



**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**  
**Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas,**  
**Oceánicas y Recursos Naturales**

**“ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL AGUA EN  
DIFERENTES PUNTOS DE RECORRIDO EN UN  
LABORATORIO DE LARVICULTURA”**

**PROYECTO DE GRADUACION**

Previa la obtención del Título de:

**ACUICULTOR**

Presentada por:

**Espinoza Pico Jose William**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2014**

# DEDICATORIA

A Dios, por todas sus bendiciones, por brindarme salud y fuerzas en toda vicisitud.

A mi madre querida, por su gran sacrificio, siempre ha estado ahí para sus hijos, luchando sola para labrarnos un mejor porvenir, con su guía y ejemplo me enseñó a perseverar por lo que quiero, me inculco solidas bases morales y me forjo como una persona de bien, lo que soy se lo debo entero a ella.

A mi hermanito del alma, que es sin duda gran parte de mi corazón, hemos luchado juntos, apoyándonos en cada etapa de nuestra vida y así hemos alcanzando muchas metas.

A mi esposa, por su amor incondicional, por ser un pilar en la familia, por apoyarme siempre en todas mis nuevas travesías, aunque sean difíciles de alcanzar.

*Espinoza Pico José William*

# AGRADECIMIENTO

A Nuestros amigos e ilustres profesores que con su experiencia, conocimiento y apoyo, hicieron posible este proyecto, especialmente a mi director de tesis el Ph.D. Marcelo Muñoz, a la M.Sc. Francisca Burgos y al M.Sc. Jerry Landivar. Un agradecimiento muy especial al M.Sc. Vicente Cedeño y al Laboratorio Biogemar, fueron fundamentales para el desarrollo de este proyecto.

# DECLARATORIA EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Trabajo de Graduación, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma, a la **Escuela Superior Politécnica del Litoral**”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

---

ESPINOZA PICO JOSE WILLIAM

## **TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

---

Ecuador Marcillo, M.Sc.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

Marcelo Muñoz, Ph.D.

**DIRECTOR DE PROYECTO**

---

Jerry Landivar, M.Sc.

**MIEMBRO PRINCIPAL**

## RESUMEN

La acuicultura es uno de los más importantes sectores de la producción alimentaria en Ecuador y a nivel mundial. Sin duda en las últimas décadas ha tenido muchos problemas debido a numerosas enfermedades causadas principalmente por bacterias y virus. Dentro del ambiente de producción las enfermedades más comunes son de origen bacteriano causadas principalmente por vibrios los cuales son microorganismos oportunistas, cuya afección se la conoce como vibriosis y causa enfermedades a nivel digestivo conocido como septicemias. En Ecuador se han presentado infecciones por vibrios, conocidos como síndromes de las Gaviotas y el síndrome de las bolitas las cuales son causantes de mortalidades en peneidos, sobre todo a nivel larval y juvenil. El sector camaronero a pesar de todos los avances obtenidos a nivel de la zootecnia en su desarrollo industrial, aun tiene bastantes falencias para identificar y combatir las epidemiologías. Por lo general se manejan protocolos de emergencia cuando se presenta el problema. Lo ideal sería un buen manejo a nivel sanitario y de la bioseguridad.

Es imprescindible una buena calidad de larvas por lo que en los laboratorios se debe manejar un procedimiento formal de buenas prácticas tanto en reproductores como en la propia cría de larvas. Es sumamente importante identificar las posibles fuentes de propagación de cargas bacterianas que

sumado a causales externos o internos pudieren ocasionar posibles infecciones bacterianas.

El presente trabajo realiza un estudio microbiológico del agua en diferentes puntos de recorrido en El laboratorio de larvas y maduración de camarón Biogemar, ubicado específicamente vía Mar Bravo – Punta Carnero, en la parroquia José Luis Tamayo, cantón Salinas en la provincia de Santa Elena.

El laboratorio tiene identificado diferentes puntos críticos de la trayectoria del agua en el proceso de producción, desde la entrada hasta su efluente. Se ha realizado numerosos muestreos durante un periodo de 12 meses en medio AM y TCBS, para obtener valores tanto de bacterias totales como de vibrios presuntivos a fin de determinar la carga bacteriana en los diferentes puntos críticos. Estimando una posible fuente de carga bacteriana dentro de los puntos determinados por el laboratorio como críticos y una evaluación espacio temporal.

# INDICE GENERAL

RESUMEN .....	V
INDICE GENERAL .....	VII
INDICE DE TABLAS .....	X
INDICE DE ANEXOS .....	XI
INTRODUCCIÓN.....	XI
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS.....	1
1.1.1 <i>Objetivo General</i> .....	1
1.1.2 <i>Objetivos Específicos</i> .....	2
1.2 HIPÓTESIS.....	2
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	2
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>2 MARCO TEORICO. ....</b>	<b>5</b>
2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA ZONA DEL LABORATORIO .....	5
2.2 BACTERIAS GRAM NEGATIVAS - VIBRIOS. ....	10
2.2.1 <i>Etiología</i> .....	13
2.2.2 <i>Patogénesis</i> .....	17
2.2.3 <i>Diagnóstico Clínico</i> .....	21
2.2.4 <i>Diagnóstico Anatomopatológico</i> .....	23
2.2.5 <i>Diagnóstico Confirmativo</i> .....	24
2.2.6 <i>Tratamiento</i> .....	26
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>3 METODOLOGÍA DE ANALISIS .....</b>	<b>30</b>
3.1 MEDIO TCBS. ....	30
3.1.1 <i>Composición</i> .....	31
3.1.2 <i>Preparado</i> .....	31
3.2 MEDIO AGAR MARINO .....	32
3.2.1 <i>Composición</i> .....	33
3.2.2 <i>Preparado</i> .....	33
3.3 PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA.....	34
3.3.1 <i>Estimación de UFC</i> . ....	35
3.3.2 <i>Equipos</i> .....	36
3.3.3 <i>Materiales</i> .....	37
3.3.4 <i>Reactivos</i> .....	38
3.3.5 <i>Precauciones</i> .....	38



**CAPÍTULO 4**

<b>4 PRUEBAS Y RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>55</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>57</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>64</b>

## INDICE DE FIGURAS

Figura 2-1 División Política de la Provincia de Santa Elena. ....	7
Figura 2-2 Vista satelital del Cantón Salinas .....	8
Figura 2-3 División Política del Cantón Salinas .....	10
Figura 2-4 Estructura Bacteria(célula procariota). ....	14
Figura 2-5 <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> . ....	16
Figura 2-6 <i>Vibrio harveyi</i> .....	16
Figura 2-7 Bacteriosis de la región oral de una postlarva. ....	18
Figura 2-8 Enfermedad de las Bolitas. ....	19
Figura 2-9 Necrosis causada por Vibrios .....	21
Figura 2-10 a. Músculo necrosado opaco y lesiones subcuticulares (flechas) en abdomen. b. Camarón con apéndices rojos. ....	22
Figura 2-11 Microfotografía del hepatopáncreas en el camarón <i>P. Vannamei</i> . a. Hepatopáncreas con melanización y necrosis del epitelio tubular e infiltración hemocítica en tejido conectivo intertubular; tinción H&E, escala 100 $\mu$ . b. Descamación severa de células epiteliales en el lumen de los túbulos, necrosis del epitelio tubular. c. Magnificación del recuadro anterior tinción H6E, escala 20 $\mu$ . d. Músculo cardíaco con necrosis, infiltración hemocítica y formación de nódulos haemocíticos con acumulación de bacterias flecha gruesa, tinción H6E, escala 20 $\mu$ . ....	24
Figura 2-12 Cultivo en medio TCBS con colonias verdes y amarillas .....	25
Figura 4-1 Valores obtenidos en AM, durante el periodo de 12 meses de muestreo. ....	42
Figura 4-2 Valores promedio, máximos y mínimos obtenidos en AM, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio. ....	43
Figura 4-3 Valores promedio obtenidos en AM de los PCA en invierno. ....	44
Figura 4-4 Valores promedio obtenidos en AM de los PCA en verano. ....	45
Figura 4-5 Valores promedio obtenidos en AM de los PCB en invierno. ....	45
Figura 4-6 Valores promedio obtenidos en AM de los PCB en verano. ....	46
Figura 4-7 Valores obtenidos en TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo. ....	47
Figura 4-8 Valores promedio, máximos y mínimos obtenidos en TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio. ....	48
Figura 4-9 Valores promedio obtenidos en AM y TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio. ....	49
Figura 4-10 Valores promedio obtenidos en TCBS de los PCA en invierno. ...	50
Figura 4-11 Valores promedio obtenidos en TCBS de los PCA en verano. ....	51
Figura 4-12 Valores promedio obtenidos en AM y TCBS en el flujo de ingreso del agua al laboratorio. ....	52

## INDICE DE TABLAS

Tabla 2-1 Extensión de Salinas.....	9
Tabla 2-2 Características de las colonias de vibrios en Agar TCBS.....	25
Tabla 2-3 Métodos para identificación de vibrios.....	26
Tabla 2-4 Mejores prácticas con antibióticos.....	27
Tabla 2-5 Características de los probióticos.....	29
Tabla 3-1 Composición medio TCBS.....	31
Tabla 3-2 Medio Agar Marino.....	33
Tabla 3-3 Ejemplo de dilución para muestras a sembrar.....	36

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 0-1 Resultados obtenidos en Medio TCBS (invierno) .....	65
Anexo 0-2 Resultados obtenidos en Medio TCBS (verano).....	66
Anexo 0-3 Resultados obtenidos en Medio TCBS (12 meses) .....	67
Anexo 0-4 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (invierno).....	68
Anexo 0-5 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (verano).....	69
Anexo 0-6 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (12 meses).....	70

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades microbiológicas y esencialmente bacterianas son las principales causantes de las altas mortalidades en los laboratorios de larvas de camarón, no solo de Ecuador, sino a nivel mundial, razón por la cual se han realizado innumerables estudios y protocolos de infecciones experimentales con bacterias para determinar: Mecanismos de defensa del huésped, la virulencia del patógeno y su tratamiento curativo y profiláctico. El CENAIM ha venido trabajando en esta línea hace muchos años y los principales problemas reconocidos durante el proceso de esta metodología son: pérdida de patogenicidad de las cepas producto de mutaciones favorecidas por el continuo cultivo “in vitro” en el laboratorio, la capacidad de colonización de las bacterias empleadas en la infección que puede ser menor que aquellas presentes naturalmente en el agua y en las larvas, y problemas de preservación de las bacterias en el laboratorio [1].

Al examinar los patrones de propagación de las enfermedades y patógenos del camarón, especialmente aquellos de origen vírico, existen evidencias concluyentes de que la mayoría de los brotes principales de enfermedades están asociados al movimiento de animales vivos (reproductores, nauplios y postlarvas) [2]. Otro de los factores negativos preponderantes en la presencia de enfermedades es la contaminación del agua utilizada en los laboratorios, cuya calidad es desmejorada por desechos de fábricas, poblaciones, los propios desechos de la producción

y posibles proliferaciones en los reservorios y tuberías que llevan el agua hasta los tanques de producción.

Los principales patógenos que se encuentran en los sistemas de cultivo de camarón a nivel larvario son las bacterias del genero *Vibrio*, registradas en la mayoría de lugares de cultivo larvario. Los vibrios son cosmopolitas (habitan en todo el mundo), característicamente indígenas de hábitats marinos, salobres y estuarinos, son bacilos gram negativos aerobios y anaerobios facultativos [3].

# **CAPÍTULO 1**

## **1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.**

### **1.1 Objetivos**

#### **1.1.1 Objetivo General.**

- Analizar la carga bacteriana del monitoreo de agua en un laboratorio de larvicultura en diferentes puntos del recorrido.

### **1.1.2 Objetivos Específicos.**

- Determinar la carga bacteriana total (UFC/ml) presente en puntos de suministro del agua desde la playa hasta los tanques de producción.
- Establecer los puntos críticos donde se encuentra ubicada una posible fuente de ingreso de bacterias al sistema de producción.
- Establecer la presencia de género vibrio presuntivo en puntos de suministro del agua desde la playa hasta los tanques de producción.
- Evaluación Espacio-Temporal de la carga bacteriana en puntos de suministro del agua desde la playa hasta los tanques de producción.

### **1.2 Hipótesis.**

- El suministro de agua se considera como una fuente importante de contaminación bacteriana a los procesos de cultivo en el laboratorio de larvicultura

### **1.3 Justificación.**

Las enfermedades bacterianas han causado altas mortalidades en los



laboratorios de larvas de camarón, no solo de Ecuador, sino a nivel mundial. Estos microorganismos se encuentran presentes en el agua de mar y pueden a su vez proliferar en los reservorios y tuberías que llevan el agua hasta los tanques de producción. Además, otros factores de manejo propios de la producción de larvas que pueden incidir en un incremento en la carga bacteriana en los tanques producción de larvas.

Los principales patógenos que se encuentran en los sistemas de cultivo de camarón a nivel larvario son las bacterias del genero vibrio, reconocidas en la mayoría de lugares donde se cultivan larvas. Los vibrios son microorganismos que residen a nivel mundial, son propios de hábitats marinos y salobres. Los vibrios son bacilos gram negativos aerobios y anaerobios facultativos [3].

En los laboratorios de larvicultura, algunas enfermedades de origen bacteriano han sido puestas en evidencia, siendo el desprendimiento de células epiteliales de los túbulos del hepatopáncreas o de la mucosa intestinal (síndrome de bolitas) uno de los más estudiados hasta el presente. Este síndrome es causado por *Vibrio harveyi* genera la descamación de las células del epitelio del primer segmento del tracto digestivo, provocando la descamación del epitelio digestivo de las larvas de camarón. Este hecho, induce a la obstrucción del primer segmento del tracto digestivo de las larvas

por parte de las células descamadas que tienen una apariencia de bolitas en dicha zona. Así, producto de esta obstrucción del tracto digestivo de las larvas, estas no son capaces de alimentarse y mueren por inanición.

El presente estudio resulta de gran utilidad, para determinar las zonas críticas para el ingreso de bacterias al sistema de producción de larvas y permitirá tomar medidas preventivas y correctivas. Dichas medidas, permitirán desarrollar estrategias de manejo que generen protocolos mas adaptados a disminuir la presencia de bacterias en los tanques de producción de larvas y mitigar en parte el riesgo de potenciales enfermedades debido a estos microorganismos.

# **CAPÍTULO 2**

## **2 MARCO TEORICO.**

### **2.1 Características Generales de la Zona del laboratorio**

La provincia de Santa Elena es parte de la costa ecuatoriana, formaba parte hasta el 7 de noviembre de 2007 de la zona oeste en la provincia del Guayas. Su capital lleva el mismo nombre. Es una zona de alta afluencia turística, con una moderna y muy buena infraestructura hotelera, tiene aeropuerto y puerto marítimo, lo que facilita el turismo.

La provincia geográficamente limita al norte con Manabí, al sur y este con Guayas y al oeste con el Océano Pacífico. Tiene 3 cantones: La libertad, Salinas y Santa Elena, las cuales forman parte de las poblaciones más relevantes de la provincia, podemos mencionar también: Ballenita, Montañita, Anconcito, Manglaralto, Punta Blanca, Ayangue, Colonche Olón, Palmar, Chanduy, entre otros.

Geográficamente la provincia tiene una superficie de 3,762.8 kilómetros cuadrados (1.46 % del total nacional) y con una población residente de 238,889 habitantes (1.97 % del total nacional) y una población flotante superior a 200,000 personas en época alta de turismo, principalmente de la Provincia del Guayas y básicamente de Guayaquil. Santa Elena posee 5 parroquias rurales, Salinas tiene dos y La Libertad es en su totalidad urbana.

Aunque políticamente los tres cantones están separados, físicamente y en su convivir las tres ciudades, junto con la parroquia rural José Luis Tamayo, están fusionadas formando una sola ciudad, que en total acumulan una población total de 205,969 habitantes según datos oficiales del INEC censo del 2010. El 90% de toda la población de la península está en la costa de Ayampe al norte hasta Salinas al sur, con una densidad poblacional de 560 hab./km<sup>2</sup>. Salinas, La Libertad y Santa Elena en conjunto tienen una densidad de 900 a 1.000 hab/km<sup>2</sup>.

El clima de la provincia es incidido por la corriente cálida de El Niño (Dic. a Abr.) y la corriente fría del Humboldt (May. a Nov.).

La temperatura promedio anual fluctúa entre 23 y 25 °C, con una temperatura mínima de 15°C en Jul. y Ago. y máxima de 39.5 °C en Feb. y Mar.



Figura 2-1 División Política de la Provincia de Santa Elena [4].

<<http://www.santaelena.gob.ec>>

El laboratorio de larvas y maduración de camarón Biogemar, se encuentra específicamente vía Mar Bravo – Punta Carnero, en la parroquia José Luis Tamayo, cantón Salinas en la provincia de Santa Elena.



**Figura 2-2** Vista satelital del Cantón Salinas  
Google Earth <<http://maps.google.com>>

El cantón Salinas está ubicado en la parte occidental de la provincia, a unos 144 km del cantón Guayaquil, en el extremo más saliente de la costa del Pacífico Sur, formando parte de la provincia de Santa Elena. Tiene una gran infraestructura hotelera, una de la más grandes del Ecuador.

Limita al norte, sur y oeste con el Océano Pacífico y al este La Libertad y Santa Elena.

