse más dentro de las células y que sólo contienen un ácido nucleico. [14]

Las bacterias juegan un papel fundamental en la naturaleza y en el hombre: la presencia de una flora bacteriana normal es indispensable, aunque gérmenes son patógenos. Análogamente tienen un papel importante en la industria y permiten desarrollar importantes progresos en la investigación, concretamente en fisiología celular y en genética. El examen microscópico de las bacterias no permite identificarlas, ya que existen pocos tipos morfológicos, cocos (esféricos), bacilos (bastón), espirilos (espiras) y es necesario por lo tanto recurrir a técnicas que se detallarán más adelante. El estudio mediante la microscopia óptica y electrónica de las bacterias revela la estructura de éstas.

En microbiología, se denominan bacterias Gram negativas a aquellas bacterias que no se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram: de ahí el nombre de "Gram negativas". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de Negibacteria. Las restantes son las bacterias Gram positivas. [15]

Las bacterias Gram negativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglicano, mientras que las bacterias

Gram-positivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared de peptiglicano es mucho más gruesa. Al ser la pared fina, no retiene el colorante durante la tinción de Gram.

Comparación de las envolturas celulares bacterianas.

Arriba: Bacteria Gram-positiva: 1-membrana citoplasmática, 2-peptidoglicano, 3-fosfolípidos, 4-proteínas, 5-ácido lipoteicoico.

Abajo: Bacteria Gram-negativa: 1-membrana citoplasmática (membrana interna), 2-espacio periplasmático, 3-membrana externa, 4-fosfolípidos, 5-peptidoglicano, 6-lipoproteína, 7-proteínas, 8-lipopolisacáridos, 9-porinas.

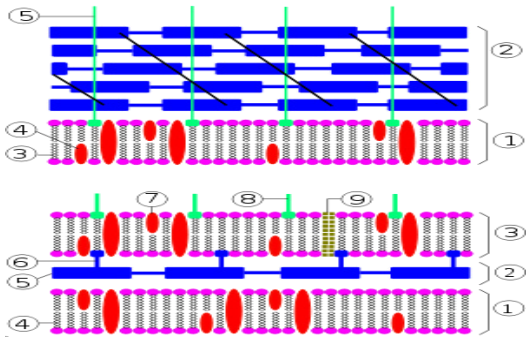


Figura 1

TITULO DE LA FIGURA: Comparación de las envolturas celulares bacterianas

FUENTE: Enciclopedia En Carta 2003

Género Vibrio

Es un género de bacterias, incluidas en el grupo gamma de las proteobacterias. Existen varias especies marinas bioluminiscentes, tanto de vida independiente como simbiótica o parasitaria.[16]

Las especies de género *Vibrio* son invariablemente bacilos Gram-negativos, de entre 2 y 3 µm de largo, dotados de un único flagelo polar que les permite una elevada movilidad. Soportan bien los medios alcalinos, así como las concentraciones salinas..

Distribución y diversidad de vibrios

Los vibrios fueron uno de los primeros grupos bacterianos en ser reconocidos y descritos taxonómicamente en la naturaleza; se clasifican en la familia Vibrionaceae abarcando diversos grupos de bacterias marinas heterótrofas; son gama proteo bacterias, Gram negativa, oxidasa positivos, mesófilos, generalmente móviles por medio de un simple flagelo polar. Toleran un amplio rango de salinidades, el óptimo requerimiento de NaCl es de ~ 2,0 a 2,5% (peso/volumen), algunas especies (halófilas) requieren al menos una concentración del 0,5% de NaCl en el medio para crecer, mientras que especies

no halófilas como *Vibrio cholerae, Vibrio mimicus* o *Vibrio hispanicus*, pueden crecen con concentraciones mínimas de sal. [17] La presencia de altas concentraciones de nutrientes orgánicos o cationes divalentes pueden compensar la falta de Na^+. Naturalmente habitan ambientes marinos y de agua dulce en formas de vida planctónica en la columna de agua, bentónica desarrollando biopelículas en sedimentos, zooplancton y en el tracto gastrointestinal de organismos marinos. Diversos estudios han demostrado que los vibrios se encuentran en altas densidades en el ecosistema marino **(Fig2)** y han sido extensamente estudiados en los sistemas costeros por su importancia medioambiental e incidencia en la extracción de moluscos. La distribución y dinámica de estas poblaciones están influenciadas por gradientes medioambientales como temperatura, salinidad, disponibilidad de nutrientes y factores biológicos como, depredación y abundancia de dinoflagelados y hospedadores. Al respecto, diversos estudios estuarinos y costeros de diferentes partes del mundo han demostrado que la temperatura y salinidad juegan funciones importantes en la ocurrencia del *V. cholerae*.

En general, los vibrios tienden a ser más comunes en aguas cálidas, en particular cuando las temperaturas exceden 17°C, no obstante postulan que en aguas tropicales y subtropicales la variación de poblaciones de vibrios es baja. Poco es el conocimiento que se tiene sobre la distribución, abundancia,

supervivencia y función ecológica de especies de vibrios en el sedimento marino. Se ha sugerido que la ocurrencia estacional de vibrios mesófilos como *Vibrio parahaemolyticus* y *V. coralliilyticus* se puede deber a una `hibernación' en sedimentos o en asociación con la fauna marina, por lo que no es sorprendente que estas bacterias posean un gran repertorio de proteínas con enorme especificidad de sustratos, los cuales le permiten realizar diferentes funciones catabólicas para responder eficientemente a los constantes cambios en los ecosistemas. El tracto digestivo de organismos marinos posee mayor disponibilidad de materia orgánica que el agua de mar, transformándose en un ambiente apropiado para vibrios, aunque en este micro ambiente están expuestos a un Ph bajo, secreción de ácido bilico y a condiciones micro o anaeróbicas. Lo anterior permite el desarrollo de biopelículas las cuales son comunidades microbianas que forman una matriz con sustancias extracelulares producidas por ellas; esta formación de biopelículas puede constituir una estrategia para sobrevivir en períodos de escasez de nutrientes, protegerse contra cambios ambientales, atrapar y absorber nutrientes, resistir a antibióticos y establecer interacciones favorables con otras bacterias. [18]

