



1
639.
DAQ.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

**“IDENTIFICACION DE PROTOZOARIOS PARASITOS EN
CAMARONES CULTIVADOS DEL GENERO *LITOPENAEUS*,
COLECTADOS EN LA PROVINCIA DEL GUAYAS – ECUADOR,
EMPLEANDO DOS TECNICAS DISTINTAS DE
HISTOPATOLOGIA”**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

ACUICULTOR

Presentada por:

LUIS ALEJANDRO DAQUI LOUREIRO

GUAYAQUIL – ECUADOR

1999



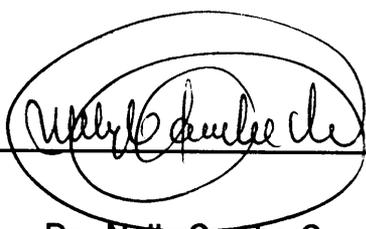
Ing. Jorge Faytong Durango

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



M.Sc. Jerry Landívar Zambrano

DIRECTOR DE TESIS



Dra Nelly Camba Campos

MIEMBRO PRINCIPAL



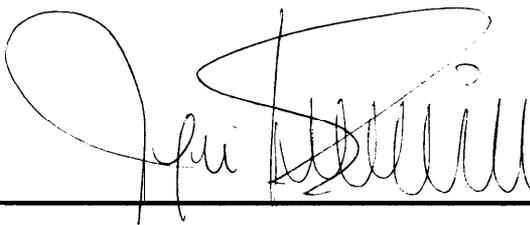
Ac. Henry Alvarez Arellano

MIEMBRO PRINCIPAL

DECLARACION EXPRESA

“La responsabilidad de los hechos, ideas y doctrinas expuestas en este trabajo, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL”

(Reglamentos' Exámenes y Títulos Profesionales de la ESPOL).



LUIS ALEJANDRO DAQUI LOUREIRO

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme conocer otras culturas y costumbres, y
compartir con ellos la riqueza de nuestro pueblo.

A mis padres, por todas las ideas, críticas y acciones que encaminaron a
terminar mis estudios universitarios, y que me incentivan a ser un ente
productivo para la sociedad ecuatoriana.

A la Maestra María del Pilar Torres, Coordinadora del Proyecto de
Histología del Laboratorio de invertebrados de la Facultad de Ciencias de la
Universidad Nacional Autónoma de México, por su colaboración técnica y
por la enseñanza de sus conocimientos personales. Así mismo la ayuda de
sus técnicos Biólogos José Luis Bortolini Rosales, Teresa Sosa Rodríguez,
Eva Muñoz Mancilla, Patricia Salinas Rosales, y los Pasantes de Biología
Marlenne Manzano **Sarabia**, Oriana Castillo e **Itzel** Baca en la enseñanza y
aplicación de las técnicas empleadas.

A los profesores de la FIMCM de la ESPOL, **M.Sc.** Jerry Landívar
Zambrano, Dra. Tamara de **Ross**, **M.Sc.** José Chang Gómez.

A todos los camaroneros que permitieron coleccionar sus ejemplares cultivados,
a mis amigos José, Fernando, Anita, María Auxiliadora y Roberto, y todos
aquellos desconocidos, por su colaboración y por su trabajo generoso.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, Creador del Universo, por permitirme aprender de su maravillosa obra, conocer más de cerca **las** relaciones de sus criaturas y compartir mis conocimientos con quienes lo requieran.

A mis padres, por su apoyo **incondicional** durante las facetas de mi formación, las actividades que me ayudaron a perfeccionar mis cualidades y mejorar mis defectos, por su cariño y comprensión y por todo el esfuerzo que han realizado para hacer de mi un hombre de bien.

A todos mis familiares y amigos, que de alguna manera puedan aprovechar los conocimientos generados en este trabajo.

A los camaroneros del Ecuador y **la** comunidad científica internacional.