<b>EXTENSIÓN</b>	
Cabecera Cantonal-Área Urbana Salinas (Has)	2,706.84
Parroquia Rural-José Luis Tamayo (Has)	3,676.02
Parroquia Rural-Anconcito (Has)	973.84
<b>Total</b>	<b>7,356.70</b>

**Tabla 2-1** Extensión de Salinas  
Municipio Salinas <<http://www.salinasecuador.com>>

El cantón está dividido en seis parroquias, cuatro urbanas: Carlos E. Larrea, Alberto E. Gallo, Vicente Rocafuerte y Santa Rosa; y dos rurales: José Luis Tamayo y Anconcito, siendo las tres primeras conocidas simplemente como Parroquia Salinas. Actualmente esta división política no refleja de manera acertada la conurbación (unión de áreas metropolitanas) existente, pues todas las parroquias urbanas de Salinas, mas el área urbana de José Luis Tamayo, representan una sola ciudad. [4].



**Figura 2-3** División Política del Cantón Salinas  
Municipio Salinas <<http://www.salinasecuador.com>>

## 2.2 Bacterias Gram Negativas - Vibrios.

Las especies son bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, son curvos tipo coma, su longitud es entre 1.4 y 2.6  $\mu\text{m}$ ., son catalasa y oxidasa positivos. Fermentadores de glucosa sin producción común de gas. Reductor de nitrato a nitrito. Su movilidad la obtienen por un flagelo monopolar monotrico e incluso politrica. Los Vibrios requieren de sodio para su crecimiento. Para las especies halófilicas se requiere que se incluya el NaCl en el medio de cultivo.



La vibriosis es una enfermedad bacterial de la familia Vibrionaceae, responsables de la mortalidad del camarón de cultivo en todo el mundo [5; 6; 7; 8; 9; 10]. Las bacterias están implicadas en enfermedades y mortalidades de peneidos cultivados, especialmente en los estadios de larva, postlarva y juvenil. Algunas de las enfermedades son consecuencia del sistema de cultivo empleado, si es intensivo, semi-intensivo o extensivo [11]. Las altas densidades que se manejan en un cultivo intensivo, permiten la adaptación y selección de cepas bacterianas oportunistas asociadas al camarón y/o al medio marino. Estos sistemas también pueden estresar al camarón, lo que asocia a una afección inmunitaria y fisiológica, provocando susceptibilidad o sensibilidad a bacterias oportunistas que en casos normales son muy poco patógenas [12]. Casos de septicemia se han presentado por ciclos de producción seguidos, sin espacios de tiempo de secado, lo que provee el tiempo necesario para la selección de cepas bacterianas virulentas [13].

Las bacterias aumentan su patogenicidad con el tiempo, mediante cambios al transferirse material genético conocido como plásmidos, los cuales poseen genes que pueden alterar la regulación osmótica a nivel del tubo digestivo.

Los brotes pueden ocurrir cuando los factores ambientales disparan la rápida multiplicación de las bacterias que son toleradas a bajos niveles dentro de la sangre del camarón [14], o por la penetración de bacterias a

las barreras del huésped. Los exoesqueleto para los *Vibrio* spp, son vulnerables por cuanto estas bacterias son quitinoclasticas (Microorganismos que destruyen el dermatoesqueleto quitinoso. Las branquias al tener un exoesqueleto delgado y el intestino medio, compuesto por la glándula digestiva y el tronco medio o intestino que no está revestido por un exoesqueleto son los sitios más probables de penetración de patógenos presentes en el agua, alimentos y sedimentos [15].

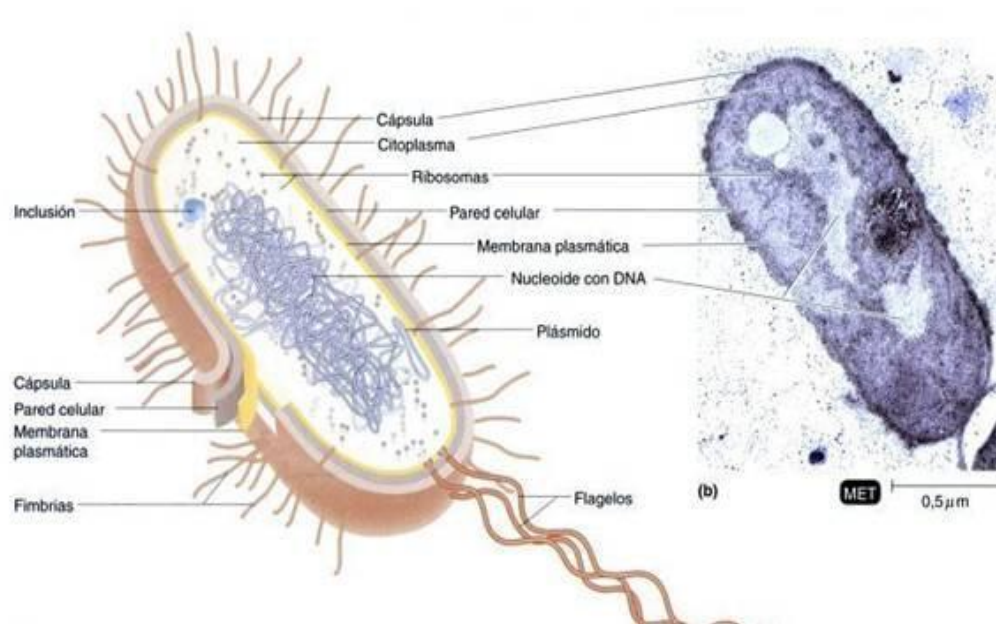
Las infecciones, pueden tomar tres formas características, la erosión de la cutícula cubriendo la superficie del cuerpo, branquias y apéndices (necrosis); lesiones localizadas dentro del cuerpo, y septicemias generalizadas. Cabe recalcar que las infecciones presentadas en larvicultura son ocasionadas por bacterias oportunistas que atacan cuando las larvas se han debilitado por causas de factor biótico o abiótico. En este género se diferencian principalmente dos enfermedades, la producida por bacterias luminiscentes (*V. harveyi* y *V. splendidus*) y el desprendimiento de células epiteliales de los túbulos del hepatopáncreas o de la mucosa intestinal (síndrome de bolitas o bolitas blancas). Esta enfermedad conocida como “bolitas blancas”, es la causante de un alto porcentaje de mortalidad en los laboratorios de larvicultura. Los síntomas observados consisten en una descamación de las células de las paredes del hepatopáncreas e intestino de las larvas, que mueren en pocas horas,

pudiendo perderse casi el 100% de la población [16]. Esta enfermedad causada por una bacteria identificada mediante pruebas bioquímicas como *Vibrio harveyi*, se ve agravada por factores como altos recuentos bacterianos en los tanques, las bajas temperaturas o nauplios débiles.

### **2.2.1 Etiología**

Las bacterias del género *Vibrio* son las causantes de la vibriosis, forman parte de la familia *Vibrionaceae* la cual está integrada por ocho géneros: *Vibrio*, *Allomonas*, *Catenococcus*, *Enterovibrio*, *Grimontia*, *Listonella*, *Photobacterium* y *Salinivibrio*.

Las bacterias Gram negativas, fundamentalmente los vibrios, predominan en los ambientes marinos y usualmente constituyen la mayor parte de la flora intestinal de peces y crustáceos. Habitan en todo el mundo, abarcando diversos grupos de bacterias marinas heterótrofas, salobres y estuarinos; son gama proteo bacterias, Gram negativas, oxidasa positivas, mesófilas, generalmente móviles por medio de un simple flagelo polar [17].



**Figura 2-4** Estructura Bacteria(célula procariota). Tortora et al. 2007.  
[http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358010/exe/leccin\\_6\\_estructura\\_celular\\_en\\_procariontes.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358010/exe/leccin_6_estructura_celular_en_procariontes.html)

Son por lo general halos dependientes, requieren para su crecimiento la presencia de Cloruro de Sodio, toleran un gran rango de salinidades. El metabolismo respiratorio es fermentativo y su desarrollo óptimo es en medios alcalinos a un pH de 7.6 a 9.0. Bioquímicamente es catalasa y oxidasa positivas. Son fermentadores de glucosa. Los vibrios son parte de la microflora de los camarones a nivel de branquias y cutículas. La distribución y dinámica de estas poblaciones están influenciadas por factores medioambientales como la temperatura, salinidad, factores biológicos como depredación, disponibilidad de nutrientes, abundancia de dinoflagelados y de hospedadores [18].

El hábitat primario de los vibrios son los ecosistemas de aguas salobres y marinas, ocupando gran diversidad de nichos. Se encuentra en todas las capas del agua (plantónicas) hasta el sedimento (bentónicas), de forma libre formando biopelículas en el sedimento o parasita en el tracto gastrointestinal de organismos.

Las principales especies de vibrio observadas en las patologías del camarón son: *v. harveyi*, *v. parahaemolyticus*, *v. vulnificus*, *v. alginolyticus*, *v. damsela* (actualmente *photobacterium damsela*), *v. penaeicida*, *v. anguillarum*, *v. nereis*, *v. splendidus*, *v. campbellii*, *v. tubiashi*, *v. pelagicus*, *v. orientalis*, *v. ordalii*, *v. mediterrani* y *v. fluviales*.

Pueden infectar a todo tipo de especies acuáticas e incluso al ser humano por ingestión de alimentos infectados. Poseen gran resistencia a cambios del ecosistemas debido a las diferentes funciones catabólicas otorgadas por la especificidad de sustratos de sus proteínas. Son patógenos oportunistas y debido a que forman gran parte de la población bacteriana del camarón, se aprovechan de cualquier cambio en el medio para causar posibles infecciones. Las enfermedades provocadas por este tipo de bacterias son descritas como vibriosis, septicemia, vibriosis luminiscente y enfermedad de las patas rojas.



**Figura 2-5** *Vibrio Parahaemolyticus* , Dennis Kunkel. Microscopy Inc. México 2004. <http://pathmicro.med.sc.edu/spanish/chapter11.htm>



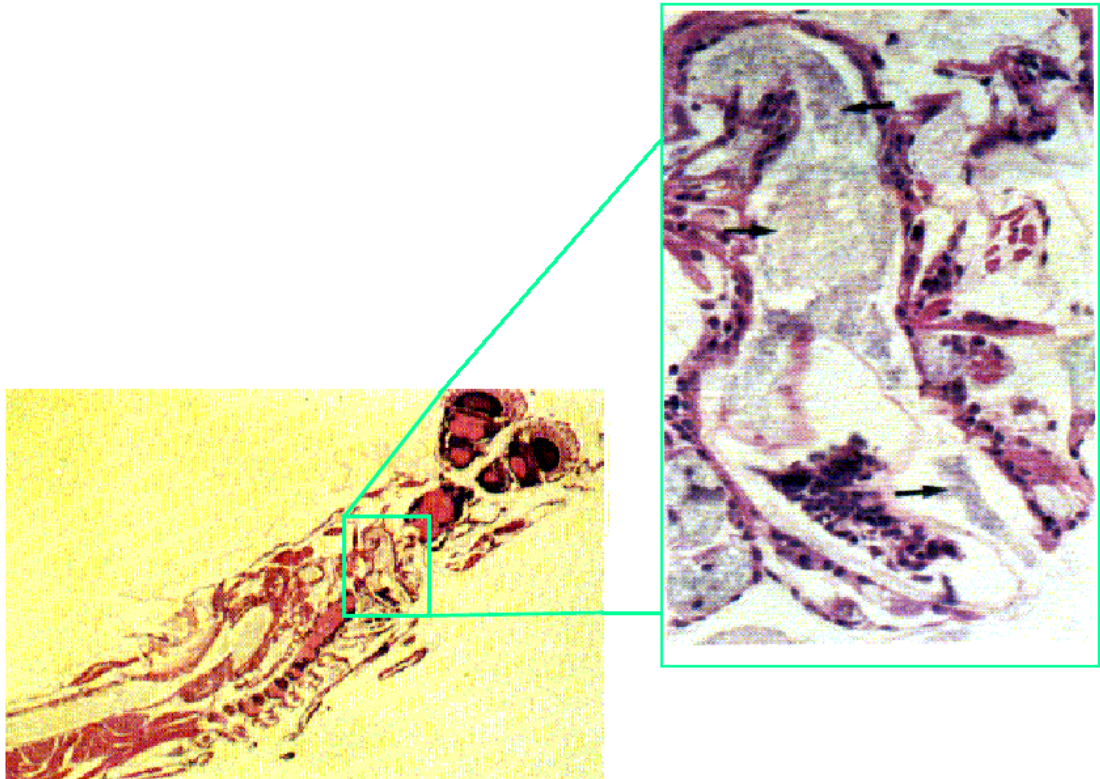
**Figura 2-6** *Vibrio harveyi*, Science & Technology. Dr. Elizabeth Boon. EEUU. 2014 <http://cen.acs.org/articles/90/web/2012/05/Nitric-Oxide-Regulates-Group-Behavior.html>

### **2.2.2 Patogénesis**

Estos patógenos oportunistas son parte normal de la microflora bacteriana del medio acuático, por lo que su presencia no necesariamente denota enfermedad en los organismos. La enfermedad en si es como consecuencia de la interacción del animal, el patógeno y su medio ambiente. Precisamente malas condiciones ambientales causadas por un cultivo intensivo mal manejado, con una baja tasa de recambio de agua, provocan baja concentración de oxígeno disuelto y pobre calidad del agua, esto repercute en el organismo ocasionando un alto desgaste al intentar adaptarse, lo que conlleva a un desarrollo ínfimo disminuyendo la eficiencia del sistema inmunológico del camarón.

El riesgo se presenta en los organismos cuando estos se encuentren estresados, débiles y/o inmunodeprimidos. La genética del animal en conjunto con factores bióticos y abióticos, la propia contaminación e intensificación de la producción, estresan a los camarones y alteran su sistema, lo que provoca cambios negativos en el metabolismo, osmorregulación, regulación hormonal e inmunológica aumentando la susceptibilidad al ataque de patógenos. Las especies del género vibrio han sido reportadas como la causa de serias pérdidas económicas en la producción de camarón en diversos países. La patogenicidad resulta impredecible desde intervalos insignificantes hasta una total mortalidad, afectando principalmente a las primeras etapas del camarón. El síndrome

de la vibriosis se presenta como: vibriosis sistémica y hepatopancreatitis séptica, vibriosis oral y entérica, vibriosis de los apéndices y cuticular, vibriosis localizada en las heridas y enfermedad de la concha.

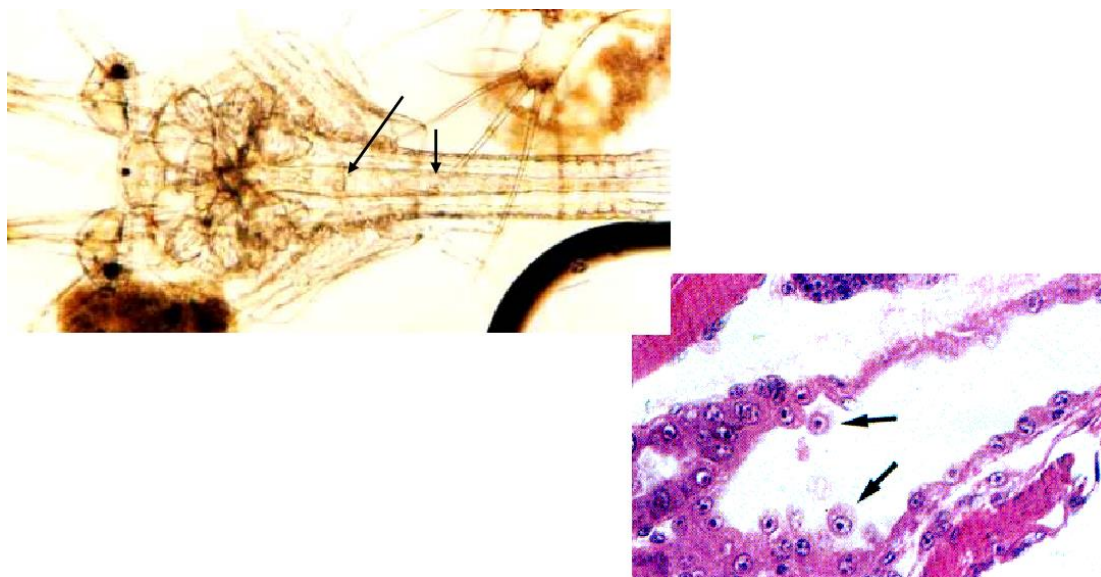


**Figura 2-7** Bacteriosis de la región oral de una postlarva. [19]

Los signos clínicos presentes durante una vibriosis son necrosis, septicemia, opacidad de los músculos, falta de apetito y/o tracto intestinal vacío, debilidad, malformaciones y melanización.



Después de periodos de estrés se pueden presentar enfermedades leves o crónicas en el camarón ya sea por ataque de un patógeno oportunista o simplemente puede ser un portador, cuando el sistema de defensa es debilitado o suprimido, el patógeno puede multiplicarse, rebasar los mecanismos de defensa y en ocasiones matar al hospedero.