Representación grafica de las interacciones de vibrios en diferentes compartimentos del ecosistema costero

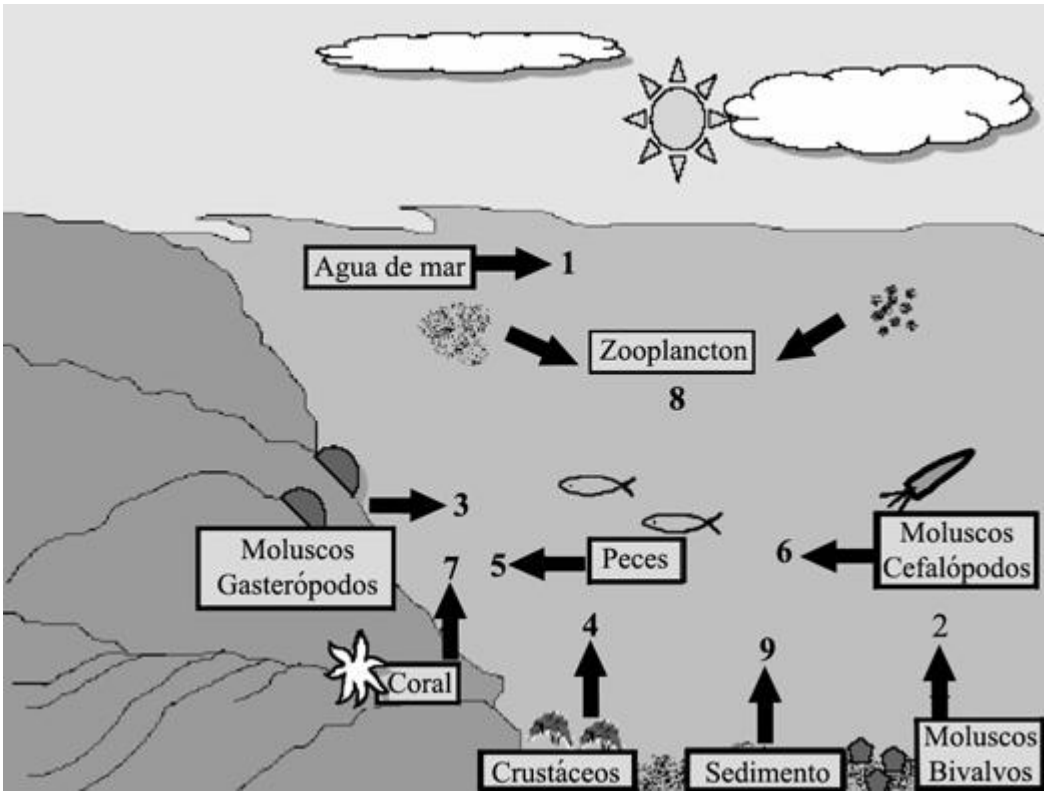


FIGURA 2

TITULO DE LA FIGURA: interacciones de *vibrios* en diferentes compartimentos del ecosistema costero.

FUENTE: Revista de Biología Marina y Oceanografía 43(3): 441-456, diciembre de 2008

Las especies de *Vibrio* varían considerablemente en patogenicidad y aún están indefinidas las causas de su aparición y epidemiología. Esto es relevante debido a que ocasionan numerosos episodios patológicos, casos de mortalidad y grandes pérdidas económicas y alteraciones sociales en la población dedicada a industrias extractivas y procesadoras de productos del mar. Los vibrios en la naturaleza pueden estar en un estado inactivo o no ser capaces de crecer en los medios selectivos empleados, no obstante, se ha evidenciado que las bacterias en estado de viables no cultivables (VBNC) pueden también causar enfermedades. postulan que se observan diferencias entre las bacterias VBNC (Bacterias Viables no Cultivables) y las bacterias viables cultivables como reducción del tamaño de la célula, aumento del grosor de la pared celular, disminución de la cantidad de RNA, DNA y formación de biopelículas. Por otro lado, aunque la costa difiere significativamente del océano abierto con respecto a los rangos de producción primaria e influencia terrestre, la secuencia del 16S Rrna de vibrios aislados desde el océano abierto son filogenéticamente similares a las secuencias de medio ambientes costeros. A pesar de esto los vibrios son el grupo mayormente cultivable de bacterias heterótrofas, especialmente de aguas costeras y, la proporción de recuento total en placas varía de acuerdo a los métodos de muestreo, áreas geográficas, estacionalidad y medios de cultivos diferenciales. Actualmente se están desarrollando nuevos métodos para

identificar la patogenicidad, ecología y distribución de vibrios, además, de evaluar aquellas especies que evaden los métodos convencionales de cultivo . [19]

En el ecosistema marino los *vibrios* juegan funciones importantes como biodegradación de la materia orgánica y regeneración de nutrientes, además pueden actuar como patógenos de organismos acuáticos de importancia comercial, o bien afectar al hombre. Existe una gran diversidad de *vibrios* reconociéndose casi 74 especies descritas dentro de este grupo , algunas de las cuales se ha elucidado su función ecológica en la naturaleza. [20]

Las bacterias descomponen rápidamente la materia orgánica en presencia de oxígeno y producen productos finales no tóxicos como dióxido de carbono y agua; mientras que en ausencia de oxígeno, la materia orgánica es descompuesta anaeróbica mente produciendo productos tóxicos tales como sulfuro de hidrógeno, nitrito y metano.

También, la descomposición de la materia orgánica está influenciada por factores tales como: temperatura, Ph y naturaleza de la materia orgánica. La descomposición es mayor cuando la temperatura y Ph se incrementa hasta niveles de 35 ºC y 8.5, respectivamente.[21]

En los estanques dependiendo de su ubicación (suelos eriazos o mangláricos) y manejo, pueden existir dos formas de materia orgánica: moléculas simples (azúcares, proteínas y grasas), de más fácil y rápida descomposición; en comparación a la segunda forma de materia orgánica: moléculas complejas (celulosa, lignina y taninos). Sea cual fuera el origen u ubicación, todo esto en realidad constituye la materia orgánica total, pero la materia orgánica disponible para la utilización por las bacterias, es solamente una fracción que en acuacultura se conoce por materia orgánica o carbono disponible.