RESUMEN

En los primeros meses de 1998, un grupo de epicomensales se estaban desarrollando de manera descontrolada y evitando el crecimiento de camarones litopeneidos en algunos casos o elevando las tasas de mortalidad semanal en otras facilidades. Los reportes de camaroneros también mencionaban olores a choclo, tierra, moho y podrido. Para identificar sus verdaderos agentes **etiológicos**, se colectaron camarones moribundos o enfermos de piscinas de engorde en la región del Guayas – Ecuador, en Mayo de 1998. Las especies estudiadas son *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris* cuyos ejemplares vivos fueron fijados en R&F, conservados en alcohol y procesados utilizando técnicas de squash en los tejidos y procesamiento histológico por inclusión en parafina con tinción de H&E variante de Gil. Se analizaron hepatopáncreas, **lamelas** branquiales, apéndices locomotores, en preparaciones de squash y se estudiaron el cefalotórax y los primeros, terceros y sextos segmentos abdominales, en preparaciones permanentes.

Se detectaron protozoarios epicomensales de los géneros *Zoothamnium penaei*, *Epistylis* sp. y *Acineta* sp. ciliados apostomados, además de algas rodofitas y crustáceos isópodos, produciendo respuestas inflamatorias de los tejidos sobre los cuales se habían fijado. En algunas muestras se observa destrucción de la mucosa epitelial a nivel subcuticular, en los sitios

de fijación. Las gregarinas estuvieron ausentes en todas las muestras analizadas.

El análisis canónico de correspondencia **CCA** y el análisis de cúmulos, evidenció una fuerte interacción entre los factores ambientales y el sitio, gobernados por el efecto combinado del sitio de colecta, talla y temperatura, los dos últimos generados por el fenómeno de El Niño Oscilación Sur **ENOS** en Mayo de 1998.

INDICE

DECLARACION EXPRESA	ttf
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
INDICE	vfff
INDICE DE TABLAS	xii
INDICE DE FIGURAS	xiv
INDICE DE FOTOS	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1 IMPORTANCIA DE LA INDUSTRIA CAMARONERA	3
1.1 . Importancia del camarón blanco del género <i>Litopenaeus</i> en el cultivo comercial de especies acuáticas en el Ecuador	3
1.2. Importancia económica del camarón blanco del género <i>Litopenaeus</i> a nivel internacional	6
1.3. Antecedentes	7

CAPÍTULO 2 BREVE ETIOLOGÍA Y EPIZOOTIOLOGÍA DE PROTOZOARIOS PARASITOS COMUNES, DE CAMARONES DEL GÉNERO <i>LITOPENAEUS</i>	17
2.1. MASTIGOPHORA.....	19
2.2. SARCODINA.....	19
2.3. CILIATA.....	19
2.4. SPOROZOA.....	20
2.5. COCCIDIA.....	22
CAPÍTULO 3 SUSTENTACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE TINCIÓN ESCOGIDAS	23
CAPÍTULO 4 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS.....	25
4.1. MUESTREO	25
4.1.1. Diseño experimental	25
4.1.2. Area de estudio	25
4.1.3. Muestreo de camarones	31
4.1.4. Muestreo de parámetros ambientales	31
4.2. PRESERVACIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	32
4.3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	34

4.3.1. Preparación y procesamiento de las muestras de camarones Litopeneidos	34
4.3.2. Métodos para determinar concentración de nutrientes y oxígeno disuelto en muestras de agua.....	39
4.4. TINCION DE LAS MUESTRAS	42
4.4.1. Tinción de preparaciones semipermanentes.. ..	42
4.4.2. Tinción de preparaciones permanentes	43
4.5. TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN	44
4.5.1. Microscopio de campo claro	44
4.5.2. Microscopio de contraste de fases	45
CAPÍTULO 5 RESULTADOS	46
5.1. INVENTARIO DE LOS ORGANISMOS IDENTIFICADOS.....	47
5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS EMPLEADOS	49
CAPÍTULO 6 DISCUSION	50
6.1. ANÁLISIS DE FRECUENCIAS DE LOS ORGANISMOS PARASITOS	50
6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	51
CONCLUSIONES	54