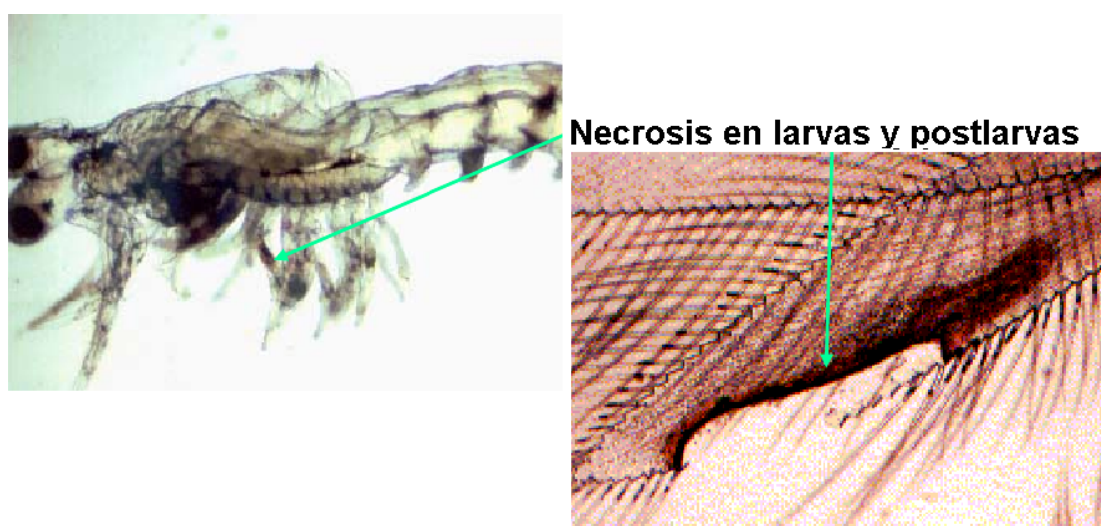
**Figura 2-8** Enfermedad de las Bolitas. [20]

La muda del exoesqueleto por cambio de estadio, la ingestión de alimentos contaminados y los propios embate que causan lesiones superficiales en los cultivos intensivos, son los detonantes para las infecciones de las bacterias oportunistas. Los vibrios alojados en el medio o en la superficie del camarón penetran por medio de la producción de enzimas quitinolíticas estas degradan la cutícula protectora y él en

respuesta produce melanina (sustancia de color negro) para bloquear el ataque. El músculo abdominal puede opacarse al igual que los cromatóforos del cuerpo. La enfermedad impide un nado normal porque le provoca una curvatura del abdomen cercana a su tercer segmento. Internamente se disemina por todo el organismo por la hemolinfa, ocasionando su turbidez, descenso de hemocitos y disminuyendo el tiempo de coagulación. Un síntoma grave es la inflamación del hepatopáncreas en casos leves se lo ve expandido y decolorado pero puede incluso licuarse bloqueando su función más importante como lo es la de absorber y almacenar nutrientes. La anorexia resultante provoca un intestino con paredes lechosas. La vibriosis puede causar la pérdida de las capas que lo protegen, el epitelio y la membrana peritrófica que secreta, esta afección menoscaba la función reguladora de agua la asimilación de iones. La muerte se presenta a menos de 48 horas aproximadamente a la presentación de los síntomas primarios en dependencia del estadio.

Los organismos después de un periodo de estrés pueden parecer externamente sanos pero pueden ser portadores asintomáticos de diferentes agentes perjudiciales y esto puede ser revertido cuando las condiciones de cultivo para su desarrollo no son las óptimas, bajando los sistemas de defensa. Existe la hipótesis que los cambios en el medio ambiente causado por los sistemas de cultivo pueden instituirse como

fuente de vibrios patógenos. La asociación de vibrios patógenos con diferentes especies de rotíferos y de artemias puede tener como consecuencia la transmisión de estas bacterias a las larvas [21].

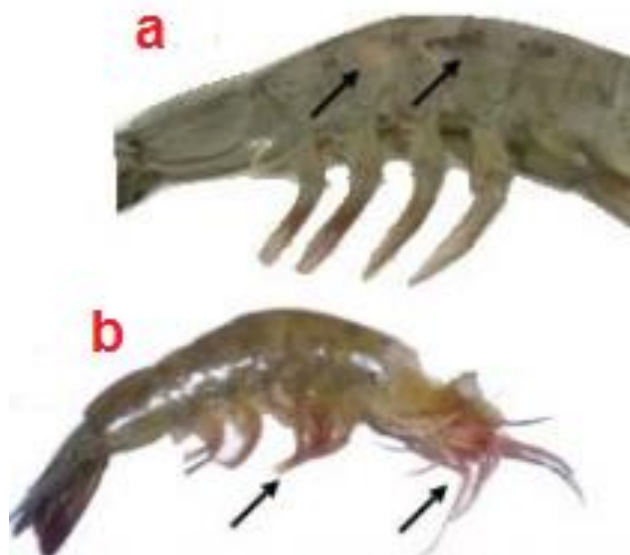


**Figura 2-9** Necrosis causada por Vibrios [22]

### 2.2.3 Diagnóstico Clínico

Todos los estadios del camarón pueden verse afectados por vibriosis y la gravedad del daño con altos porcentajes de mortalidad dependerá del estadio, órgano afectado y el sitio. Se tiene una mortalidad total cuando la afección es interna y variable pero menor cuando es externa. Como se ha mencionado visualmente la vibriosis causa lesiones en la cutícula con melanización, ablandamiento y opacidad difusa de la musculatura, las branquias cambian de color rojizo a un marrón por hipoxia al no tener un adecuado suministro de oxígeno, el caparazón puede estar en un proceso

de desprendimiento progresivo, los periópodos y pleópodos de coloración rojiza por expansión de los eritróforos, puede llegar a la pérdida de miembros. La actividad es letárgica, su movimiento es errático, no coordinado y su nado es superficial. Un síntoma lógico es la falta de apetito y se diferencia mayormente en la etapa larval. Internamente se presenta infección en el hepatopáncreas con septicemia total e infección de órganos internos. En los camarones infectados los globos oculares se vuelven de una coloración marrón [23].

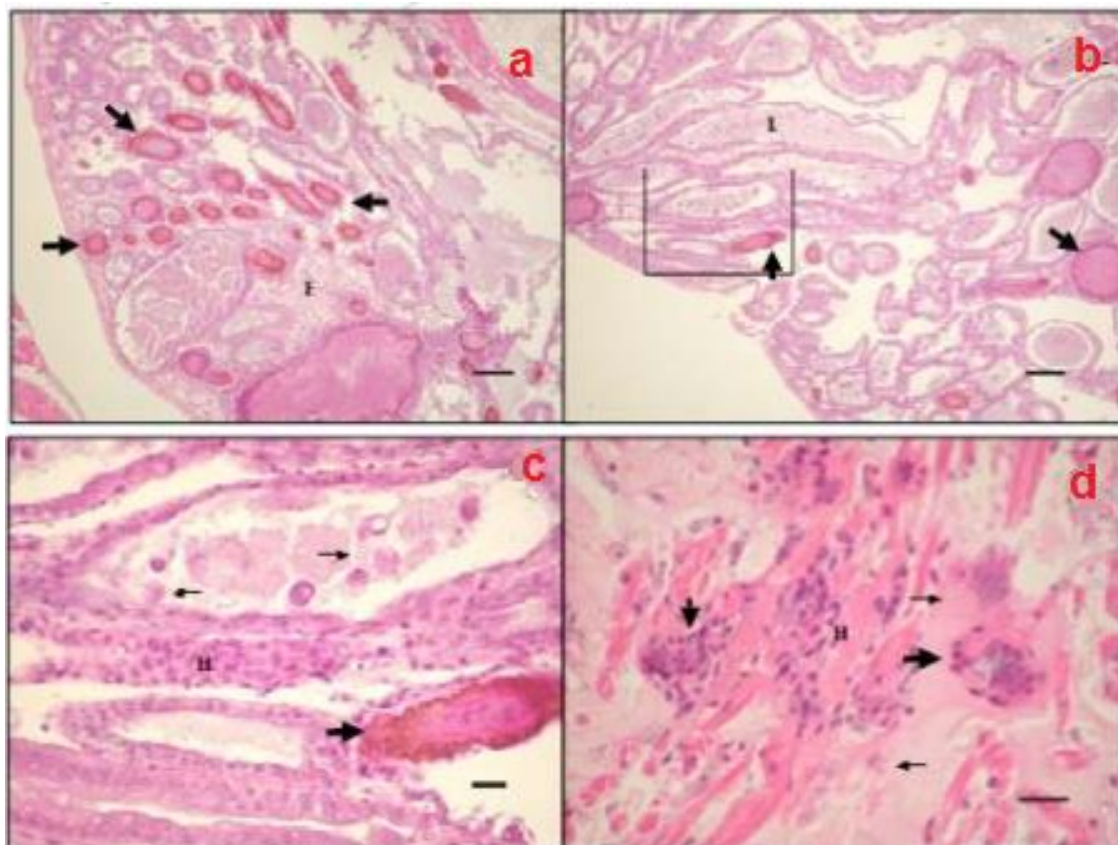


**Figura 2-10** a. Músculo necrosado opaco y lesiones subcuticulares (flechas) en abdomen. b. Camarón con apéndices rojos. [21]

#### **2.2.4 Diagnóstico Anatomopatológico**

La principal característica para diagnosticar vibriosis sistémica es registrar la formación de nódulos sépticos haemocíticos en el órgano linfoideo, corazón y tejidos conectivos de las branquias, hepatopáncreas, glándula de la antena, nervios, telson y musculo. Los hepatopancreocitos infectados pueden aparecer pobremente vacuolados, indicando bajas reservas de lípidos y glicógeno [24; 25; 26].

Al microscopio la formación de colonias se perciben como aglomeraciones basofílicas empalidecidas en las fracciones de tejido necrótico dentro de los lúmenes, libremente en el citoplasma de las células epiteliales y en las paredes de los túbulos inflamados y necróticos. En el atrofiamiento de las células se presenta reducción e incluso ausencia de vacuolas secretoras y muy pocas vacuolas de lípidos. La vibriosis presenta zonas de infección con células hemolíticas formando capsulas melanizadas.



**Figura 2-11** Microfotografía del hepatopáncreas en el camarón *P. Vannamei*. a. Hepatopáncreas con melanización y necrosis del epitelio tubular e infiltración hemocítica en tejido conectivo intertubular; tinción H&E, escala 100  $\mu$ . b. Descamación severa de células epiteliales en el lumen de los túbulos, necrosis del epitelio tubular. c. Magnificación del recuadro anterior tinción H6E, escala 20  $\mu$ . d. Músculo cardíaco con necrosis, infiltración hemocítica y formación de nódulos haemocíticos con acumulación de bacterias flecha gruesa, tinción H6E, escala 20  $\mu$ . [21]

### 2.2.5 Diagnóstico Confirmativo

El diagnóstico confirmativo se lo realiza con las larvas enfermas que muestren un cuadro clínico característico. Esta muestra debe ser macerada previa desinfección externa, se realiza el aislamiento de la bacteria causante de la infección mediante la siembra en agar TCBS.



**Figura 2-12** Cultivo en medio TCBS con colonias verdes y amarillas. [21]

<b>CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS DE VIBRIOS EN AGAR TCBS</b>		
<b>Vibrio</b>	<b>Coloración</b>	<b>Observaciones</b>
Parahaemolyticus	Azul verdoso	*Son pequeñas de tamaño regular con bordes definidos. *El color se debe a que tiene propiedades alcalinas (pH-8.2).
Alginate, Anguillarum Vulnificus	Amarilla	*Son grandes, ligeramente mucosas y brillantes. *La coloración se debe a su característica de fermentar sacarosa del Agar. *Las colonias de Alginate tienen tamaño regular y una morfología redonda.
Harveyi Splendidus	Verdes luminiscentes	*Producen luz, de ahí su luminosidad. *Las colonias de Harveyi tienen un tamaño regular definido. *Se pueden observar en un rango de 12 a 18 h. a una temperatura de 25 a 30°C.

**Tabla 2-2** Características de las colonias de vibrios en Agar TCBS.  
(Elaborado por el autor)

Los métodos para la identificación de vibrios son muy variados, podemos incluir:

<b>MÉTODOS PARA IDENTIFICACIÓN DE VIBRIOS</b>		
Tinción Gram	Motilidad(Gota gorgante)	Acido de glucosa
Gas de glucosa(Caldo con campan de Durham y aceite mineral	Oxidasa (Kit)	Sensitiv. 0/129
O-F glucosa (Método Hugh y Leifson)	Crecimiento 0% NaCl (Agua peptonada-10 g sin sal)	Hidrolisis de gelatina (Mediante discos de carbón-gelatina)
Flagelos polares	Método de Ryu	API-20 (API-NFT)
BIOLOG(Sistema miniaturizado, alternativo a API	Disco Kirby-Bauer	MIC(Concentración Inhibidora Mínima)
ColonyBlot (Usa anticuerpos monoclonales específicos. Ej. En 12h identifica presencia y % de V. Vulnificus S2 causante de síndrome de bolitas)	Biología molecular(Marcadores moleculares y sondas ADN)	AP-PCR(Amplificación de secuencias de ADN)

**Tabla 2-3** Métodos para identificación de vibrios. (Elaborado por el autor)

### 2.2.6 Tratamiento

El uso de antibióticos es el método más usado para el tratamiento de cualquier tipo de infección bacteriana porque inhiben la formación de la pared celular y detienen procesos del ciclo de vida bacteriano.



<b>MEJORES PRACTICAS CON ANTIBIOTICOS</b>	
Mejorar ambiente en los sistemas de cultivo (minuciosa gestión del agua y su sanidad, junto con un adecuado manejo reduciendo el estrés)	Realizar análisis previos para determinar la sensibilidad de la bacteria a los antibióticos, para determinar tipo y dosis optimas(Efectuar Antibiograma y MIC)
Determinar el origen de la enfermedad, si es bacteriano usar antibióticos	La aplicación del antibiótico debe ser a dosis letal, no parcial o preventiva
Los antibióticos usados deben ser de optima calidad (fabricación y almacenaje)	Se debe utilizar más de un antibiótico (uso simultaneo)
Analizar minuciosamente al animal enfermo tanto externa como internamente	Mejorar el modo de aplicación. Si es por medio del alimento usar en forma insoluble y usar comedero para su control

**Tabla 2-4** Mejores prácticas con antibióticos. (Elaborado por el autor)

Pero su uso indiscriminado ha generado la aparición de cepas multiresistentes. Se debe considerar su buen manejo para evitar resistencias no deseadas en el tratamiento de infecciones bacterianas, además de efectos colaterales como la mutación de patógenos y acumulación de residuos. El uso constante incluso como dosis preventivas y luego la dosificación para tratar la enfermedad sin un previo análisis para obtener el antibiótico y la dosis necesaria a provocado la resistencia definitiva a antibióticos como la oxitetraciclina, ciprofloxacina y norfloxacina; debido precisamente a que eran los antibióticos más usados

en los sistemas de cultivos y cuyas dosis fueron aumentando paulatinamente para obtener el mismo resultado. Estos problemas trazaron la urgencia de buscar alternativas al uso de antibióticos para el control de infecciones. Las investigaciones en métodos alternativos dio como alternativa viable el uso de vibrios nativos no patógenos como potenciales probióticos y/o simbioses los cuales actúan como agentes de biocontrol en los organismos cultivados y así es posible disminuir el uso de antibióticos y reducir las descargas de efluentes tóxicos al medio ambiente [27; 28].

Estudios recientes han comprobado que el uso de mezclas de cepas probióticas reduce la presencia de vibrios patógenos en los sistemas acuícolas [29]. Estos registros denotan la posibilidad de especificidad de interacción entre bacterias lo que permite regular la proliferación de algunas especies bacterianas.

El probiótico es un suplemento bacteriano vivo que afecta beneficiosamente al huésped animal mejorando su balance intestinal [30].

<b>CARACTERISTICAS DE LOS PROBIOTICOS</b>	
Antagonismo a los patógenos	Competencia con los patógenos por los nutrientes o los sitios de adhesión

Potencial de colonización	Estimulación del sistema inmunológico
Aumento de la resistencia a la enfermedad de su anfitrión	Contribución enzimática a la digestión

**Tabla 2-5** Características de los probióticos [31]

La colonización del tracto digestivo por parte de las bacterias ácido lácticas, podría inhibir la multiplicación de patógenos gracias a la producción de compuestos como ácidos orgánicos, bacteriocinas o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Los investigadores continúan con la búsqueda de alternativas al uso de antibióticos. Los probióticos siguen ganando mercado con su producción comercial cada vez mayor.

# **CAPÍTULO 3**

## **3 METODOLOGÍA DE ANALISIS**

### **3.1 Medio TCBS .**

El medio TCBS preparado según la fórmula desarrollada por Kobayashi, es también conocido como "Agar Selectivo para Vibrios" o técnicamente como "Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa", es precisamente un medio de cultivo selectivo y diferencial para Vibrios, mediante el cual se puede realizar su aislamiento y cultivo a partir de muestras de alimentos, heces y agua de mar. El agar es el agente solidificante. Para el desarrollo microbiano utiliza nutrientes como la peptona de carne, el extracto de levadura y la tripteína.

Para la inhibición del desarrollo de flora acompañante utiliza citrato de sodio, bilis de buey y un pH alcalino. Para contribuir a la selectividad del medio y la mantención del balance osmótico utiliza cloruro de sodio.

La detección de ácido sulfhídrico lo realiza por medio de tiosulfato de sodio en conjunto con el citrato férrico, lo realiza por la formación de un compuesto negrozco. El hidrato de carbono fermentable como lo es la sacarosa en conjunto con el azul de timol y azul de bromotimol son los indicadores de pH, proporcionando un color amarillo para medio ácido y verdeazulado para ambientes alcalinos.

### 3.1.1 Composición.

ELEMENTO	gr/l
Agar	15
Peptona de carne	5
Extracto de levadura	5
Tripteína	5
Citrato de sodio	10
Bilis de buey	8
Tiosulfato de sodio	10
Cloruro de sodio	10
Citrato férrico	10
Sacarosa	20
Azul de timol	0.04
Azul de bromotimol	0.04

**Tabla 3-1** Composición medio TCBS [32]

### 3.1.2 Preparado.

- En 1 litro de agua pura se suspende 89g del polvo, cantidad requerida de acuerdo al número de cajas que se desea elaborar.