Básicamente los elementos químicos que constituyen la materia orgánica son carbono y nitrógeno, los cuales también químicamente constituyen a las bacterias en un 50% de carbono y 10% de nitrógeno; además, a través de la degradación son capaces de asimilar el carbono orgánico disponible en aproximadamente el 5%.[22]

La deficiencia tanto de carbono como de nitrógeno limita la descomposición bacterial de materia orgánica.[23]

Se considera que la tasa óptima de carbono: nitrógeno es de 10:1. Cuando existe una concentración mayor de nitrógeno con respecto a la concentración de carbono (tasa C/N baja) en la materia orgánica, ésta se descompondrá

rápidamente en comparación con una tasa C/N alta y a la vez se eliminará al ambiente más compuestos amoniacales. [24]

Si en el ambiente de cultivo existe materia orgánica con muy poco nitrógeno, no habrá suficiente cantidad de este elemento para completar la descomposición. Si las bacterias degradadoras de materia orgánica no encuentran nitrógeno suficiente, ellas extraerán éste a partir de las formas existentes en el agua: nitratos y amonio. De no ser así, estas desaparecerán del estanque. Por lo que para que exista biomasa bacterial en los estanques debe haber materia orgánica en cantidad suficiente. [25]

Se considera que los suelos de estanques deberían tener niveles de materia orgánica disponible desde aproximadamente 3-10% para que exista una buena liberación de carbono y sea utilizada para la formación de bacterias degradadoras de materia orgánica y desarrollo de microorganismos acuáticos. La aplicación de melaza (que contiene sacarosa, azúcar simple) en forma líquida en las entradas del estanque o diluida en agua sobre la superficie del estanque, en cantidades que van desde de 5-12 galones por hectárea es una forma de aplicar carbono orgánico particulado, de fácil disponibilidad, que contribuirá en la proliferación de bacterias benéficas y la constitución estructural de diatomeas y otros organismos acuáticos, que al final constituyen el detritus.

Los camarones por su carácter de alimentación omnívora, también se alimentarán de bacterias que constituyen el detritus. [26]

CAPITULO III

PRINCIPALES IMPACTOS

Sociales

El proyecto a realizar podrá dar una visión clara al sector camaronero, de productos orgánicos que puede reciclar para el preparado de piscinas, lo cual hace más económico el proceso.

La identificación bacteriana tiene como fin demostrar al productor, que en su medio puede encontrar las herramientas necesarias para mejorar su producción, de esta manera podrá potencializar sus suelos y optimizar costos.

También con este estudio, se desea dar a conocer la diversidad bacteriológica que posee la zona de estudio, debido a que la población bacteriana no ha sido identificada aun, por lo que pueda dar una pauta de las especies que existen.

Ambientales

Basándose en la identificación de bacterias en el suelo de áreas camaroneras permitirá incursionar en la biorremediación, ya que se podría recuperar suelos

que se consideran de muy mala calidad. Fomentando así este método que es muy eficiente pero poco aplicado.

Con este proyecto se pretende concientizar al productor en darle un buen mantenimiento a los suelos, con el fin de que no destruya los nutrientes y microorganismos que más bien pueden ser beneficiosos para la zona.

El sector camaronero podrá reutilizar sedimentos con materia orgánica rica en nitrógeno como la urea que pueden ser una alternativa, y enriquece al suelo por lo tanto, no interrumpe ningún ciclo biológico importante.

Científicos

Mediante la identificación, las bacterias encontradas servirán como referencia del estado en el que se encuentra las zonas aledañas a la camaronera, por lo que los productores podrán determinar que tipo de tratamiento necesitan sus suelos.

La identificación bacteriana permite el estudio de las bacterias encontradas y aprovecharlas para diferentes funciones, en este caso priorizando su aplicación para la acuicultura a través de los ya conocidos probióticos.

CAPITULO IV

METODOLOGIA

Área de estudios.

El área de estudio se encuentra ubicada en la zona de Los Puertos – Isla Patria en el Cantón de Santa Rosa, Parroquia Jambelí en la Provincia El Oro en donde se tomaran muestras en los cultivo: semi-intensivos (Camaronera Acuario 5), área 82,7 Has.

Las muestras serán analizadas y preservadas en un Laboratorio de Microbiología creado para este proyecto, en la camaronera ya mencionada.

CUADRO DE AREAS	
Area de piscinas (Espejo de agua)	67,08 Has.
Areas de Pre-criadero (Espejo de agua)	1,12 Has.
Area de Reservorio (Espejo de agua)	2,40 Has.
Area de campamento	1,14 Has.
Areas de muros	10,96 Has
AREA TOTAL	82,70 Has.

CUADRO DE COORDENADAS		
Vértices.	Coordenadas	
	x(m)	y(m)
A	591.186,00	9630.442,00
B	591.900,00	9630.445,00
DATOS TOMADOS CON GPS DATUM: SISTEMA W.G.S.84 PROYECCIÓN CARTOGRÁFICA: UTM ZONA: 17 SUR		

HECTAREAS DE PISCINAS.	
Pisc # 4	6,15 Has
Pisc # 5	6,10 Has
Pisc # 6	6,10 Has

FIGURA 3

FUENTE: DIARIO CORREO

Protocolo de trabajo

- Preparación de suelos de piscinas de camaronera
- Colecta de muestras.
- Preparación de cultivos.
- Técnicas de dilución y siembra de superficie de placa.
- Conteo de colonia y caracterización morfología de colonia
- Tinción de Gram.
- Prueba bioquímica Api.

METODO

Preparación de piscinas de camaronera

Una vez realizada la post cosecha, las piscinas deben mantenerse con una película de agua de 30 cm con el fin de mantenerla húmeda,.

Luego se procede a colocar la urea cuya dosis será de 50 Kg por cada hectárea de la piscina.

Después de esto, se espera que se dé la proliferación bacteriana, la cual irá biodegradando los sedimentos. Esto se dará en un tiempo estimado de 7 días.