RECOMENDACIONES	56
LITERATURA CONSULTADA	58
ANEXO I METODOS DE ANALISIS PARA DETERMINAR PARAMETROS AMBIENTALES	65
ANEXO II RESULTADOS OBTENIDOS	68
ANEXO III RESULTADOS GRAFICOS	80



INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Resultado análisis de aguas: temperatura, pH, salinidad, oxígeno, nitrito, nitrato, amonio y fosfato.	68
Tabla 2.- Resultado análisis preparaciones squash de branquias.	68
Tabla 3.- Resultados observaciones preparaciones histológicas por inclusión en parafina	71
Tabla 4.- Resumen de análisis canónico de correspondencia para datos de histología permanente	72
Tabla 5.- Valores de correlación entre la presencia de organismos con variables biológicas y ambientales para datos de histología permanente . . .	72
Tabla 6.- Eigenvalues del CCA , para datos de histología permanente	73
Tabla 7.- Resultados de prueba Chi² , en CCA para datos de histología permanente.	73
Tabla 8.- Resumen de análisis canónico de correspondencia para datos de histología semipermanente.....	73

Tabla 9.- Valores de correlación entre la presencia de organismos con variables biológicas y ambientales para datos de histología semipermanente	74
Tabla 10.- Eigenvalues del CCA, para datos de histología semipermanente	74
Tabla 11.- Resultados de prueba Chi^2 , en CCA para datos de histología semipermanente	74
Tabla 12.- Resultados de análisis no paramétrico de los cuadrados de Pearson para datos de histología semipermanente	74
Tabla 13.- Resultados de análisis no paramétrico de los cuadrados de Pearson para datos de histología semipermanente	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Ubicación de las camaroneras muestreadas en el estuario interno del Golfo de Guayaquil – Ecuador – Sudamérica	29
Figura 2.- Dendrograma de correlaciones de todas las variables en observaciones de histología permanente	77
Figura 3.- Dendrograma. de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables biológicas en observaciones de histología permanente.....	77
Figura 4.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables ambientales en observaciones de histología permanente.....	78
Figura 5.- Dendrograma de correlaciones de todas las variables en observaciones de histología semipermanente	78
Figura 6.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables biológicas en observaciones de histología semipermanente	79

Figura 7.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables ambientales en observaciones de histología semipefmanente 79

INDICE DE FOTOS

- Foto 1.-** Detalles de muestras de agua colectada en cada uno de los lugares de muestreo. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998..... 80
- Foto 2.-** Toma de organismos para disección y squash; Luis Alejandro Daqui. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998.....80
- Foto 3.-** Detalle del histoquinet, para deshidratación de tejidos en histología. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998 81
- Foto 4.-** Corte de cubos con tejidos incluidos en parafina; Luis Alejandro Daqui. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998.....81
- Foto 5.-** *Acineta* sp., encontrado en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Isla Mondragón, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de luz, 312,5x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1% 82

Foto 6.- *Acineta* sp., encontrado en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Isla Mondragón, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 500x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1 % 82

Foto 7.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp., encontrados en branquias de *Utopenaeus vannamei* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de contrastes de fases, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%83

Foto 8.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp. y *Acineta* sp., encontrados en branquias de camarones *Litopenaeus stylirostris* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de contraste de fases, 500x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1% 83

Foto 9.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp. en apéndices locomotores de *Litopenaeus stylirostris* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de contraste de fases, 312,5x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%84

Foto 10.- Protozoarios ciliados apostomados encontrados en branquias de *Utopenaeus vannamei* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia



del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1% 84

Foto 11.- Protozoarios ciliados apostomados encontrados en la cutícula del quinto par de pereiópodos de tífopenaeus *stylirostris* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 125x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1% 85

Foto 12.- Protozoarios epíbios *Zoothamnium* sp. en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1% 85