- Se deja reposar por 5 min.
- La mezcla se lleva a ebullición y mientras se caliente se agita continuamente para su disolución completa, este procedimiento se realizó con un termoagitador hasta que hierva.
- Se deja enfriar hasta una temperatura de 45 °C. El pH debe estar alrededor de 8.6. Una vez fría, se vacía en cajas de Petri estériles (20 ml/caja-90mmx15mm)
- Se espera a que gelifique y se secan en un horno a 30°C durante 24 horas.
- El almacenamiento debe ser a una temperatura de 2-8 °C, pero la temperatura optima es a 8 °C, con temperaturas menores se corre el riesgo de condensación y posible filtración.

### **3.2 Medio Agar Marino .**

Es ideal para el aislamiento y enumeración de bacterias heterótrofas marinas. Es un medio en el que se incluyen un gran número de minerales y un alto volumen de sal para de esta forma tratar de reproducir en lo posible la composición del agua de mar. La fuente de nitrógeno esta dado por el extracto de levadura y la peptona, de igual forman proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano.

### 3.2.1 Composición.

ELEMENTO	gr/l
Cloruro de sodio	19.4
Cloruro de magnesio	8.8
Peptona bacteriológica	5
Cloruro de calcio	1.8
Sulfato de Sodio	3.24
Cloruro de Potasio	0.55
Citrato férrico	0.1
Extracto de levadura	1
Cloruro de Estroncio	0.034
Fosfato disódico	0.008
El fluoruro de sodio	0.0024
Agar Bacteriológico	15
Cloruro de sodio	19.4
Peptona bacteriológica	5
Cloruro de calcio	1.8
Bicarbonato de Sodio	0.16
Bromuro de potasio	0.08
Ácido bórico	0.022
Silicato de sodio	0.004
Nitrato de Amonio	0.0016
Cloruro de magnesio	8.8
Sulfato de Sodio	3.24
Extracto de levadura	1

**Tabla 3-2** Medio Agar Marino [32]

### 3.2.2 Preparado.

- Suspender 55,25 gramos en 1000 ml de agua destilada.
- Se debe calentar hasta el punto de ebullición para de esta forma estar seguro de la disolución completa del medio, su apariencia debe ser cremosa y cristalina. Se usó un termoagitador.

- Esterilizar en autoclave a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos. Mezclar bien y verter en placas de Petri estériles.
- El agar se debe dejar enfriar hasta aproximadamente 42 °C antes de realizar la inoculación tomando en consideración la termo sensibilidad de las bacterias marinas.
- el pH debe fluctuar los 7.6
- Se debe esperar su solidificación para luego meterlas a secar invertidas en un horno a 30°C por 1 día.

### **3.3 Procedimiento de Siembra.**

- Las muestras de agua se realizaron utilizando frascos previamente esterilizados, llenados a 2 tercios del volumen del recipiente. Si el proceso de laboratorio no iba a ser de inmediato se colocaban las muestras en hielo para su conservación. Para las en goteo de tuberías se lo realizó con la apertura de la placa en la salida de agua, permitiendo que alguna gotas lleguen a su interior, donde posteriormente fueron esparcidas.
- Se debe tomar 1 ml de muestra para colocarla en un tubo de ensayo con 9 ml de la solución salina al 2.5%, para luego volver a tomar 1 ml de la dilución primaria para ponerlo en un nuevo tubo con 9 ml.



Obteniéndose una dilución de  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  en el primero y segundo tubo respectivamente.

- Se debe tomar 0.1 ml por cada dilución para realizar la siembra en cajas Petri con el medio de cultivo Agar Marino y con agar TCBS, así tendremos en las cajas una dilución final de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  respectivamente.
- Incubar por 24 horas a  $30^{\circ}\text{C}$  y contar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), para luego volver a realizar la incubación en placas de Agar Marino para volver al conteo.
- Se debe estriar la superficie del medio de cultivo.
- La inoculación requiere un enriquecimiento previo de Agua Peptonada Alcalina durante 5 a 8 h. a una temperatura de  $35-37^{\circ}\text{C}$ , para luego subcultivarlas en TCBS.
- La incubación debe ser aeróbica, a  $35-37^{\circ}\text{C}$  durante 18-24 h.

### 3.3.1 Estimación de UFC.

- Para el cálculo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = \text{N} / \text{D V}$$

**N:** Número de colonias cuantificadas

**D:** Dilución utilizada

**V:** Volumen sembrado

- La muestra deber ser diluida previamente para que las colonias que aparezcan en la placa, lo hagan aisladamente. El grado de dilución es extremadamente importante, un exceso de dilución dará como resultado pocas colonias o en caso contrario el crecimiento será confluyente e imposible de contar. Cualquier situación de este tipo conduce a resultados erróneos. La mejor dilución es aquella que permite que se obtengan entre 30 y 300 colonias por placa. (Com. Pers. Muñoz)

Ejemplo.

$$X = (50 \mu\text{Lt} * 1 \text{ ml}) / (1\ 000 \mu\text{Lt} )$$

$$X = 0.05 \text{ ml}$$

$$\text{UFC} = 30 / (10^{-3}) (0.05 \text{ ml}) = 600\ 000 / \text{ml} \cong 60 \times 10^4 \text{ UFC} / \text{ml}$$

**Tabla 3-3** Ejemplo de dilución para muestras a sembrar. (Com. Pers. Muñoz)

### 3.3.2 Equipos

- Autoclave aluminio de 25 litros
- Cámara estéril
- Balanza de precisión 200 gr x 0.0 grs
- Incubadora
- Equipo de filtración
- Bomba de vacío
- Parrilla de calentamiento con agitación magnética

- Contador de colonias

### **3.3.3 Materiales**

- Muestras de agua
- Frascos de vidrio
- Asa de platino
- Espátula de Drygalski
- Mechero de alcohol
- Micro-pipetas
- Cajas de petri
- Tubos de ensayo
- Conos amarillos
- Conos azules
- Gasa
- Matraces
- Guantes
- Papel de empaque
- Algodón
- Alcohol potable
- Tubos de 1.5 ml
- Porta-tubos para tubos de 1.5 ml

- Porta tubos para tubos de ensayo
- Cinta adhesiva
- Filtros de 0.45  $\mu\text{m}$ .

#### **3.3.4 Reactivos**

- TSBS
- Agua de peptona
- Agar Marino
- Agua destilada estéril
- Cloruro de sodio

#### **3.3.5 Precauciones.**

- No se utilizaron muestras donde los recipientes tuvieron signos de contaminación.
- Las muestras fueron conservadas apropiadamente tomando en consideración que el producto puede alterarse.
- Para manipular el producto de análisis, se utilizó guantes y ropa protectora y se procedió en todo momento bajo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio, al consideraron las muestras como potencialmente infecciosas

- Los desechos del producto fueron descartados de acuerdo a los reglamentos vigentes y a las seguridades preestablecidas.
- Los materiales utilizados como cajas Petri, frascos de cristal, rastrillos o asas debieron estar en condiciones de asepsia total a fin de evitar contaminación.
- El área del laboratorio debió estar limpio y despejado con solo los materiales a utilizarse.

## **CAPÍTULO 4**

### **4 PRUEBAS Y RESULTADOS.**

A fin de evaluar la carga microbiana presente en distintos puntos críticos de un sistema de maduración, fueron realizados muestreos de diciembre a noviembre, los puntos críticos seleccionados fueron:

- Llegada de la playa
- Interior reservorio
- Goteo Tubería Tq # 40
- Interior Tq # 40
- Efluentes

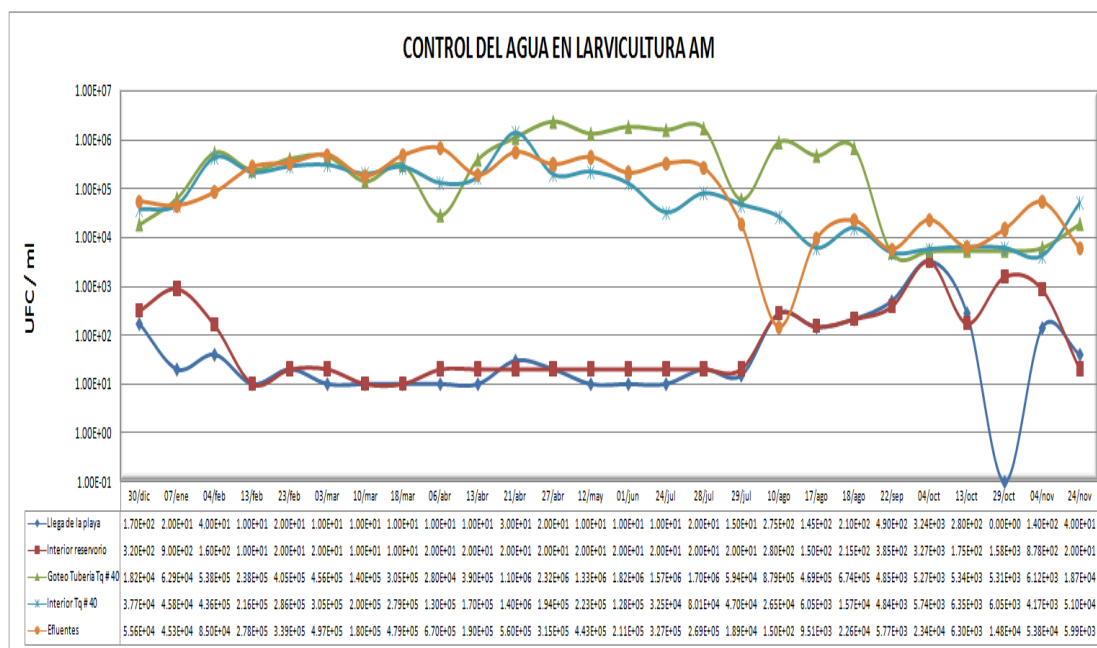
Las muestras fueron analizadas mediante siembra en caja de Petri utilizando Agar marino para la detección de bacterias totales y Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa), para la determinación de vibrios. Las medidas fueron en UFC (unidad formadora de colonia) por ml.

Los muestreos del agua fueron realizados periódicamente durante un periodo de 12 meses aproximadamente para la realización de los distintos análisis de agua en los puntos críticos designados previamente por el laboratorio.

En las observaciones realizadas en los diferentes muestreos de los distintos puntos críticos del flujo de agua dentro del laboratorio durante el monitoreo con AM dieron como resultado la detección de bacterias totales en un promedio de  $10^2$  y  $10^5$ , llegando a un valor máximo de  $10^6$ .

En los puntos de muestreo "Llegada a la playa" e "Interior del reservorio", puntos críticos bajos (PCB), se obtuvieron los valores más bajos, los cuales estuvieron en un rango de  $10^1$  y  $10^3$ . Mientras en " Goteo Tubería Tq # 40", "Interior Tq # 40" y "Efluentes" puntos críticos altos (PCA), se obtuvieron los valores más elevados en conteo bacteriano comprendidos en un rango de  $10^3$  y  $10^6$ . Estos puntos críticos mantenían en los valores obtenidos una cinética parecida tanto para PCB como para PCA, es decir seguían un mismo patrón, cuando los valores de conteo bacteriano incrementaban o disminuían en algún punto crítico, de igual forma sucedía en otro punto crítico. Ejemplo en los casos de los PCA cuando se incrementaba el valor de conteo

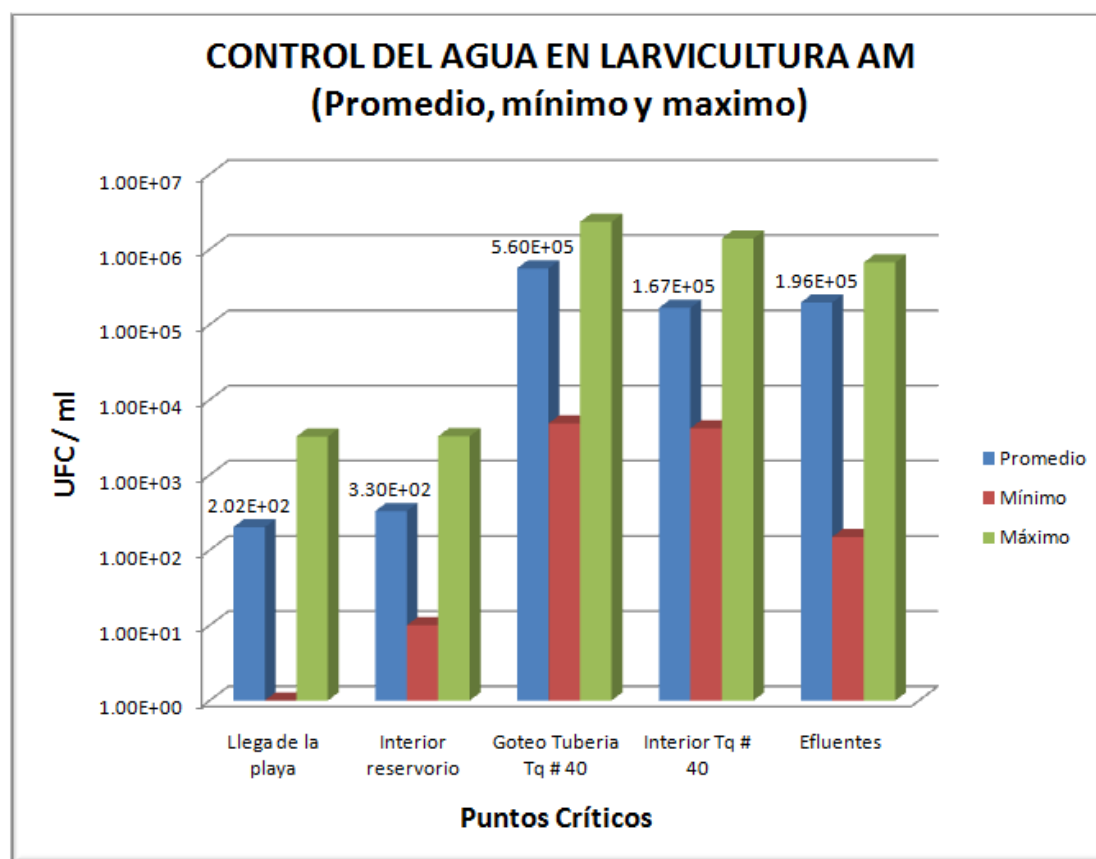
bacteriano del " Goteo Tubería Tq # 40", se incrementaban también los valores obtenidos en el "Interior Tq # 40" y Efluentes". Fig 4-1.



**Figura 4-1** Valores obtenidos en AM, durante el periodo de 12 meses de muestreo. (Elaborado por el autor)

En base a un promedio de los valores obtenidos en AM para los PCA, se pudo observar que en forma descendente los puntos críticos tenían el siguiente orden "Goteo Tubería Tq # 40" ( $5.60E+05$ ), "Efluentes" ( $1.96E+05$ ) e "Interior Tq # 40" ( $1.67E+05$ ), y. Los PCB de acuerdo a los valores promedio se ubicaron en forma descendente con el siguiente orden "Interior reservorio" ( $3.30E+02$ ) y "Llega de la playa" ( $2.02E+02$ ). Fig. 4-2.

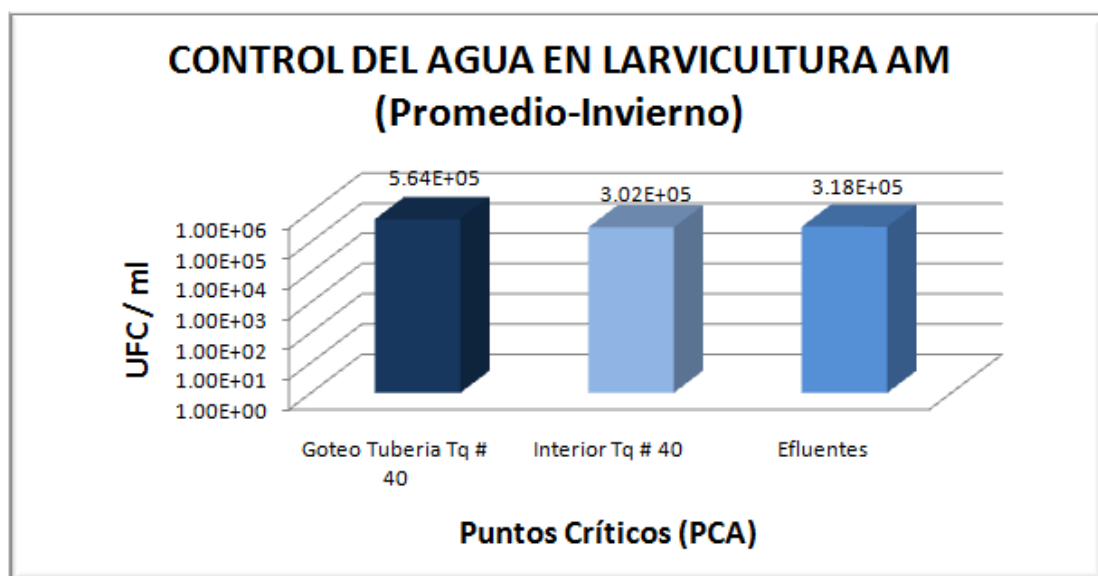




**Figura 4-2** Valores promedio, máximos y mínimos obtenidos en AM, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio. (Elaborado por el autor)

Los datos obtenidos de bacterias totales en AM durante este monitoreo muestran patrones distintos durante los 6 primeros meses del año en comparación con los obtenidos luego del octavo mes, probablemente esta variación tenga su origen en el cambio estacional. Se pudo observar que en la estación invernal (diciembre a mayo) los rangos de valores de bacterias totales en los PCA eran ligeramente más elevados conservando su cinética en la mayor parte de la estación invernal cuyos valores oscilaban en  $10^4$  y  $10^6$ . Con valores promedio de conteo bacteriano para "Goteo Tubería Tq #

40" de  $5.64E+05$ , "Interior Tq # 40"  $3.02E+05$  y "Efluentes"  $3.18E+05$ . Fig 4-3.