Al final se irá haciendo lavados continuos a la piscina con el fin de ir retirando la materia orgánica

Colecta de muestra.

- Se utilizaran un tubo de PVC (core) estéril.
- El core fue introducido a una profundidad de 5cm del sedimento de la piscina.

- Luego la muestra serán colocada en fundas plásticas previamente rotuladas.
- Después de ser recolectadas las muestras fueron transportadas en frío hasta su posterior tratamiento en el laboratorio de Microbiología.[13]

Técnicas de dilución y siembra de superficie de placa.

- Las siembras se realizaran siguiendo la metodología tradicional empleando diluciones sucesivas en una relación 1:10 para las muestras de agua y sedimento.
- Cada tubo de ensayo empleado para las diluciones contiene 9 ml de solución salina al 2% con NaCl, estéril.
- Para realizar las diluciones de las muestras de sedimento se utilizaran frascos con 90 ml de solución salina con 10g de muestra.
- Posteriormente se adicionara 100 ml de cada dilución en su respectiva caja petri, en Agar Marino como en Agar TCBS.
- Posteriormente se efectuara la siembra por el método de directo (barrido) que consiste en extender la muestra con ayuda de un asa de vidrio en forma de bastón (asa de Drygalski), previamente esterilizada al calor.
- Las placas seran incubadas en la en posición invertida entre 28 - 30 ºC por 48 horas para las muestras de sedimento.[14]

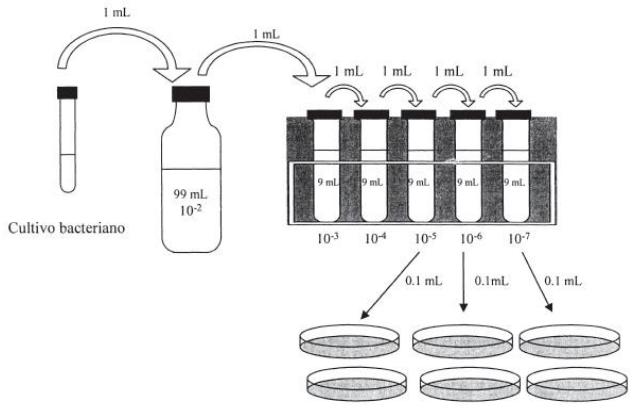


FIGURA 4

TITULO DE LA FIGURA: Técnicas de dilución y siembra de superficie de placa.

FUENTE: AQUIAHUATL RAMOS, Ma; Pérez Chabela, Ma. 2004**.** Manuel de prácticas del **Laboratorio de Microbiología** General. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Procedimiento de Tinción de Gram.

1. Cubrir el frotis con 2 gotas de cristal violeta durante 30 segundos a 1 minuto.
2. Lavar cuidadosamente el frotis con agua de la llave o destilada para eliminar el exceso de colorante.
3. Sacudir un poco y sin dejar secar el frotis con 2 gotas de lugol por 30 segundos.
4. Lavar cuidadosamente el frontis con agua.
5. Inclinar el porta objeto y aplicar gota gota el decolorante dejando que se escurra hasta que no fluya mas tintura.
6. Inmediatamente lavar con agua.
7. Aplicar 2 gotas de safranina durante 30 segundos.
8. Lavar con agua, eliminar cuidadosamente el exceso de agua con una toalla de papel y dejar secar al aire.[15]

MORFOLOGÍA DE COLONIA.

FORMA:

Puntiforme, circular, irregular, alargada, fusiforme, filamentosa, rizoide, etc.

TAMAÑO:

Estimar el diámetro en mm.

SUPERFICIE:

Lisa, rugosa, cerebriforme, en anillos concéntricos, etc.

ELEVACION:

Aplanada, elevada, pulvinada, convexa, umbonada, umblicada, etc.

BORDE:

Continuo, ondulado, lobulado, erosionado, festoneado, filamentoso, etc.

ESTRUCTURA INTERNA:

Amorfa o granulosa.

COLOR:

Según sea observado por la luz reflejada o por la luz transmitida, puede ser de color blanco, amarillo, rojo ladrillo, anaranjado, etc.

OPACIDAD:

Transparente, opaca, etc.

CONSISTENCIA:

Dura, viscosa, membranosa, gelatinosa, mucosa, etc. Usar el asa bacteriológica para determinar la consistencia.[14]