Foto 13.- Ciliados del género *Zoothamnium* en los intersticios de las bases de las branquias, junto a tejido nervioso, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 200x, histología permanente, tinción H&E variante de Gil 86

Foto 14.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epistylis* y ciliados apostomados en los intersticios de las bases lamelas branquiales, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 40x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil 86

Foto 15.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epistylis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 100x, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil 87

Foto 16.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epistylis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre. Muestra colectada en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 200x, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil 87

Foto 17.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epistylis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 200x, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil88

Foto 18.- Ciliados del género *Zoothamnium* sp. en los intersticios de las lamelas branquiales. Nótese los pies de fijación, y lamelas inflamadas. Camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998.

Microscopía con sistema de luz, **200x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil88

Foto 19.- Delaminación de la cutícula interna de la cámara branquial producida por la fijación de protozoarios ciliados *Zoothamnium*. No se observa inflamación de las lamelas branquiales. *Litopenaeus vannamei* colectado en la zona del Puerto de **Balao**, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, **200x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil89

Foto 20.- Fuerte infestación de protozoarios ciliados *Zoothamnium*. Se observa inflamación con necrosis del epitelio cuticular de las lamelas branquiales. *Litopenaeus stylirostris* colectado en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, **100x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil 89

Foto 21.- Vans deferens en el punto de unión con la gónada, no se observa presencia de protozoarios microsporídeos en las bases de la gónada. Nótese el tejido gonadal envolviendo el **vans** deferens en estadio juvenil e inmaduro. *Litopenaeus stylirostris* colectado en la zona del Puerto de **Balao**, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, **100x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil90

INTRODUCCIÓN

En tiempos remotos, el hombre dependió en gran medida de lo que la naturaleza le ofrecía para satisfacer sus necesidades de alimentación, abrigo, medicamentos, etc. Al pasar el tiempo, fue modificando esta situación, se transformó en agricultor, en cazador de animales, y a criar a los mismos. Ultimamente, él ha tratado de tener dominio sobre los recursos naturales y marinos, pero siempre dependiendo en gran medida de lo que el mar les pueda ofrecer, de allí la necesidad de tener un control de los ambientes explotados (Martínez, 1993).

Acuicultura es el mantenimiento de organismos acuáticos bajo condiciones controladas o semicontroladas, por lo que incluye el mantenimiento, la producción con siembras en piscinas de granjas, corrientes, reservorios e inclusive en el océano, de peces, crustáceos y moluscos, incluyendo una amplia variedad de invertebrados adicionales, para complementar las pesquerías marinas, y el crecimiento de plantas acuáticas.

La mayoría de organismos acuáticos que han sido comúnmente cultivados, pertenecen a los phyla Mollusca, Arthropoda y Chordata. Entre las especies de peces más cultivados están el salmón, la **tilapia**, y el bagre. Entre los crustáceos, se encuentran los camarones de agua dulce y de agua salada, langostas de agua dulce y salada, las artemias y los copépodos. Finalmente en los moluscos se tienen a las ostras, mejillones, almejas y ostiones.

La acuicultura ha sido practicada por milenios, fue iniciada por los chinos hace 3.500 a 4.000 años atrás. El primer reporte escrito describiendo acuicultura y sus beneficios, fue un pequeño libro en chino escrito por **Fan Li** en el año 460 **AC**. Los japoneses reportan el inicio del cultivo intermareal de ostras hace 3.000 años. El mundo occidental también se ha desarrollado en la **acuicultura** durante el mismo período, pinturas en las tumbas de los Faraones de Egipto muestran que aparentemente tenían algún tipo de cultivo de **tilapia**. Las ostras fueron cultivadas por los romanos hace más de 2.000 años. En los Estados Unidos, la acuicultura se remonta a los inicios del siglo XIX, alcanzando niveles significativos de producción comercial solamente en la década de los 1960's (Stickney, 1994).