**Figura 4-3** Valores promedio obtenidos en AM de los PCA en invierno.  
(Elaborado por el autor)

En verano (junio a noviembre) decayeron ligeramente a un rango de  $10^3$  a  $10^5$ . Con valores promedio de conteo bacteriano para "Goteo Tubería Tq # 40" de  $5.56E+05$ , "Interior Tq # 40"  $3.18E+04$  y "Efluentes"  $7.44E+04$ . Fig. 4-4.

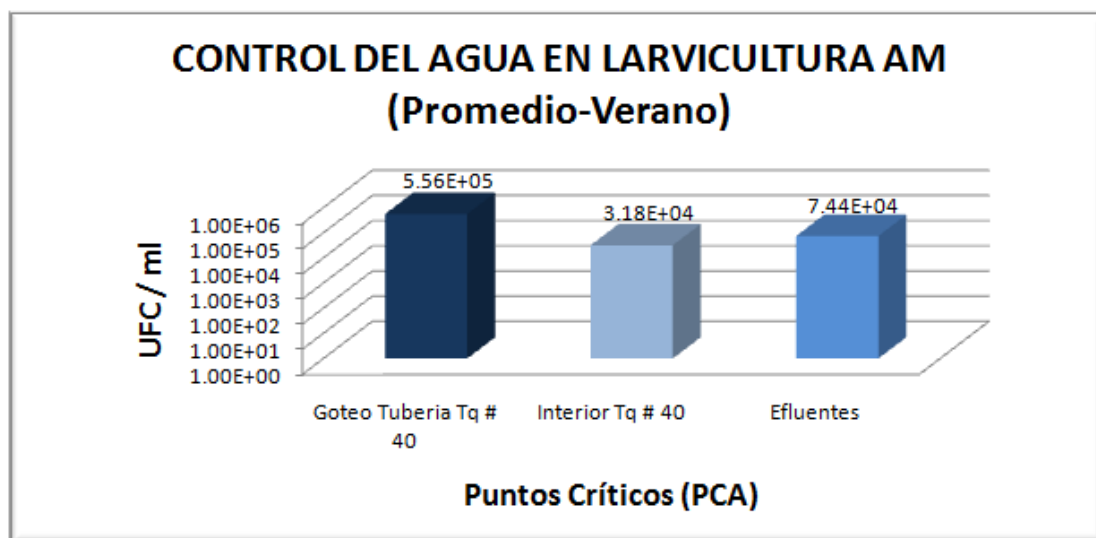


Figura 4-4 Valores promedio obtenidos en AM de los PCA en verano.  
(Elaborado por el autor)

En los PCB hubo un efecto contrario a los PCA, no obstante el cambio no fue significativo. En invierno los rangos estuvieron entre  $10^1$  y  $10^2$ , obteniéndose valores promedio en el conteo bacteriano en el punto de "Llegada a la playa" de  $2.85E+01$  e "Interior del reservorio"  $1.19E+02$ . Fig. 4-5.

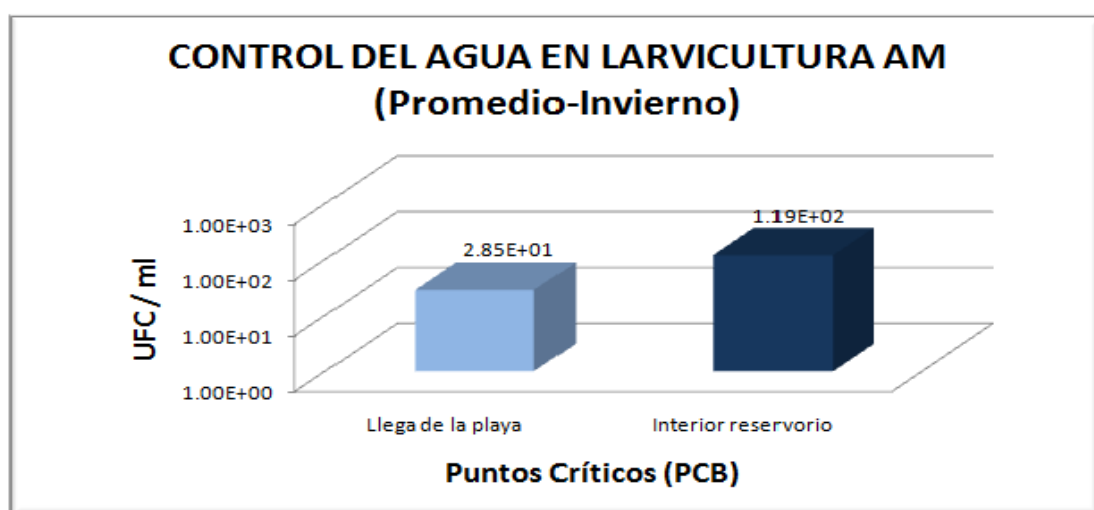
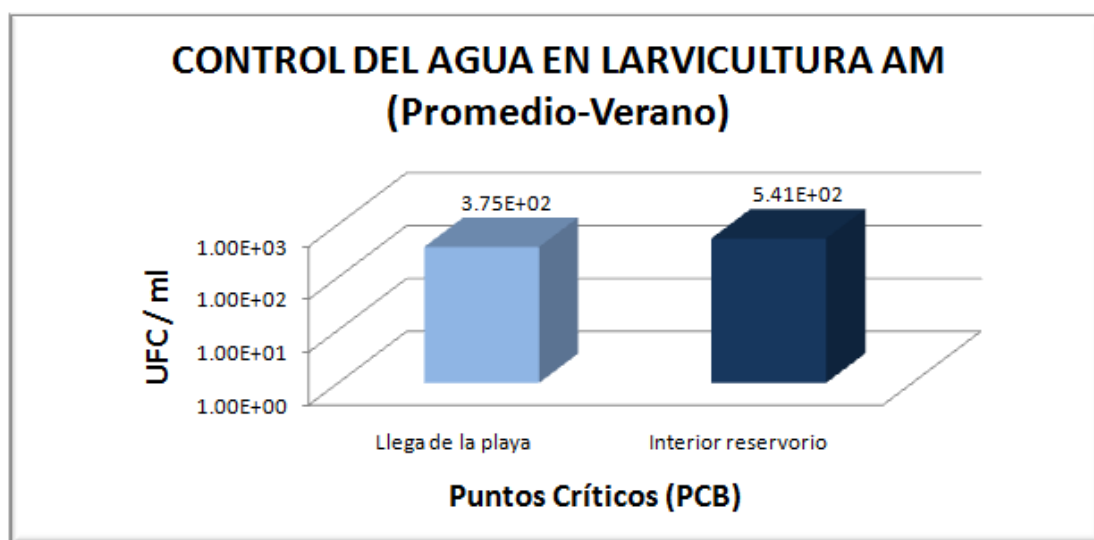


Figura 4-5 Valores promedio obtenidos en AM de los PCB en invierno.  
(Elaborado por el autor)

En verano se mantuvo la fluctuación entre  $10^1$  y  $10^2$ , pero la media fue ligeramente mayor. Con valores promedio en el conteo bacteriano en el punto de "Llegada a la playa" de  $3.75E+02$ , "Interior del reservorio"  $5.41E+02$ . Fig. 4-6.



**Figura 4-6** Valores promedio obtenidos en AM de los PCB en verano.  
(Elaborado por el autor)

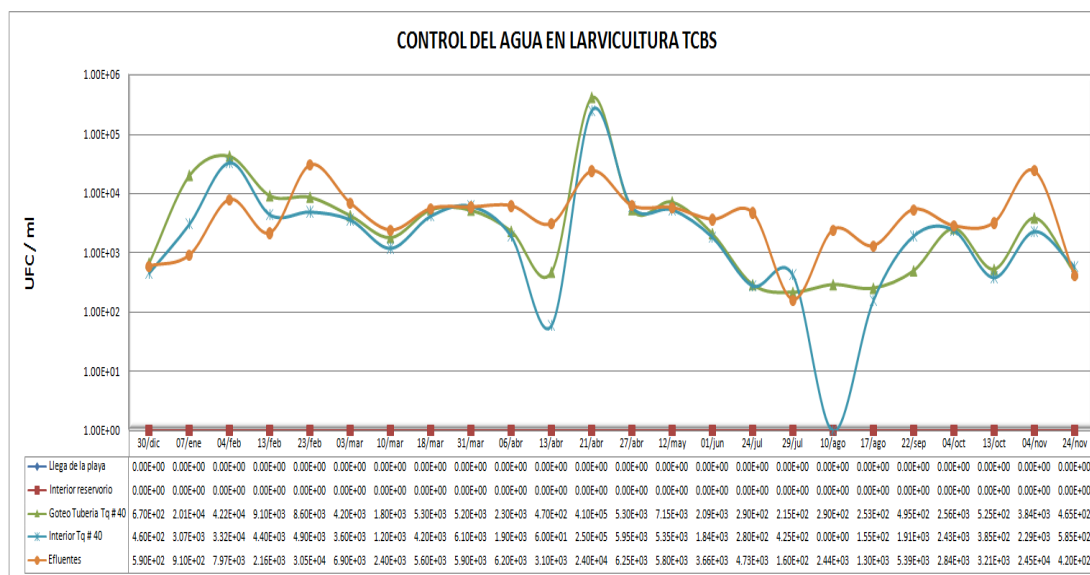
El análisis de estos resultados nos permite concluir que en promedio se puede observar en invierno los valores más altos en la presencia cuantitativa de bacterias totales.

En las observaciones efectuadas en los puntos críticos del flujo de agua dentro del laboratorio con TCBS se detectaron vibrios en un promedio de 0 y  $10^4$ , llegando a un valor máximo de  $10^5$ .

En los PCB se obtuvieron los valores más bajos para la presencia de vibrios presuntivos, obteniéndose valores de 0. Precisamente los valores promedio durante todo el año de monitoreo fueron tanto para "Llegada a la playa" como para "Interior del reservorio" de 00E+00.

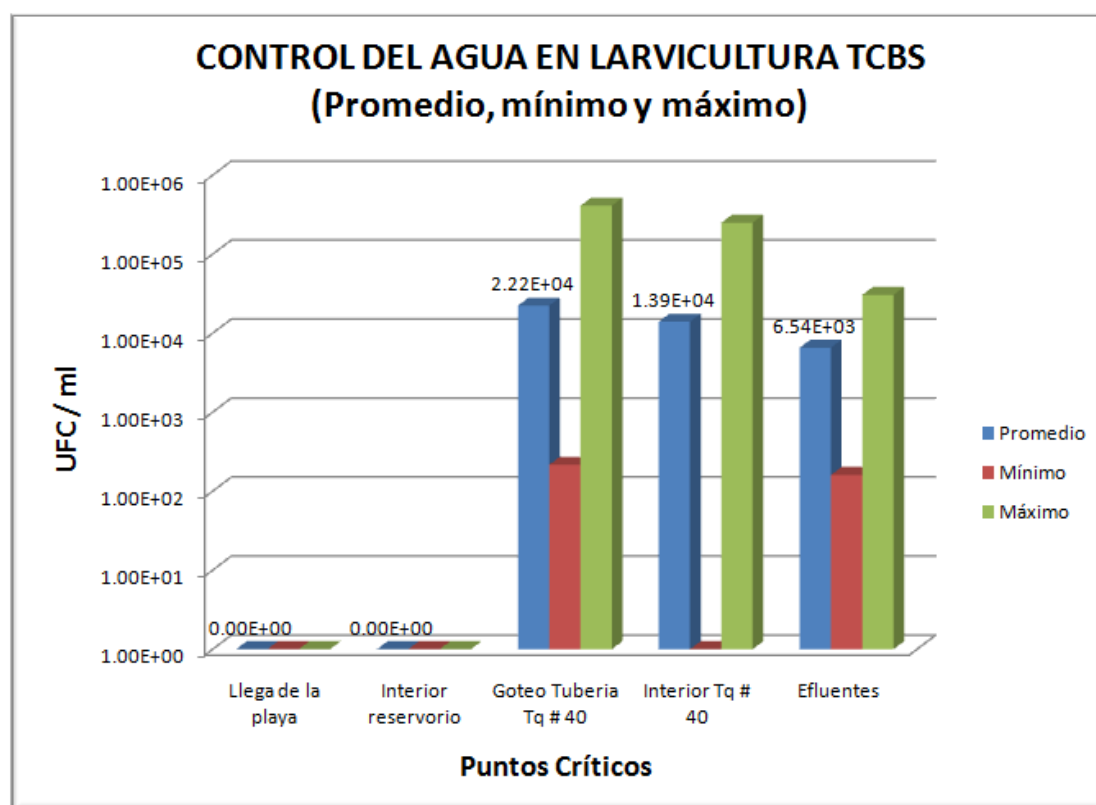
Los valores más altos de vibrios presuntivos se encontraron en un rango de  $10^2$  y  $10^5$  en los PCA.

Al igual que en los resultados obtenidos para AM, en TCBS los valores de los puntos críticos mostraban una cinética parecida tanto para PCB como para PCA. Fig. 4-7.



**Figura 4-7** Valores obtenidos en TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo. (Elaborado por el autor)

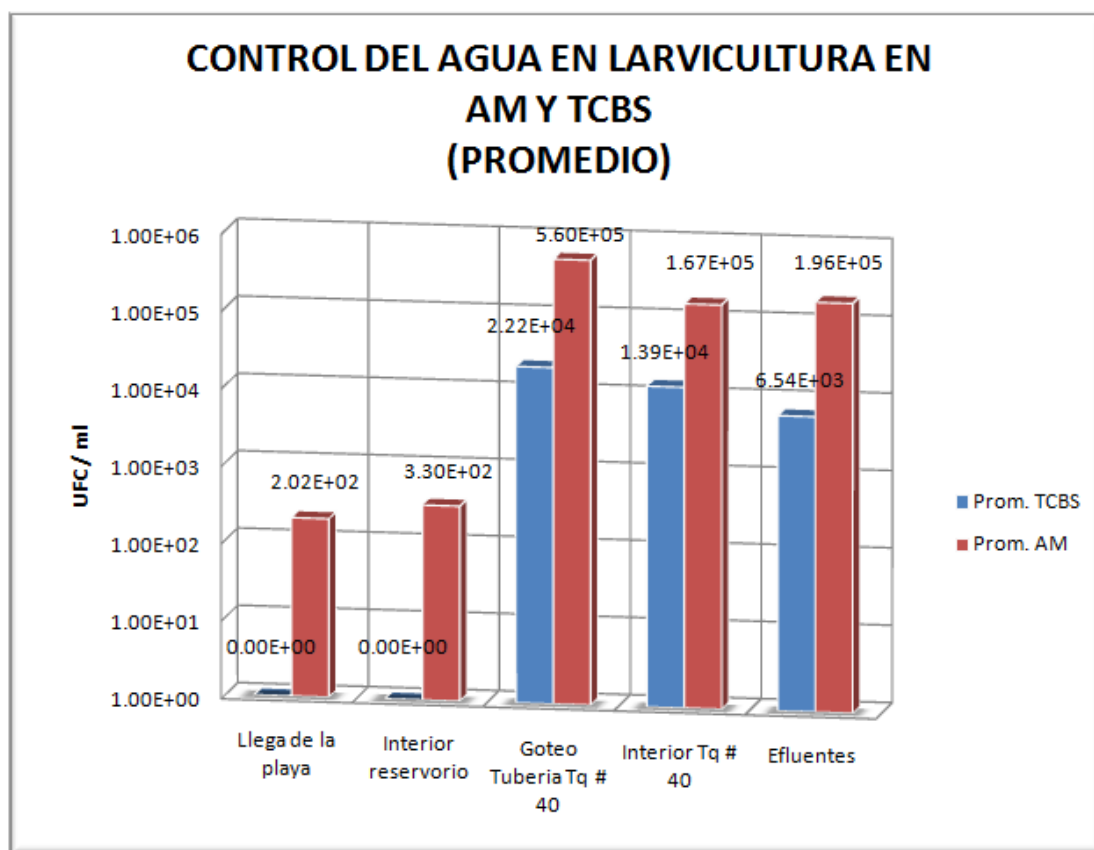
El promedio de los valores obtenidos en TCBS para los PCA dieron el siguiente orden descendente "Goteo Tubería Tq # 40" de  $2.22E+04$ , "Interior Tq # 40"  $1.39E+04$ , y "Efluentes"  $6.54E+03$ . Fig. 4-8



**Figura 4-8** Valores promedio, máximos y mínimos obtenidos en TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio. (Elaborado por el autor)

Los PCB y PCA de acuerdo a los valores obtenidos en TCBS, son los mismos puntos críticos obtenidos en AM, conservando incluso el mismo orden, tanto para bacterias totales como para vibrios. Es interesante recalcar que tanto los valores de conteo de los vibrios presuntivos para los PCA y PCB, siguen un patrón de cinética parecido al del número de bacterias totales durante los 12 meses de muestreo. Cabe indicar también, que los

valores obtenidos para vibrios estuvieron siempre por debajo de los encontrados para bacterias totales.