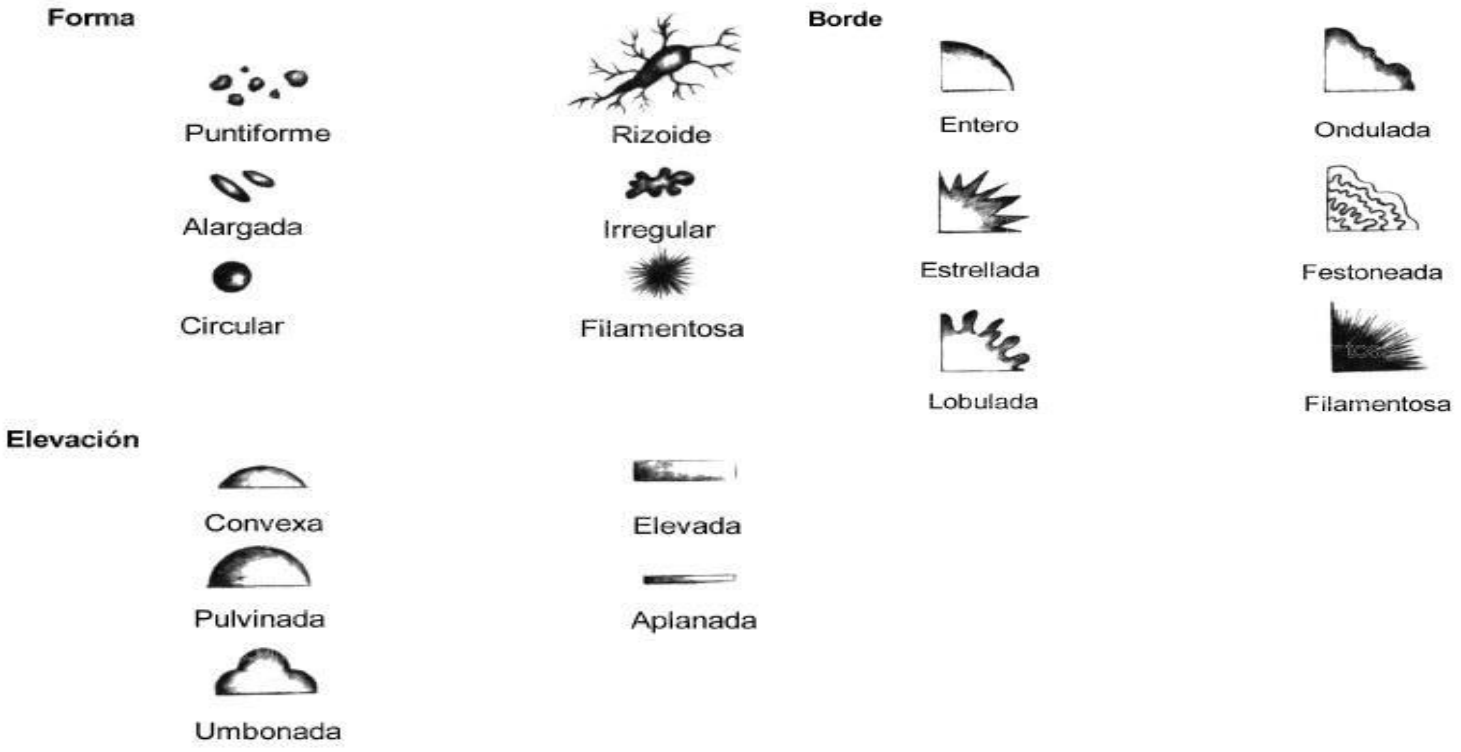


FIGURA 5TITULO DE LA FIGURA: Morfología de colonia en placa.

FUENTE: MICROBIOLOGIA APLICADA MANUAL DE LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANICA AZCAPOTZALCO.

PRUEBA BIOQUÍMICA API.

Procedimiento

1. Preparación del inóculo.

a) Añadir 5 ml. de solución salina al 0,85% a un tubo de ensayo estéril.

b) Utilizando un asa estéril, cuidadosamente tocar el centro de un pozo aislado (Colonia de 2-3 mm. Diámetro) y emulsionar bien en la solución salina

2. Preparación de la Franja.

a) Una bandeja de incubación y la tapa se suministra para cada banda.

b) Dispensar 5 ml de agua en la bandeja.

3. La inoculación de la Franja.

a) Retire la tapa del tubo que contiene la suspensión bacteriana e insertar un 5ml.

b)La inclinación de la API de incubación de la bandeja y llenar la sección del tubo de la microtubos colocando la punta de pipeta contra la pared de la cúpula.

c)Llenar el tubo y la sección de la cúpula [CIT], [VP] y [tubos de gel].

d) Después de la inoculación, llenar completamente la sección de la cúpula de la ADH, LDC, ODC, H2S y los tubos de URE con aceite mineral.

e) Uso de la suspensión bacteriana en exceso. Incubar la placa durante 18-24 horas a 35ºC.

4. De incubación de la Faja.

a)Después de la inoculación, coloque la tapa de plástico en la bandeja e incubar la franja de 18-24 horas a 35ºC, en un no-CO2 incubadora.

b) Incubación de fin de semana: las reacciones bioquímicas de la API 20E debe leerse después de 18-24 horas de incubación. Si las tiras no se puede leer después de 24 horas incubación a 35ºC, las tiras deben ser retirados de la incubadora y se almacenan a 2-8 ºC hasta que las reacciones se puedan leer.

5. Lectura de franja.

a) Después de 18 horas de incubación y antes de 24 horas de incubación, grabar todas las reacciones de que no requieren la adición de reactivos.

b)Si el tubo GLU es negativo (azul o verde), no añadir los reactivos. Reincubar un más de 18-24 horas.

c)Si el GLU es positivo (amarillo):

6. Interpretación

a) Utilice el índice API perfil analítico. (Para las pruebas de 18-24 horas, utilizar las páginas en blanco. Para 36 - 48 horas, utiliza las páginas azules).

b) Las pruebas se dividen en grupos de tres. El valor numérico asignado a los siguientes cada reacción registrada:

1 -- reacción positiva en la primera prueba del grupo.

2 -- reacción positiva en la segunda prueba del grupo.

4 -- reacción positiva en ninguna prueba.

0 -- reacción negativa en cualquier prueba. [14]

ANÁLISIS ESTADISTICO

1. Conteo de UFC

Debido a que obtenemos 9 muestras de las piscinas y cada una de ellas posee 3 replicas tendremos el valor de la media aritmética de cada muestra con sus respectivas muestras con el fin de obtener un valor representativo del promedio de UFC que posee cada muestra. Con ayuda de ANNOVA obtendremos datos como:

Desviaciòn Estándar

Varianza

Serán valores que podremos comparar en los dos tiempos de post-cosecha y pre siembra con el fin de analizar mediante un gráfico de barras, si la presencia de nitròǵeno provocó un aumento en la UFC en los tiempos en los cuales se obutvo las muestras.