La acuicultura ha continuado creciendo rápidamente durante el período 1984 a 1995, con un factor de incremento anual aparente de **12,8**. La producción total de crustáceos comerciales en Latinoamérica y el Caribe, para **1995** fue de 499.000 TM con un ingreso por 1.870 millones de dólares, representando el **1,8%** y el **4,4%** de la producción mundial por volumen y valor, respectivamente. En el mismo año, la acuicultura contribuyó con el **2,3%** del volumen de producción total de Latinoamérica y el Caribe a partir de capturas y cultivos. La participación de Ecuador ese año fue del **18,3%** del total de la producción de la región, alcanzando alrededor de 91.317 TM (FAO, 1996).

CAPÍTULO 1 IMPORTANCIA DE LA INDUSTRIA CAMARONERA

1.1. IMPORTANCIA DEL CAMARÓN BLANCO DEL GÉNERO LITOPENAEUS EN EL CULTIVO COMERCIAL DE ESPECIES ACUÁTICAS EN EL ECUADOR

El Ecuador inició sus operaciones en 1968, en la localidad de Santa Rosa, provincia de El Oro, y ya para 1976 contaba con 439 Has. de piscinas camaroneras que generaban ingresos por 20,7 millones de dólares anuales. Entre 1985 y 1990 se incrementó la industria a 109.050 Has., con exportaciones de 20.000 TM. Al cerrar 1990, las exportaciones alcanzaron las 53.000 TM con ingresos por 340 millones de dólares. En 1992 se hallaban construidas 130.000 Has. de camaroneras, de las cuales 105.000 producían activamente. Para 1997, se proyectó exportar 95.000 TM, con ingresos de 556 millones de dólares, incrementándose en un 21.6% con respecto a 1996. Ecuador cuenta con 64 empacadoras de camarón, 26 fábricas de alimento **balanceado** y 305 laboratorios de producción de larvas, que suplen los recursos adicionales para mantener la industria a este nivel. (Laniado, 1997).

Para 1996, el camarón representó el segundo rubro de ingresos para el estado ecuatoriano después del petróleo, y emplea el **23%** de la

población económicamente activa de las 4 provincias de la costa ecuatoriana que son Esmeraldas, Manabí, Guayas y El Oro.

La mayor parte de las exportaciones latinoamericanas de camarón van al mercado estadounidense, solo recientemente los exportadores de camarón ecuatorianos consiguieron introducirse en el mercado europeo y asiático, exportando, para ambos destinos, casi exclusivamente productos derivados del camarón cultivado (FAO, 1996). De las exportaciones ecuatorianas, el camarón es exportado en primera instancia a Estados Unidos con el **61,2%**; Europa mantiene el **26,2%** del mercado, siendo sus principales compradores España, Francia, Italia y Holanda; y, finalmente Asia Oriental con ventas arriba de **2,4** millones de libras mensuales, destinándolo a Japón, China, Corea y Hong Kong (Laniado, 1997).

Todas las formas de camaronicultura son susceptibles a brotes de enfermedades, así como muchos patógenos son habitantes normales del ambiente acuático. En las granjas como en los ambientes acuáticos externos, la ocurrencia de enfermedades es una compleja interacción entre las especies hospedadoras, agentes de enfermedad y el ambiente y pueden ser influenciados por la susceptibilidad de los hospedadores, la virulencia de los patógenos y las condiciones ambientales adversas, así como por la intensidad de la producción del sistema de cultivo, la capacidad de carga del sistema, la calidad del agua, el **estrés** y la nutrición de los animales.

Las prácticas de cultivo pueden favorecer la ocurrencia de enfermedades, como en el caso de sistemas de cultivo **semi-intensivos** e intensivos, caracterizados por altas densidades de siembra, incremento del **estrés** de las larvas, intensidad de alimentación e inadecuados cambios de agua.