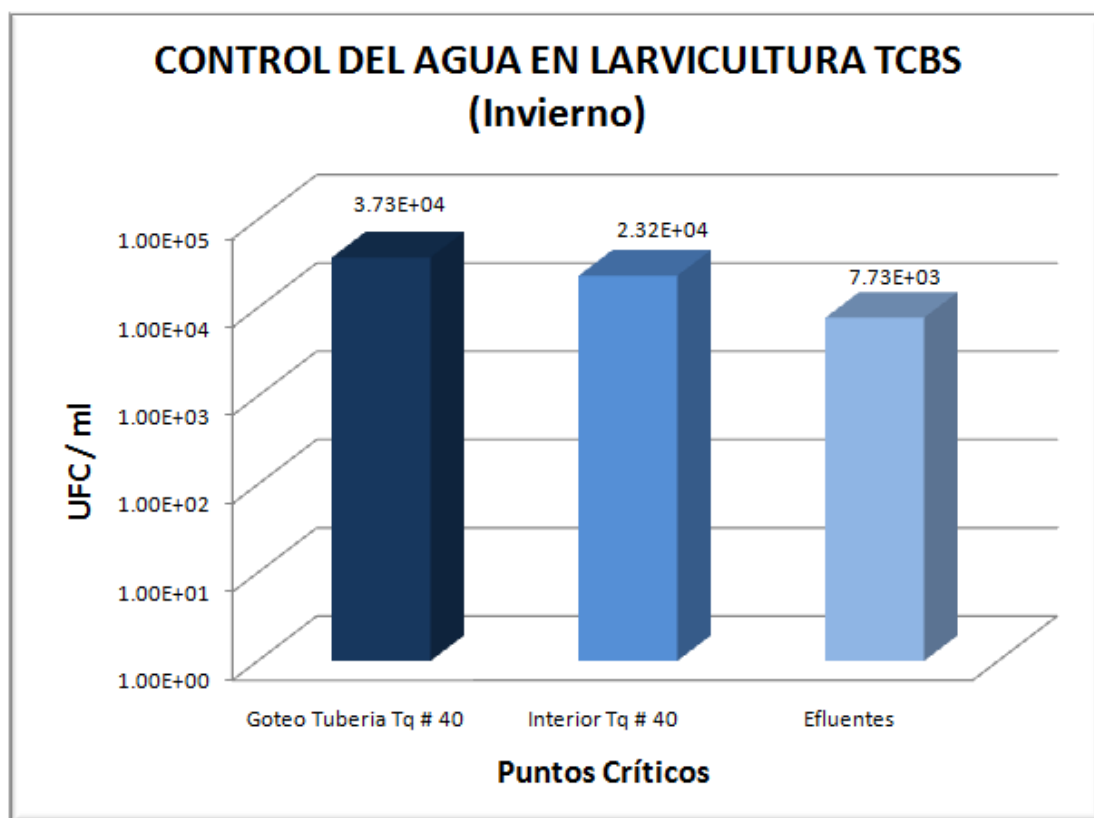


**Figura 4-9** Valores promedio obtenidos en AM y TCBS, durante el periodo de 12 meses de muestreo en los puntos críticos definidos por el laboratorio.

(Elaborado por el autor)

Los muestreos realizados durante los 12 meses en los conteos de vibrios presuntivos, demostraron también una variación estacional similar a los obtenidos en bacterias totales. Los niveles más altos fueron encontrados en invierno con rangos de  $10^2$  a  $10^5$ . Con valores promedio para los PCA,

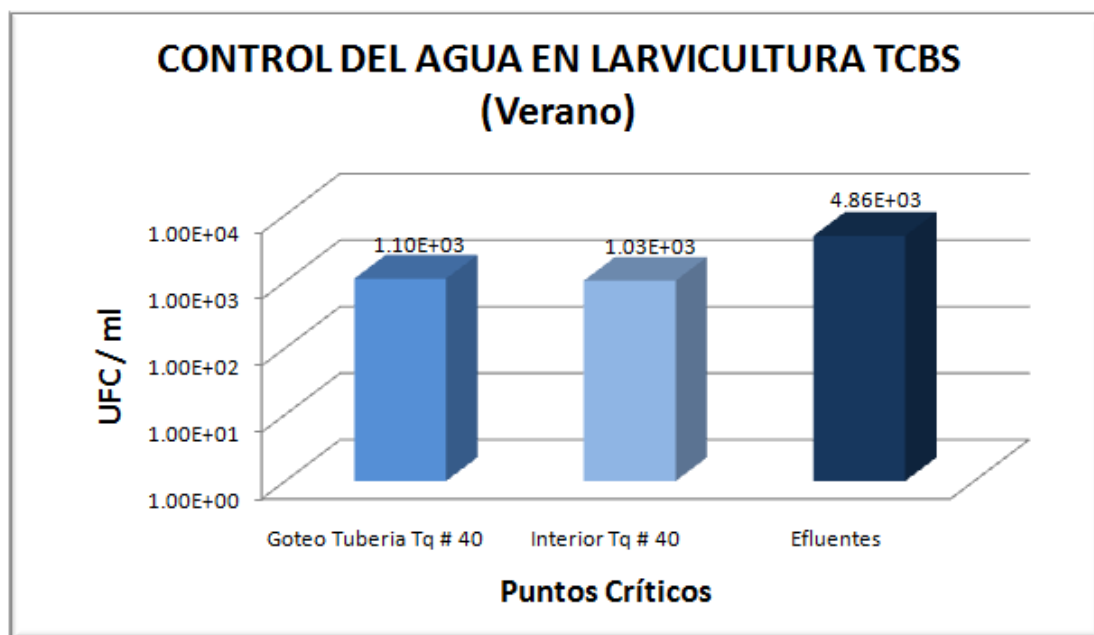
"Goteo Tubería Tq # 40"  $3.73E+04$ , "Interior Tq # 40"  $2.32E+04$ , y "Efluentes"  $7.73E+03$ . Fig. 4-10.



**Figura 4-10** Valores promedio obtenidos en TCBS de los PCA en invierno.  
(Elaborado por el autor)

En verano los niveles decaían en un rango de 0 a  $10^4$  con valores promedio para los PCA "Goteo Tubería Tq # 40"  $1.10E+03$ , "Interior Tq # 40"  $1.03E+03$  y "Efluentes"  $4.86E+03$ . Fig. 4-11.





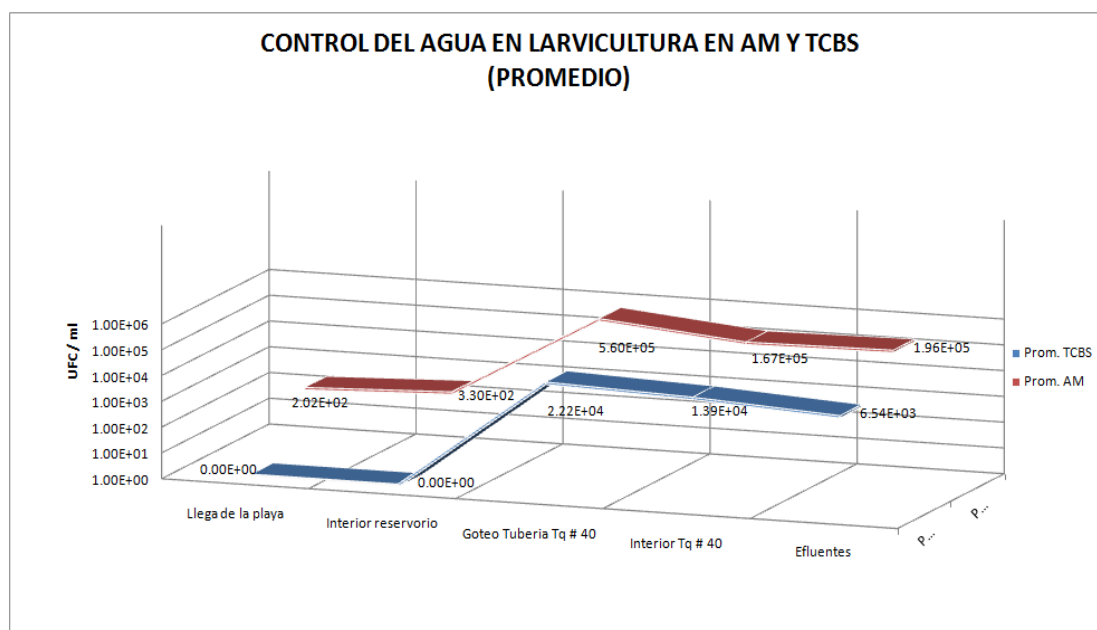
**Figura 4-11** Valores promedio obtenidos en TCBS de los PCA en verano  
(Elaborado por el autor)

Los PCB tanto en invierno como en verano se mantuvieron con valores de 0. Por tanto los promedios en "Llegada a la playa" e "Interior del reservorio" fue de 0.00E+00.

Cabe recalcar, que la presencia de *Vibrio* presuntivos durante todo el muestreo fue siempre inferior al de bacterias totales en todos los puntos críticos, hecho que es determinado por la selectividad del medio TCBS en comparación al medio AM que es de amplio espectro.

Realizando un análisis de los datos obtenidos tanto en AM como en TCBS, se puede observar que los valores obtenidos en los conteos de vibrios presuntivos como en bacterias totales, se fueron incrementando conforme se

avanza en el ingreso del agua al laboratorio. Fig. 4.12.



**Figura 4-12** Valores promedio obtenidos en AM y TCBS en el flujo de ingreso del agua al laboratorio. (Elaborado por el autor)

Estos resultados son coherentes en el sentido que el agua monitoreada en los PCB, todavía no ingresa “per se” al sistema de producción propiamente dicho, siendo los datos obtenidos de los PCB la carga bacteriana del agua que ingresa al laboratorio y la carga bacteriana que se encuentra en el reservorio.

Del mismo modo, podemos determinar un incremento en la carga bacteriana en los PCA, de tal modo que el agua que se encuentran en las tuberías, dentro del sistema de producción propiamente dicho, posee una mayor carga bacteriana. El cual posiblemente se encuentra ligado a que exista una proliferación bacteriana en el sistema de tuberías. Particular que suena lógico

debido a que cierta cantidad de agua queda represada dentro de las tuberías, lo que nos permite inferir que las condiciones dentro de las tuberías son favorables para un crecimiento bacteriano. Nuestros resultados sustentan el hecho que dentro de las buenas prácticas en los laboratorios se incluya la desinfección de las tuberías como una rutina en los sistemas de producción de larvicultura, debido a que la carga bacteriana generada en las tuberías puede tener un efecto sobre animales sensibles como son las larvas de camarón.

En el interior del tanque, se encuentra también un incremento de carga bacteriana, el cual puede estar asociado al metabolismo del animal el cual genera desechos y a las prácticas propias del manejo del laboratorio de maduración (Como por ejemplo la alimentación y otras prácticas de manejo).

En el "efluente", se encuentra una mayor carga bacteriana que en el "Interior Tq # 40" determinada en este estudio, lo cual es coherente ya que es el agua de desecho del sistema de producción, por lo que es el segundo punto crítico con mayor carga bacteriana después del "Goteo Tubería Tq # 40" dentro del sistema de producción. De acuerdo a lo indicado el promedio de carga bacteriana obtenido en el presente trabajo en el recorrido de agua al laboratorio es: "Llegada a la playa" de  $2.02E+02$ , "Interior del reservorio"

3.30E+02, "Goteo Tubería Tq # 40" 5.60E+05, "Interior Tq # 40" 1.67E+05 y  
"Efluentes" 1.96E+05. Figura 4-12.

## CONCLUSIONES

Los PCB y los PCA siguieron una cinética parecida durante todo el periodo de monitoreo del agua, tanto en AM como en TCBS.

A partir de los resultados obtenidos se puede determinar una ligera variación estacional presentada tanto en PCB como en PCA, encontrándose una mayor carga bacteriana en invierno para los PCA ( $3.95E+05$ ) en relación a la carga obtenida en verano ( $2.27E+04$ ). Para los PCB por el contrario existe un leve incremento de la carga bacteriana en verano ( $4.58E+02$ ) en relación a invierno ( $7.38E+01$ ).

Los resultados muestran un incremento de la carga bacteriana a medida que el agua de este estudio supera cada etapa del sistema de producción.

Encontrándose que los valores de los conteos en AM y TCBS de PCB son inferiores a los obtenidos en PCA. Encontrando en el punto crítico PCA, "Goteo Tubería Tq # 40", el valor promedio de carga bacteriana más alto (5.60E+05).

## RECOMENDACIONES

Se recomienda llevar un monitoreo periódico a fin de determinar valores que puedan resultar extremos en los distintos puntos críticos de los sistemas de producción y así informar de cualquier variación que pueda tener un efecto sobre el sistema de producción.

Se recomienda incluir el procedimiento de desinfección de tuberías de forma periódica e incluir dicho proceso dentro de las buenas prácticas de manejo del laboratorio como parte de la rutina de trabajo. Para evitar una posible fuente de carga bacteriana.

Se recomienda continuar con este estudio a fin de contar con una mayor posición de datos que permitan afinar y optimizar los recursos dentro de los sistemas de producción. Además se recomienda incrementar el monitoreo

bacteriológico a los factores exógenos que son parte de la rutina de producción (como por ejemplo la carga bacteriana del alimento vivo y balanceado) para ver como inciden en la carga bacteriana del agua en el sistema de producción.



## BIBLIOGRAFÍA

- [1] CENAIM. 2004. Selección de una cepa patógena para pruebas de desafío en post-larvas de *Litopenaeus vannamei*. Boletín informativo n° 103.
- [2] FAO. 2004. Documento técnico de pesca; manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco en América Latina. . Informe de Pesca No 631
- [3] Lightner, D. and Redman, P. 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods, *Aquaculture*, 164: 201-220.
- [4] Portal Oficial del Gobierno Provincial de Santa Elena  
<<http://www.santaelena.gob.ec>>
- [5] Lightner, D. V y D. H and Lewis 1975. A septicemic bacterial disease syndrome of penacid shrimp. *Marine Fisheries Review*. 37: 25-28.
- [6] Adams, A.1991. Response of penaeidshrip to exposure to *Vibrio* species. *Fish Shellfish Immunol* 1: 59-70.

- [7] Lightner, D.V., Bell, T.A., Redman, R.M., Mohny, L.L., Natividad, J.M., Rukyani, A. and Poernomo, A. 1992. A review of some major diseases of economic significance in penaeid shrimps/shrimps of the Americas and Indo-Pacific. In: M. Shariff, R. Subasinghe and J.R. Arthur (eds.) Proceedings 1st Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. pp. 57-80.
- [8] Lavilla-Pitogo, C.R., Leano, E.M. and Paner, M.G. 1996. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent bacteria, *Vibrio harveyi* in the rearing environment. SICCPPS book of abstracts, SEAFDEC, Iloilo City, Philippines. p.40.
- [9] Lavilla-Pitogo, C.R., Leano, E.M., Paner, M.G. 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp *Penaeus monodon* associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. *Aquaculture* 164:337–349.
- [10] Chen, F.R., Liu, P.C., Lee, K.K. 2000. Lethal attribute of serine protease secreted by *Vibrio alginolyticus* strains in Kurama Prawn *Penaeus japonicus*. *Zool Naturforsch* 55:94–99.
- [11] Sindermann & Lightner D.A. 1988. Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. 17: 8.
- [12] Le Bitoux J.F. 1988. Patología y terapia en las empresas de Acuicultura. *Aquanet*. vol.2 N°1. 39-44.

- [13] Jimenez R. 1992. Síndrome de Taura (Resumen). Acuicultura del Ecuador. Revista especializada de la Cámara de Productores de Camarón. Pag. 59.
- [14] Sizemore, R.K., & J.W. Davis. 1985. Source of *Vibrio* spp. found in the hemolymph of the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. Invertebr. Pathol. 46: 109-110.
- [15] Morales. 1992. Observaciones sobre el síndrome de descamación del epitelio digestivo "Bolitas" en larvas de *Penaeus vannamei* en Ecuador. memorias del 1er. Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. 2003-2007.
- [16] M. Muñoz,, F. Vandenbulcke, J. Garnier, Y. Gueguen, P. Bulet, D. Saulnier, E. Bachère. Involvement of penaeidins in defense reactions of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* to a pathogenic vibrio. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. April 2004, Volume 61, Issue 7-8, pp 961-972.
- [17] Thompson FL, Iida T, Swing J (2004). "Biodiversity of Vibrios". Microbiology and Molecular Biology Reviews 68 (3): 403–431.
- [18] Leyton Y, Riquelme C 2008. Vibrios en los sistemas marinos costeros. Revista de biología marina y oceanografía 43:441-456.
- [19] Jiménez F. SEMARNAP. 1999. Atlas de enfermedades de peneidos. México. Pag 70.
- [20] Marisol Morales, CIAD y SEMARNAP 1999. Atlas de enfermedades de peneidos. México. Pag 75.

- [21] Jayasree, L., Janakiram, P and Madhavi, R. 2006. Characterization of *Vibrio* spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of the World Aquaculture Society*, Volume 37 Issue 4 Page 523.
- [22] Lightner D. 1996. *Health management in shrimp ponds* Society, Baton Rouge , LA, USA
- [23] Bruno Gómez-Gil Ph.D., Ana Roque Ph.D. y Sonia Soto-Rodríguez Ph.D. 2011. *Avances en Acuicultura y Manejo Ambiental, Centro de Investigación en alimentación y Desarrollo. Vibriosis en camarones y su diagnóstico.* Trillas, México DF.
- [24] Anderson, I.G., Shamsudin, M.N. and Shariff, M. 1988. Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultured in Malaysian brackishwater ponds. *Asian Fis.Sci.* 2: 93-108.
- [25] Mohny, 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.
- [26] Jiravanichpaisal, P and Miyazaki, T. 1994. Histopathology, biochemistry and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *J. Aquant. An. Health* 6: 27-35.
- [27]. Characterization of *Vibrio* spp. associated with diseased shrimp from culture Ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of the World Aquaculture Society* 37(4): 523-532.