Variables Dependientes:

- Unidad Formadora de Colonias en tiempos de: post cosecha y pre siembra

Variables Independientes:

- Concentración de Fuentes de Nitrógeno

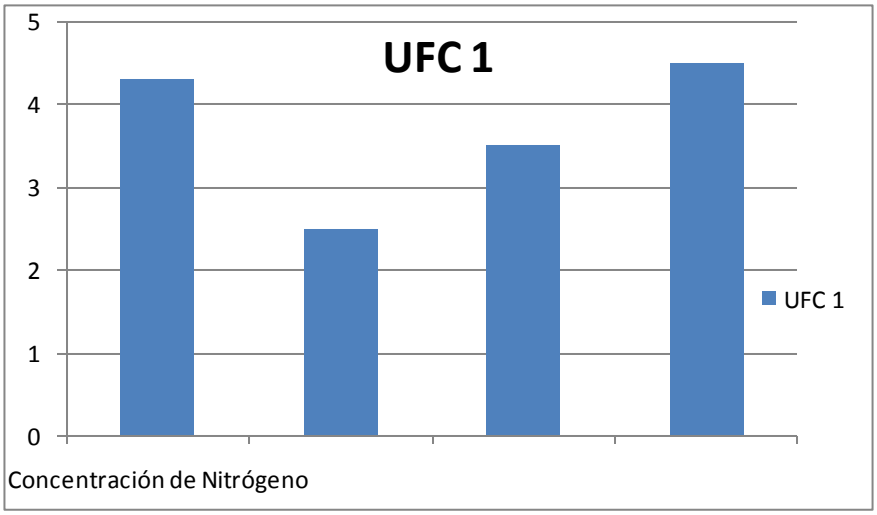


Gráfico 6

Título: Representación en Barras de las UFC encontradas en los tiempo de Post cosecha y pre siembra

Fuente: Autores

2. Análisis de Gram Negativas y Gram Positivas

Luego de una tinción de Gram, a cada muestra con sus respectivas réplicas se procede a cuantificar los Gram a través de porcentajes, de acuerdo a la presencia que posean en las respectivas muestras.

Lo que se espera obtener es que se obtenga un alto porcentaje de gram negativas antes de la preparación de gran negativas debido a la gran cantidad de materia orgánica que queda en los sedimentos, luego de la cosecha.

En el tiempo de pre siembra se espera obtener una concentración de porcentajes medianamente equilibrado entre gran positivas y gran negativas.

Los datos serán procesados en gráfico de torta con el fin de mostrar la diferencia de presencia de gran positivas y negativas.

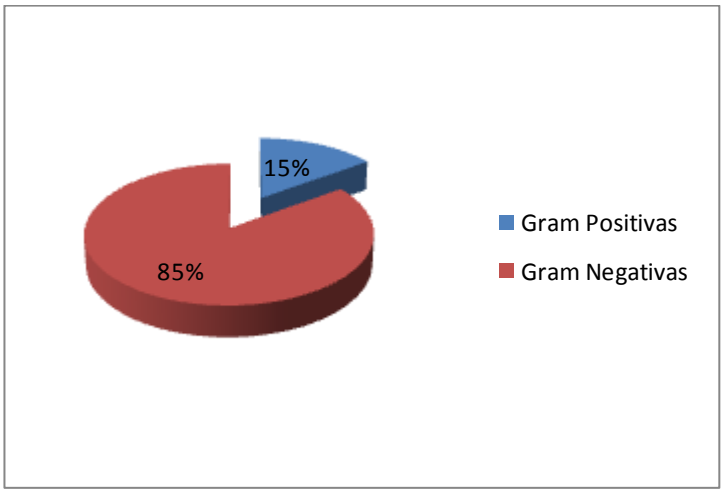


Gráfico 7

Título: Concentración en porcentajes de gran positivas y negativas encontradas

Fuente: Autores

3. Especies encontradas

Con la identificación API podremos obtener las especies de bacterias que poseen los sedimentos, los cuales serán representados en un gráfico de tortas los cuales mostraran que especies predomina en cada uno de los tiempos: post cosecha y pre siembra.

En los tiempos de post cosecha esperamos ver predominancia de *Vibrio Cholerae,* seguido por *V. parahaemolyticus*, *V. Harveyi*, otros. Por lo cual los

representamos en gráficos cirulares para demostrar mediante porcentajes l presencia de estos vibrios.

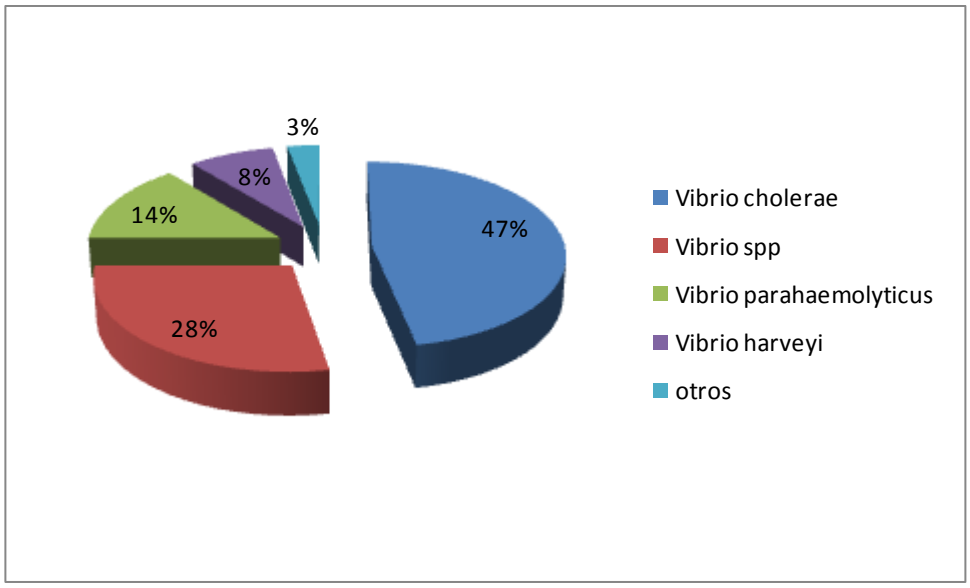


Gráfico 8

Título: Población Bacteriana por especies encontradas en porcentajes

Fuente: Autores

Mientras que en los tiempos de pre siembra podemos obtener una predominancia de *V. cholerae,* el cual predomina en las piscinas de camaronera.