La mala calidad del agua también afecta al organismo, cuando se presentan variaciones acentuadas de oxígeno durante el día o cuando los niveles de amonio se vuelven tóxicos para el camarón. Así, cuando se presentan características de mala calidad de agua, aparecen muchos otros parásitos, y florecen las algas cianofitas - cuando la salinidad es baja-, y esto empeora el hábitat del camarón. Las variaciones de temperatura durante el día estresan los animales y hacen que éstos gasten energía en adaptación antes que en crecimiento. Como resultado se presentan brotes de enfermedades en las granjas. Los animales bien nutridos soportan mejor los ataques de parásitos, una vez que pueden activar de manera eficiente los sistemas de defensa no específicos **-ProPO system-** (Söderhäll, 1994).

También, muy frecuentemente los impactos ambientales de la misma acuicultura, como la eutrificación, pueden crear condiciones favorables para los brotes de enfermedades (Pillay, 1992).

Desde que florece la camaronicultura en el mundo, numerosas enfermedades se han hecho presentes, y han debilitado la industria

de manera representativa. En el Ecuador, a nivel de granjas de engorde en los años de 1989 a 1990, se hace presente el síndrome de la Gaviota, que disminuyó la producción de camarón en un 17% y mermando el ingreso de divisas en un 15%. En 1992, aparece el Síndrome de **Taura** que desarticuló muchas granjas, que, para ese entonces, ocupaban alrededor de 130.000 Has de producción (Laniado, 1997), significando una reducción a la producción de 30.000 TM entre 1991 y 1994 con pérdidas por más de 120 millones de dólares anuales (SEMARNAP, 1998). Para 1997 se presentan reportes de altas mortalidades de camarón causadas por bacterias luminiscentes y en menor porcentaje debido a **gregarinas**, produciendo enteritis **hemocítica** a nivel de tracto digestivo.

En los laboratorios de producción de postlarvas, también se han hecho presentes una serie de enfermedades afectando principalmente a los subestadios de zoea. Entre los más representativos se tienen a la fungosis en 1986, la vibriosis producida por *V. harveyi* y *V. splendidus* en 1993 (Jiménez, 1998), y el Síndrome de la Zoea II en 1997.

1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CAMARÓN BLANCO DEL GÉNERO LITOPENAEUS A NIVEL INTERNACIONAL

La camaronicultura, **cultivo** del camarón por cualquier sistema de producción, se ha convertido en una actividad lucrativa. La producción por camaronicultura, por unidad de área, está abajo de

1.000 Kg./Ha./ciclo de 100 a 120 días, en los sistemas de cultivo a bajas densidad o extensivo de Ecuador; mientras que en cultivos **semi-intesivos** en México, las producciones alcanzan fácilmente los 2.000 Kg./Ha./ciclo; y en cultivos de altas densidades o **intensivos** en Taiwan, los rendimientos están en el orden de 8.000 Kg./Ha./ciclo (Boyd & Clay, 1998).



En 1995 Latinoamérica y el Caribe participan con el 15,6% de la producción mundial de camarón representados por 146.000 TM de producción, siendo el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* producido en 72,0%, seguido por el camarón azul *Litopenaeus stylirostris* con 6,8% y el 21,2% restante por otras especies de **peneidos** y metapeneidos. Ecuador participa con el 62,4% de la producción regional de camarones, manteniéndose como segundo exportador mundial de camarones **peneidos** al cabo de 30 años de producción ininterrumpida (FAO, 1996).

1.3. ANTECEDENTES

El estudio de los tejidos del camarón o histología, es esencial para la determinación de los cambios morfofuncionales. Las enfermedades del camarón en los **últimos** tiempos presentan características asociadas a muchos factores físico-químicos y también a protozoarios parásitos presentes en las piscinas de cultivo. Por tal motivo se hace necesario la identificación de los causantes de **tales** patologías, y la

determinación de la influencia de los patrones ambientales **sobre** el camarón.