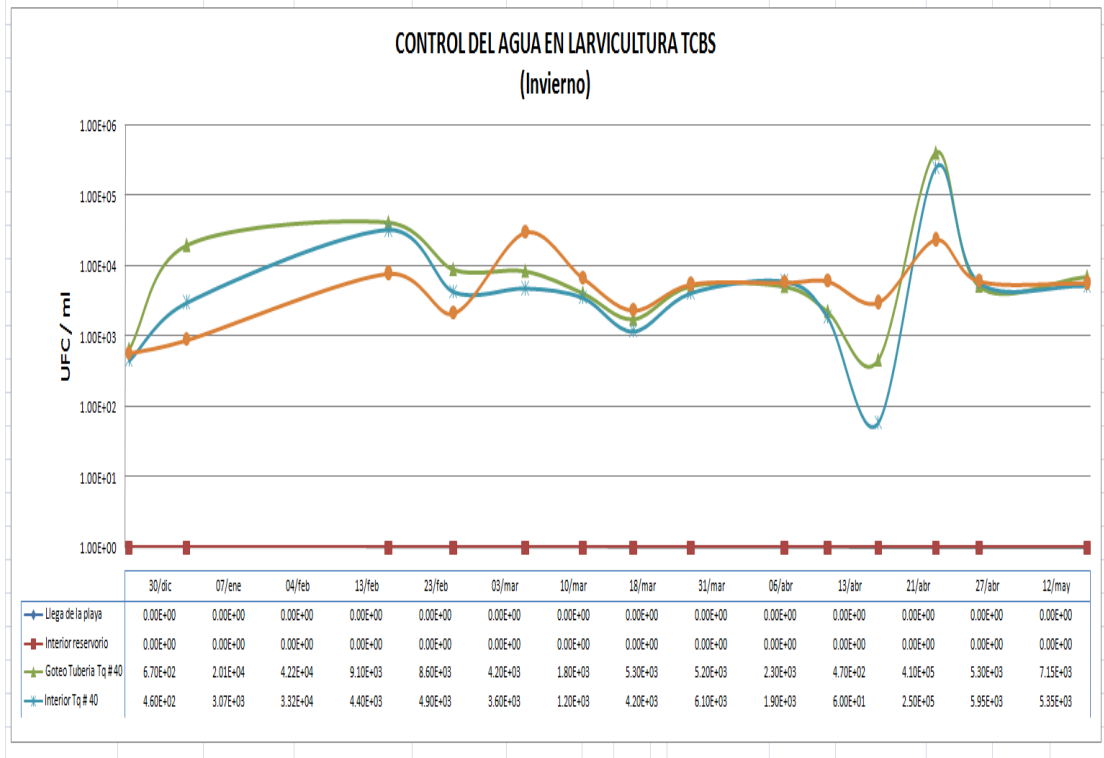
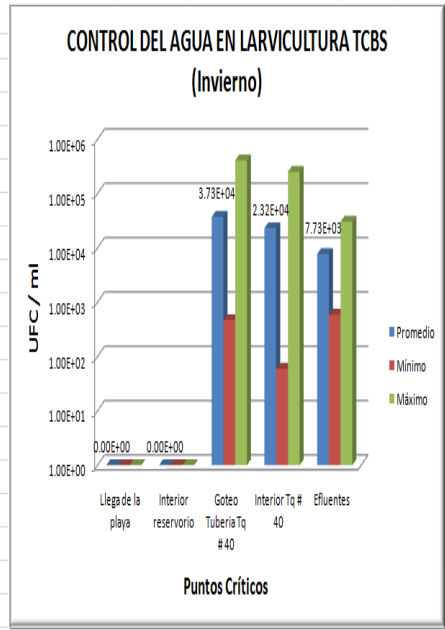
- [28] Riquelme CE, MA Jorquera, Al Rojas, RE Avendaño & N Reyes. 2001. Addition of inhibitor-producing bacteria to mass cultures of *Argopecten purpuratus* larvae (Lamarck, 1819). *Aquaculture* 192: 111-119.
- [29] Sotomayor, M.A. & J.L Balcázar. 2003. Inhibición de vibrios patógenos de camarón por mezclas de cepas probióticas. *Aquat.*19: 9-15.
- [30] Fuller R. 1989. Probiotics in man and animal. *Journal of Applied Bacteriology.*66: 365-378.
- [31] Gatesoupe, F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180: 147-165.
- [32] Cesasin. 2003. Técnicas de Bacteriología, Análisis en Fresco, Calidad de Agua y Buenas Prácticas de Manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras. Mazatlán, México Pag. 40.

## **ANEXOS**

### Control del Agua en Larvicultura Biogemar - Mar Bravo

	TCBS				
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
30/dic	0.00E+00	0.00E+00	6.70E+02	4.60E+02	5.90E+02
07/ene	0.00E+00	0.00E+00	2.01E+04	3.07E+03	9.10E+02
04/feb	0.00E+00	0.00E+00	4.22E+04	3.32E+04	7.97E+03
13/feb	0.00E+00	0.00E+00	9.10E+03	4.40E+03	2.16E+03
23/feb	0.00E+00	0.00E+00	8.60E+03	4.90E+03	3.05E+04
03/mar	0.00E+00	0.00E+00	4.20E+03	3.60E+03	6.90E+03
10/mar	0.00E+00	0.00E+00	1.80E+03	1.20E+03	2.40E+03
18/mar	0.00E+00	0.00E+00	5.30E+03	4.20E+03	5.60E+03
31/mar	0.00E+00	0.00E+00	5.20E+03	6.10E+03	5.90E+03
06/abr	0.00E+00	0.00E+00	2.30E+03	1.90E+03	6.20E+03
13/abr	0.00E+00	0.00E+00	4.70E+02	6.00E+01	3.10E+03
21/abr	0.00E+00	0.00E+00	4.10E+05	2.50E+05	2.40E+04
27/abr	0.00E+00	0.00E+00	5.30E+03	5.95E+03	6.25E+03
12/may	0.00E+00	0.00E+00	7.15E+03	5.35E+03	5.80E+03
<b>Promedio</b>	0.00E+00	0.00E+00	3.73E+04	2.32E+04	7.73E+03
<b>Mínimo</b>	0.00E+00	0.00E+00	4.70E+02	6.00E+01	5.90E+02
<b>Máximo</b>	0.00E+00	0.00E+00	4.10E+05	2.50E+05	3.05E+04

I  
N  
V  
I  
E  
R  
N  
O  
  
28°C

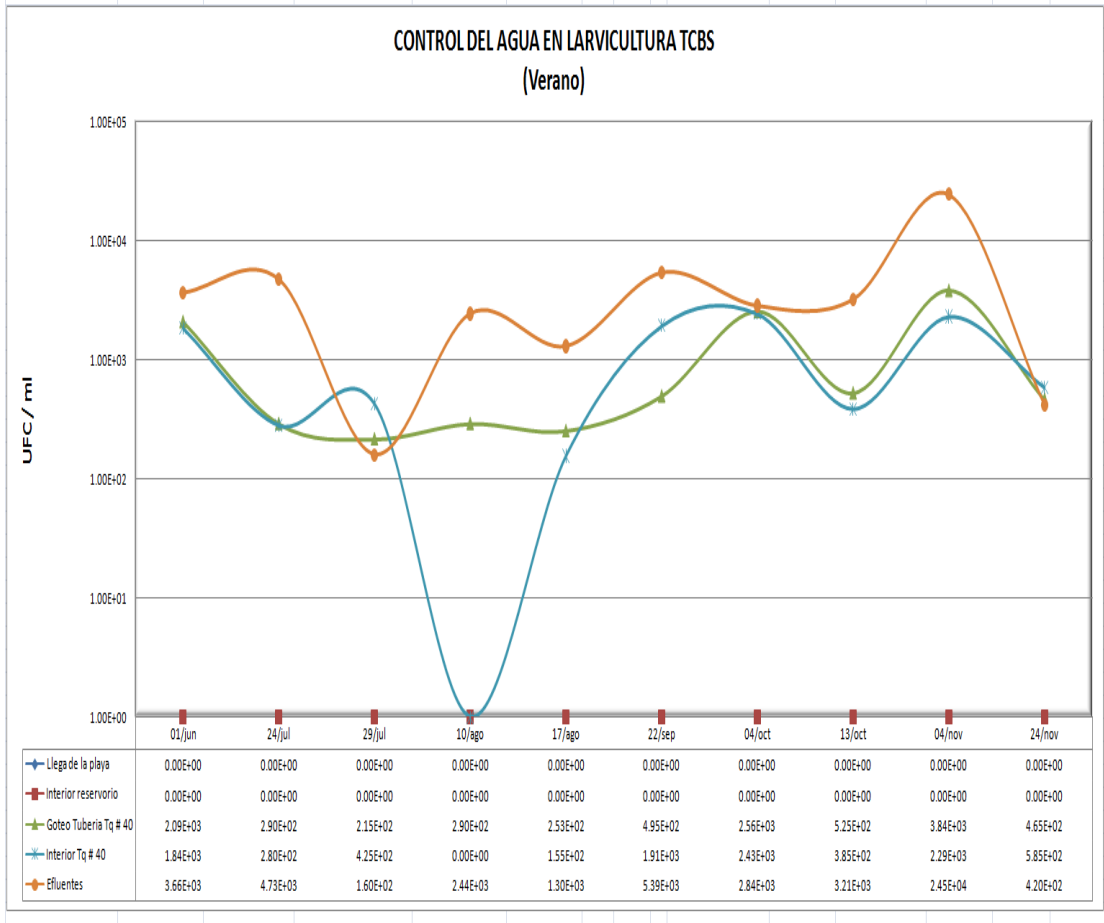


Anexo 0-1 Resultados obtenidos en Medio TCBS (invierno)

### Control del Agua Larvicultura Biogemar - Mar Bravo

	TCBS				
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
01/jun	0.00E+00	0.00E+00	2.09E+03	1.84E+03	3.66E+03
24/jul	0.00E+00	0.00E+00	2.90E+02	2.80E+02	4.73E+03
29/jul	0.00E+00	0.00E+00	2.15E+02	4.25E+02	1.60E+02
10/ago	0.00E+00	0.00E+00	2.90E+02	0.00E+00	2.44E+03
17/ago	0.00E+00	0.00E+00	2.53E+02	1.55E+02	1.30E+03
22/sep	0.00E+00	0.00E+00	4.95E+02	1.91E+03	5.39E+03
04/oct	0.00E+00	0.00E+00	2.56E+03	2.43E+03	2.84E+03
13/oct	0.00E+00	0.00E+00	5.25E+02	3.85E+02	3.21E+03
04/nov	0.00E+00	0.00E+00	3.84E+03	2.29E+03	2.45E+04
24/nov	0.00E+00	0.00E+00	4.65E+02	5.85E+02	4.20E+02
<b>Promedio</b>	0.00E+00	0.00E+00	1.10E+03	1.03E+03	4.86E+03
<b>Mínimo</b>	0.00E+00	0.00E+00	2.15E+02	0.00E+00	1.60E+02
<b>Máximo</b>	0.00E+00	0.00E+00	3.84E+03	2.43E+03	2.45E+04

VERANO  
25°C

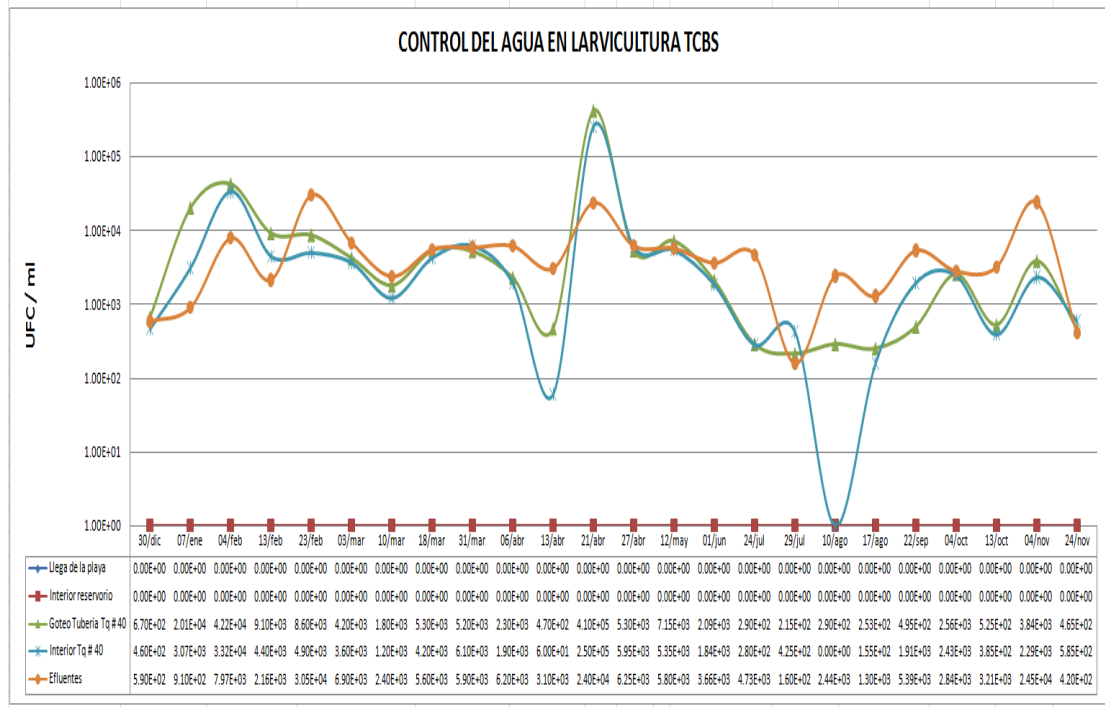
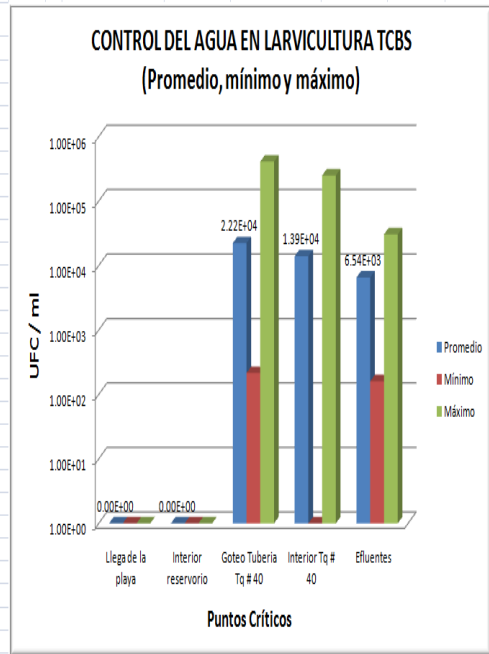