CAPITULO V

ACTIVIDADES

N	Actividad	Fecha Inicio	Fecha Fin	Recursos Humanos	Costo de la actividad
1	Investigación bibliográfica	15/06/2010	16/07/2010	Estudiantes encargados del proyecto.	$400.00
2	Investigación de campo	19/07/2010	23/07/2010	Estudiantes encargados del proyecto.	$150.00
3	Construcción del laboratorio	26/07/2010	20/08/2010	Obreros contratados.	$ 3,620.00
4	Implementación del laboratorio	23/08/2010	25/08/2010	Estudiantes encargados del proyecto.	$9,391.77
5	Toma de muestra	26/08/2010	27/08/2010	Estudiantes encargados del proyecto.	$60.00
6	Análisis de las muestra.	28/08/2010	06/09/2010	Estudiantes encargados en el	$1,800.00

				proyecto.	
7	Preparación de las piscinas con fuente de nitrógeno.	01/09/2010	09/09/2010	Estudiantes encargado en el proyecto	$800.00
8	Toma de muestras de suelos tratado con fuentes de nitrógeno	10/09/2010	11/09/2010	Estudiantes encargado en el proyecto	$60.00
9	Análisis de las muestras con tratamiento de fuente de nitrógeno	07/09/2010	15/09/2010	Estudiantes encargado en el proyecto	$1,800.00
COSTO TOTAL					$18,081.77

DISTRIBUCION DE PRESUPUESTO

	Aporte CICYT (US$)	Otros Aportes Institucionales (US$)	Aporte Externo (US$)	Total (US$)
1. Remuneración recursos humanos *(Director, Investigadores, Técnicos*)[1] (≤ 25%) En tesis NO APLICA.				$800.00
2. Viajes Técnicos				$450.00
3. Capacitación *(pasantías, cursos)*				$700.00
4. Equipos (≤50%)				$5540.00
5. Libros y Revistas				$400.00
6. Materiales y Suministros				$9,391.77
7. Transferencia de resultados				
8. Subcontratos y servicios (≤ 20%)				$800.00
Total				$18,081.77
Porcentaje				

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7
Investigación Bibliográfica	4 semanas	2 semanas					
Investigación de Campo.	1 semana						
Toma de muestras de pot cosecha			1 semana				
Tiempo de muestras en pre siembra			1 semana				
Análisis de muestras				1 mes			
Análisis estadísticos					1 semana		
Avance						3 semanas	
Revisión							1 mes

CAPITULO VI

RESULTADOS Y RECOMENDACIÓN

- Se espera que luego del análisis microbiológico de las muestras correspondientes a los sedimentos de post cosecha se observe una predominancia de las bacterias Gram positvas, debido a que los suelos son sometidos a ciclo de producción, los cuales utilizan insumos como balanceado con lo que se da la presencia de desechos orgánicos fomentando así la proliferación de bacterias Gram positvas.
- Una vez tratada la piscina de engorde de camarón con la fuente de nitrógeno se presume que la calidad de los suelos será óptima para poder realizar el cultivo.
- Se pretende llegar a un equilibrio entre las bacterias marinas presentes en el suelo.
- Se conocerá el 1% de la población bacteriana existente en la zona de estudio, gracias a los estudios de caracterización morfológica y las pruebas bioquímicas de Api.
- Utilizar la comunidad bacteriana encontrada para estudios posteriores de biorremediación en suelos de camaronera.

- Analizar la función de las bacterias de la muestra para determinar su rol positivo o negativo en la producción.

CONCLUSIONES

- Con la ejecución del proyecto los estudiantes responsables obtendrán destrezas necesarias para la utilización de los instrumentos del laboratorio y experiencias en estudios microbiológicos
- Con la utilización de fuentes de nitrógeno se contribuye a no desgastar la calidad de los suelos, dándose un beneficio económico y ambiental.
- Las macro empresas camaronera o pequeños productores de una misma zona deben implementar laboratorios que realicen estudios microbiológicos con el fin de hacer seguimiento a la calidad de los suelos. Creando así una base de datos de las bacterias endémicas de la zona para luego potenciarlas y utilizarlas.
- El asesoramiento es primordial para la implementación de laboratorios microbiológicos.

BIBLIOGRAFIA

[1] Francisco Marriot, M. Baquero Latorre.- Análisis del Sector Camaronero. Apuntes de Economía n 29.(2003).

[2]Cámara de productores de camarón, Libro blanco del camarón, (2a. Edición, Octubre 1993, Codemet S.A).

[3] Cámara Nacional de Acuacultura, 2000. Análisis de las Exportaciones de Camarón. Enero-Julio del 2000. Acuacultura del Ecuador. Edición 39, 86 pp.

[4] Sotomayor, M.A., Balcázar, J.L. 2003. Inhibición de *Vibrios* patógenos de camarón por mezclas de cepas prebióticas.

[5]Thompson FL, Iida T, Swing J (2004). "Biodiversity of Vibrios". *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **68** (3): 403–431.

[7] Sutton Scott, La tinción de Gram, 2006

[8] Mohney, L L.., Lightner, D. V., Bell, T. A. 1994. An epizootic of vibriosis in Ecuadorian pond – reared *Penaeus vannamei* Boone (Crustacean : Decapoda) J. World Aquacult. Soc. 25: 116 - 125.

[9] Gallardo AA, S Risso, MA Fajardo & S Estevao-Belchior. 2004. Caracterización de poblaciones microbianas presentes en la macroalga comestible *Monostroma undulatum*, Wittrock. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 54: 337-345.

[10] Alexander M. 1999. Environmental effects. En: Alexander M (ed). Biodegradation and bioremediation 13: 226-247. Academic Press, San Diego.

[11] Panicker G, J Aislabie, D Saul & AK Bej. 2002. Cold tolerance of *Pseudomonas* sp. isolated from oil-contaminated soil, Antarctica. Polar Biology 25: 5-11.

[12] Stoeck T, I Kröncke, G Duineveld & A Palojärvi. 2002. Phospholipid fatty acid profiles at depositional and non-depositional sites in the North Sea. Marine Ecology Progress Series 241: 57-70.

[13] Toren F, S Navon-Venezia, EZ Ron & E Rosenberg. 2001. Emulsifying activities of purified Alasan proteins from *Cinetobacter radioresistens* KA53. Applied and Environmental Microbiology 67: 1102-1106.

[14] Süss J, B Engelen, H Cypionka & H Sass. 2004. Quantitative analysis of bacterial communities from Mediterranean sapropels based on cultivation depend methods. Microbiology Ecology 51: 109-121.

[15] Russell NJ & DS Nichols. 1999. Polyunsaturated fatty acids in marine bacteria a dogma rewritten. Microbiology 145: 767-779.

[16] Salas HJ. 2000. Historia y aplicación de normas microbiológicas de calidad de agua en el medio marino. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). OPS-OMS. Hojas de Divulgación Técnica 29: 1-11.

[17] Borbor Suárez, M. 2005. Caracterización de Comunidades Bacterianas en sistemas de engorde de camarón mediante electroforesis en geles de gradiente denaturante (DGGE). Tesis de grado Universidad Estatal Península de Santa Elena Facultad de Ciencias del Mar Escuela de Biología Marina

[18] Härtig C, N Loffhagen & H Harms. 2005. Formation of trans fatty acids is not involved in growth-linked membrane adaptation of *Pseudomonas putida*. Applied Environmental Microbiology 71: 1915-1922.

[19] Brown BJ & LG Leff. 1996. Comparison of fatty methyl ester analysis with the use of API 20E and NFT strips for identification of aquatic bacteria. Applied and Environmental Microbiology 62: 2183-2185.

[20] vanova EP, S Flavier & R Christen. 2004. Phylogenetic relationships among marine Alteromonas-like proteobacteria: emended escription of the family Alteromonadaceae and proposal of Pseudoalteromonadaceae fam. nov., Colwelliaceae fam. nov., Shewanellaceae fam. nov., Moritellaceae fam. nov., Ferrimonadaceae fam. nov., Idiomarinaceae fam. nov. and Psychromonadaceae

[21] Boschker HTS, WD Graaf, M Köster, LA Meyer-Reil & TE Cappenberg. 2001. Bacterial populations and processes involved in acetate and propionate consumption in anoxic brackish sediment. Microbiology Ecology 35: 97-103.

[22] Pucci GN & OH Pucci. 2006. Cambios en los ácidos grasos de membrana de *Microbacterium esteraromaticum* GNP-5 con diferentes temperaturas y osmolaridades. Acta Biologica Colombiana 11: 61-73.

[23] Kieft TL, E Wilch, K O'Connor, DB Ringelberg & DC White. 1997. Survival and phospholipids fatty acid profiles of surface and subsurface bacteria in natural sediment microcosms. Applied and Environmental Microbiology 63: 1531-1542.

[24] Michaud L, AL Giudice, M Saitta, M de Domenico & V Bruni. 2004. The biodegradation efficiency on diesel oil by two psychrotrophic Antarctic marine bacteria during a two-month-long experiment. Marine Pollution Bulletin 49: 405-409.

[25] Pozo Quimis, Y. 2005. Análisis microbiológico y caracterización de poblaciones bacterianas en sistemas de engorde de camarón durante un ciclo de cultivo. Tesis de grado Universidad Estatal Península de Santa Elena Facultad de Ciencias del Mar Escuela de Biología Marina.

Páginas web

http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8546/1/bquinc23.pdf

Fecha de revisión: 08/03/2010

http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572009000100005&script=sci_arttext

Fecha de revisión: 08/03/2010

http://www.azc.uam.mx/cbi/quimica/microbiologia/p12.pdf

Fecha: 12/03/2010

http://www.morgancc.edu/faculty/smith.../MicroLab%20book%2007.pdf

Fecha de revisión 10/03/2010.

http://microbiology.mtsinai.on.ca/manual/tech/tech04_02.pdf

Fecha de revisión: 17/03/2010

ANEXOS

Tabla# 1 Costo de infraestructura y materiales.

Costo de infraestructura y materiales.	
Infraestructura del laboratorio.	**$4,520.00**
Material de laboratorio.	**$9,391.77**
Total.	**$13,911.77**

Tabla# 2 Análisis microbiológicos del centro de servicios para la acuicultura.

COSTO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DEL CENTRO DE SERVICIOS PARA LA ACUICULTURA (CSA).				
Análisis a realizar.	**Costos**		**Numero de muestra.**	**Costo.**
	1- 4 muestras.	**+5 muestras.**		
Vibrio Presuntivo-cultivo en	$9.50	$7.50	54	$405.00

TCBS				
Cultivo en Agar Marino.	$8.86	$8.45	54	$456.30
Costo total.				**$861.30**

Tabla# 3 Costos de Materiales de Infraestructura del laboratorio.

Infraestructura del laboratorio de 3X3 metro.	
Materiales de construcción.	**$3,900.00**
Mano de obra.	**$500.00**
Gastos varios.	**$120.00**
Total.	**$4,520.00**

Tabla# 4 Costos de Materiales de laboratorio

Material de laboratorio.	**Costo por unidad.**	**Cantidad.**	**Costo.**
Autoclave.	$3,420.00	1	$3,420.00
Balanza.	$50.00	1	$50.00
Oxigenometro.	$750.00	1	$750.00
Micropipeta.	$150.00	1	$150.00
Pipeta.	$3.50	5	$3.50
Caja petri.	$2.50	81	$202.00

Asa de platino.	$13.75	3	$41.25
Asa de vidrio.	$4.00	3	$12.00
Vaso de precipitación. 500ml	$25.87	2	$51.74
Matraz. 500 ml	$9.50	2	$19.00
Tubo de ensayo.	$0.25	10	$2.50
Juego de espátula.	$82.92	1	$82.92
Mechero.	$7.92	3	$23.76
Agua destilada (Gal)	$1.55	2	$3.10
Agar marino.	$137.00	1	$137.00
Agar. TCBS	$108.00	1	$108.00
Banda indicadora de Ph.	$18.00	1	$18.00
Microscopio.	$607.00	1	$607.00
Prueba Api E20	$6.00	540	$3,240.00
Refrigeradora	$400.00	1	$400.00
Cloruro de sodio	$20.00	1	$20.00
Aceite de inmersión	$3.00	2	$6.00
Alcohol (Gal)	$6.00	2	$12.00
Porta objeto caja	$15.00	1	$15.00
Cristal violeta	$20.00	1	$20.00
Lugol.	$15.00	1	$15.00
Costo total	**$5,797.76**		**$9,391.77**