**Anexo 0-2** Resultados obtenidos en Medio TCBS (verano)



### Control del Agua en Larvicultura Biogemar - Mar Bravo

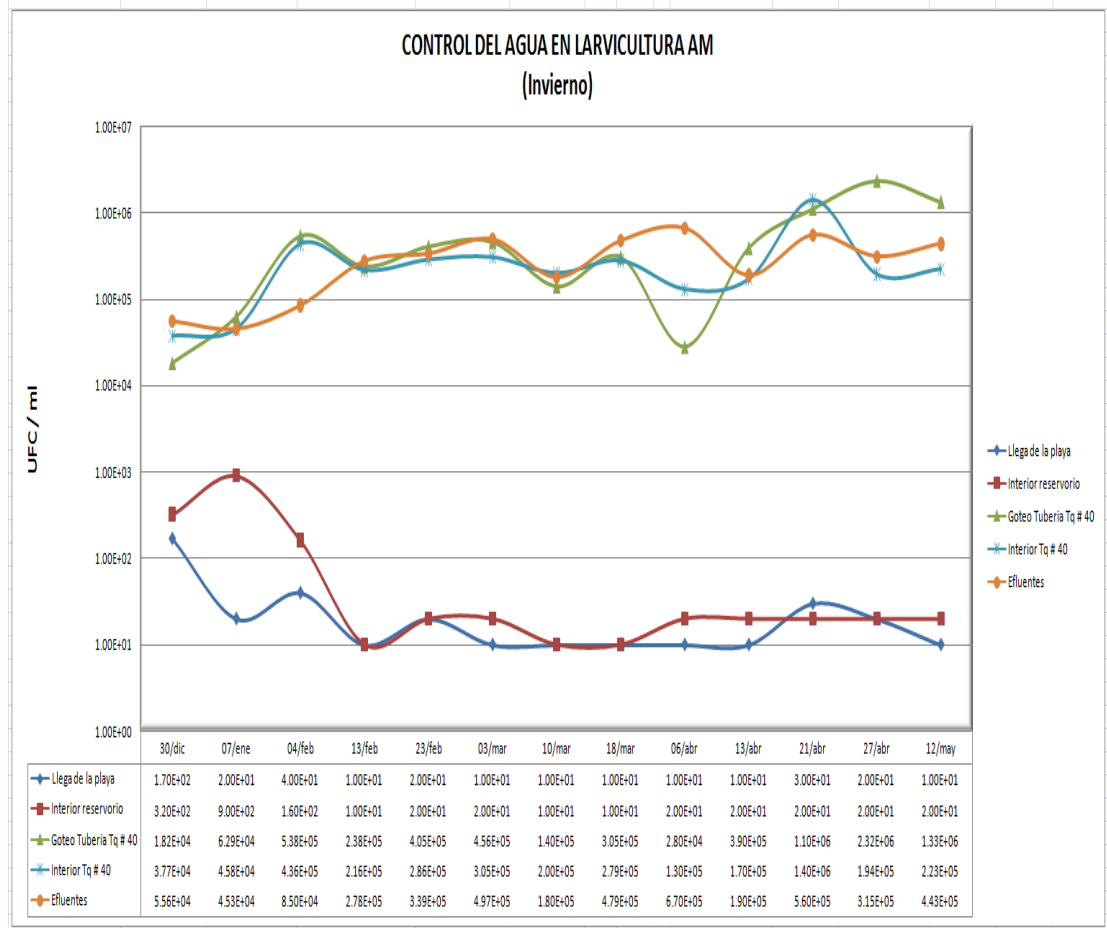
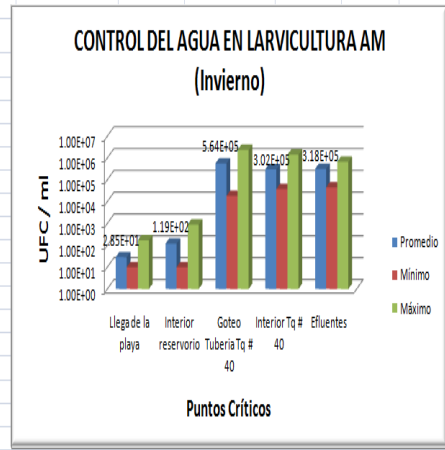
	TCBS				
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
30/dic	0.00E+00	0.00E+00	6.70E+02	4.60E+02	5.90E+02
07/ene	0.00E+00	0.00E+00	2.01E+04	3.07E+03	9.10E+02
04/feb	0.00E+00	0.00E+00	4.22E+04	3.32E+04	7.97E+03
13/feb	0.00E+00	0.00E+00	9.10E+03	4.40E+03	2.16E+03
23/feb	0.00E+00	0.00E+00	8.60E+03	4.90E+03	3.05E+04
03/mar	0.00E+00	0.00E+00	4.20E+03	3.60E+03	6.90E+03
10/mar	0.00E+00	0.00E+00	1.80E+03	1.20E+03	2.40E+03
18/mar	0.00E+00	0.00E+00	5.30E+03	4.20E+03	5.60E+03
31/mar	0.00E+00	0.00E+00	5.20E+03	6.10E+03	5.90E+03
06/abr	0.00E+00	0.00E+00	2.30E+03	1.90E+03	6.20E+03
13/abr	0.00E+00	0.00E+00	4.70E+02	6.00E+01	3.10E+03
21/abr	0.00E+00	0.00E+00	4.10E+05	2.50E+05	2.40E+04
27/abr	0.00E+00	0.00E+00	5.30E+03	5.95E+03	6.25E+03
12/may	0.00E+00	0.00E+00	7.15E+03	5.35E+03	5.80E+03
01/jun	0.00E+00	0.00E+00	2.09E+03	1.84E+03	3.66E+03
24/jul	0.00E+00	0.00E+00	2.90E+02	2.80E+02	4.73E+03
29/jul	0.00E+00	0.00E+00	2.15E+02	4.25E+02	1.60E+02
10/ago	0.00E+00	0.00E+00	2.90E+02	0.00E+00	2.44E+03
17/ago	0.00E+00	0.00E+00	2.53E+02	1.55E+02	1.30E+03
22/sep	0.00E+00	0.00E+00	4.95E+02	1.91E+03	5.39E+03
04/oct	0.00E+00	0.00E+00	2.56E+03	2.43E+03	2.84E+03
13/oct	0.00E+00	0.00E+00	5.25E+02	3.85E+02	3.21E+03
04/nov	0.00E+00	0.00E+00	3.84E+03	2.29E+03	2.45E+04
24/nov	0.00E+00	0.00E+00	4.65E+02	5.85E+02	4.20E+02
Promedio	0.00E+00	0.00E+00	2.22E+04	1.39E+04	6.54E+03
Mínimo	0.00E+00	0.00E+00	2.15E+02	0.00E+00	1.60E+02
Máximo	0.00E+00	0.00E+00	4.10E+05	2.50E+05	3.05E+04



Anexo 0-3 Resultados obtenidos en Medio TCBS (12 meses)

### Control del Agua en Larvicultura - Mar Bravo

AM					
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
30/dic	1.70E+02	3.20E+02	1.82E+04	3.77E+04	5.56E+04
07/ene	2.00E+01	9.00E+02	6.29E+04	4.58E+04	4.53E+04
04/feb	4.00E+01	1.60E+02	5.38E+05	4.36E+05	8.50E+04
13/feb	1.00E+01	1.00E+01	2.38E+05	2.16E+05	2.78E+05
23/feb	2.00E+01	2.00E+01	4.05E+05	2.86E+05	3.39E+05
03/mar	1.00E+01	2.00E+01	4.56E+05	3.05E+05	4.97E+05
10/mar	1.00E+01	1.00E+01	1.40E+05	2.00E+05	1.80E+05
18/mar	1.00E+01	1.00E+01	3.05E+05	2.79E+05	4.79E+05
06/abr	1.00E+01	2.00E+01	2.80E+04	1.30E+05	6.70E+05
13/abr	1.00E+01	2.00E+01	3.90E+05	1.70E+05	1.90E+05
21/abr	3.00E+01	2.00E+01	1.10E+06	1.40E+06	5.60E+05
27/abr	2.00E+01	2.00E+01	2.32E+06	1.94E+05	3.15E+05
12/may	1.00E+01	2.00E+01	1.33E+06	2.23E+05	4.43E+05
Promedio	2.85E+01	1.19E+02	5.64E+05	3.02E+05	3.18E+05
Mínimo	1.00E+01	1.00E+01	1.82E+04	3.77E+04	4.53E+04
Máximo	1.70E+02	9.00E+02	2.32E+06	1.40E+06	6.70E+05

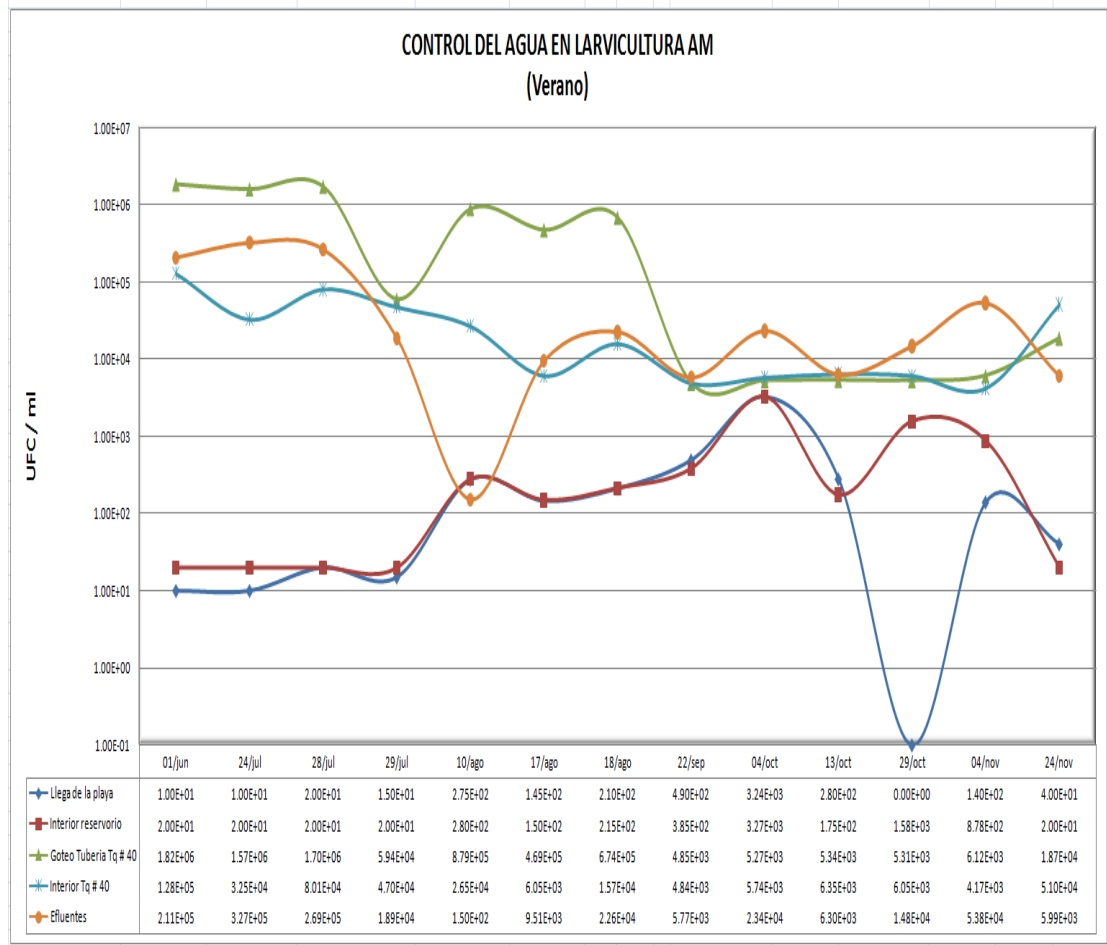
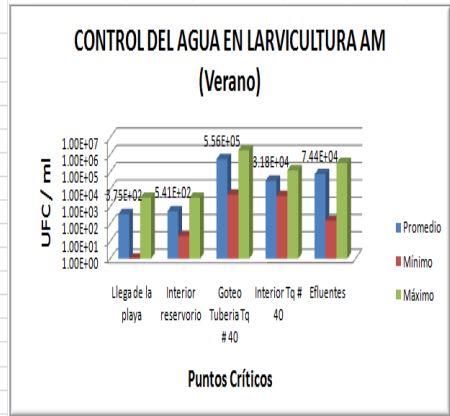


Anexo 0-4 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (invierno)

### Control del Agua en Larvicultura Biogemar - Mar Bravo

AM					
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
01/jun	1.00E+01	2.00E+01	1.82E+06	1.28E+05	2.11E+05
24/jul	1.00E+01	2.00E+01	1.57E+06	3.25E+04	3.27E+05
28/jul	2.00E+01	2.00E+01	1.70E+06	8.01E+04	2.69E+05
29/jul	1.50E+01	2.00E+01	5.94E+04	4.70E+04	1.89E+04
10/ago	2.75E+02	2.80E+02	8.79E+05	2.66E+04	1.50E+02
17/ago	1.45E+02	1.50E+02	4.69E+05	6.05E+03	9.51E+03
18/ago	2.10E+02	2.15E+02	6.74E+05	1.57E+04	2.26E+04
22/sep	4.90E+02	3.85E+02	4.85E+03	4.84E+03	5.77E+03
04/oct	3.24E+03	3.27E+03	5.27E+03	5.74E+03	2.34E+04
13/oct	2.80E+02	1.75E+02	5.34E+03	6.35E+03	6.30E+03
29/oct	0.00E+00	1.58E+03	5.31E+03	6.05E+03	1.48E+04
04/nov	1.40E+02	8.78E+02	6.12E+03	4.17E+03	5.38E+04
24/nov	4.00E+01	2.00E+01	1.87E+04	5.10E+04	5.99E+03
Promedio	3.75E+02	5.41E+02	5.56E+05	3.18E+04	7.44E+04
Mínimo	0.00E+00	2.00E+01	4.85E+03	4.17E+03	1.50E+02
Máximo	3.24E+03	3.27E+03	1.82E+06	1.28E+05	3.27E+05

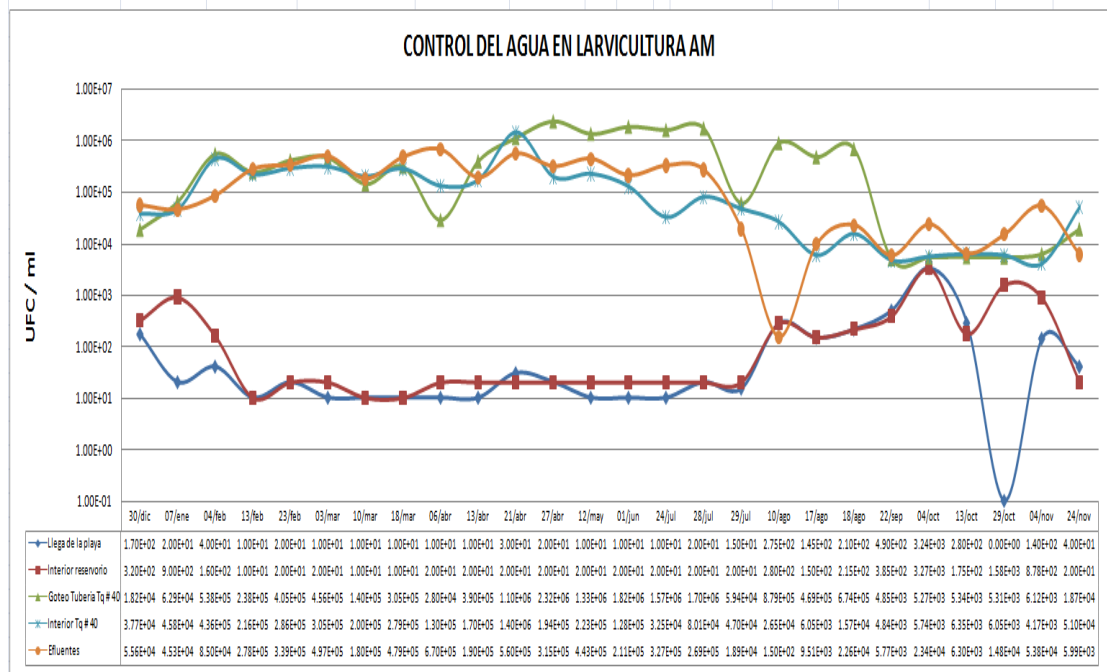
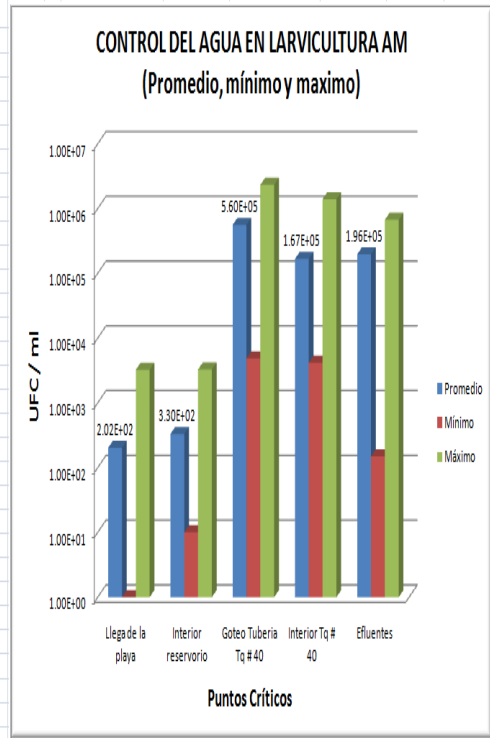
VERANO  
25°C



Anexo 0-5 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (verano)

### Control del Agua en Larvicultura Biogemar - Mar Bravo

	AM				
	Llega de la playa	Interior reservorio	Goteo Tubería Tq # 40	Interior Tq # 40	Efluentes
30/dic	1.70E+02	3.20E+02	1.82E+04	3.77E+04	5.56E+04
07/ene	2.00E+01	9.00E+02	6.29E+04	4.58E+04	4.53E+04
04/feb	4.00E+01	1.60E+02	5.38E+05	4.36E+05	8.50E+04
13/feb	1.00E+01	1.00E+01	2.38E+05	2.16E+05	2.78E+05
23/feb	2.00E+01	2.00E+01	4.05E+05	2.86E+05	3.39E+05
03/mar	1.00E+01	2.00E+01	4.56E+05	3.05E+05	4.97E+05
10/mar	1.00E+01	1.00E+01	1.40E+05	2.00E+05	1.80E+05
18/mar	1.00E+01	1.00E+01	3.05E+05	2.79E+05	4.79E+05
06/abr	1.00E+01	2.00E+01	2.80E+04	1.30E+05	6.70E+05
13/abr	1.00E+01	2.00E+01	3.90E+05	1.70E+05	1.90E+05
21/abr	3.00E+01	2.00E+01	1.10E+06	1.40E+06	5.60E+05
27/abr	2.00E+01	2.00E+01	2.32E+06	1.94E+05	3.15E+05
12/may	1.00E+01	2.00E+01	1.33E+06	2.23E+05	4.43E+05
01/jun	1.00E+01	2.00E+01	1.82E+06	1.28E+05	2.11E+05
24/jun	1.00E+01	2.00E+01	1.57E+06	3.25E+04	3.27E+05
28/jul	2.00E+01	2.00E+01	1.70E+06	8.01E+04	2.63E+05
29/jul	1.50E+01	2.00E+01	5.94E+04	4.70E+04	1.89E+04
10/ago	2.75E+02	2.80E+02	8.79E+05	2.65E+04	1.50E+02
17/ago	1.45E+02	1.50E+02	4.69E+05	6.05E+03	9.51E+03
18/ago	2.10E+02	2.15E+02	6.74E+05	1.57E+04	2.26E+04
22/sep	4.90E+02	3.85E+02	4.85E+03	4.84E+03	5.77E+03
04/oct	3.24E+03	3.27E+03	5.27E+03	5.74E+03	2.34E+04
13/oct	2.80E+02	1.75E+02	5.34E+03	6.35E+03	6.30E+03
29/oct	0.00E+00	1.58E+03	5.31E+03	6.05E+03	1.48E+04
04/nov	1.40E+02	8.78E+02	6.12E+03	4.17E+03	5.38E+04
24/nov	4.00E+01	2.00E+01	1.87E+04	5.10E+04	5.99E+03
Promedio	2.02E+02	3.30E+02	5.60E+05	1.67E+05	1.96E+05
Mínimo	0.00E+00	1.00E+01	4.85E+03	4.17E+03	1.50E+02
Máximo	3.24E+03	3.27E+03	2.32E+06	1.40E+06	6.70E+05



Anexo 0-6 Resultados obtenidos en Medio Agar Marino (12 meses)