La información disponible acerca de los efectos de los protozoarios sobre camarones **peneidos** es escasa, sin embargo de las investigaciones realizadas con anterioridad por otros autores podemos anotar:

Jiménez (1990), reporta un incremento de poblaciones de protozoarios principalmente los ciliados *Zoothamnium*, *Acineta* y otros ciliados apostomátidos, debido al aumento de la carga de materia orgánica en el ambiente **acuático** en los últimos meses de 1989 e inicios de 1990 en el área del Golfo de Guayaquil. Así mismo, correlaciona la presencia de grandes cantidades de gregarinas, cuyos efectos dice, producen detenimiento en el crecimiento de camarones de mayor talla, mortandad de camarones de estadíos iniciales, cuando no existe disponibilidad de alimento natural de origen planctónico.

Kuris y Lafferty (1992), mencionan que los castradores parasíticos como los **barnacles** rizocefalanos e isópodos epicarídeos pueden bloquear la salida de los productos reproductivos. Además concluyen que los hospedadores masculinos son frecuentemente feminizados en comportamiento y morfología.

Dunn, Adams y Smith (1993), concluyen luego del estudio de transmisión transovárica del microsporídeo *Octosporea effiminans*

sobre *Gammarus duebeni*, que en efecto este organismo sufría una **distorsión** en la tasa de los sexos, inducida por la mortalidad de los machos o por la feminización de los hospedadores infectados y que esta tasa era mayor a la que producía naturalmente las condiciones ambientales.

Jones, Overstreet, Lotz y Frelter (1994), reportan la presencia de una nueva gregarina aseptada *Paraophioidina scolecoides* n. sp., que afectaba camarones *Litopenaeus vannamei* en un laboratorio de Texas-USA. Mencionan que las infecciones de gregarinas producen reducción, perforación e hiperplasia en el epitelio del intestino medio. Proponen cuatro tratamientos con coccidicidas como Elancoban, Bovatec, Rofenaid y Monteban en distintas dosis sin resultados para controlar la infección. Se concluye en el estudio que *P. vannamei* es un hospedador accidental para esta especie y que bajando la temperatura del medio se reducen las infestaciones de gregarinas.

Becker (1996) estudiando los epibiontes externos de 47 especies de malacostracos del Golfo de Tailandia, estimó la presencia de bacterias, diatomeas, protozoos, hongos, macrofauna y macroalgas. En su revisión menciona que la edad, el estadio de muda, el sexo, el estado fisiológico, los patrones de comportamiento del hospedador y, los factores ambientales, están relacionados con la abundancia y prevalencia de los epibiontes.

Identificó la presencia de ciliados peritrichos como *Zoothamnium*, *Epistylis*, *Vorticella* y *Cothurnia*, así como dos géneros de succionarios *Acineta* y *Ephelota*, ciertos coanoflagelados en camarones y algunos foraminíferos parásitos de cangrejos. En su discusión sugiere que los crustáceos poseen ciertos mecanismos para restringir la colonización de epibiontes **tales** como la muda, el acicalamiento, el enterramiento en los sedimentos, la defensa química, y la búsqueda de ciertas condiciones ambientales.

Cawthom (1997), en un estudio sobre el efecto de los cuticociliados *Anophthyoides haemophila* en la langosta americana *Homarus americanus*, presenta en su revisión, que Morado y Small en 1995, indican que poblaciones silvestres y en cautiverio de crustáceos están en el riesgo de enfermedades parasíticas inducidas por ciliados, una vez que las condiciones de confinamiento aumentan la concentración de la materia orgánica **particulada** y reducen la concentración de oxígeno disuelto. Además, concluye que los ciliados pueden ser **ecto** o endoparásitos de los crustáceos teniendo efectos directos o indirectos sobre sus hospedadores, y causando enfermedades clínicas o subclínicas.

Cawthom resalta que la severidad de las enfermedades en las instalaciones de confinamiento de langostas es exacerbada por el hacinamiento, nutrición inadecuada, salinidad o la temperatura del

agua, blooms de algas, materia orgánica o contaminación, según lo descrito por Reddington y Lightner en 1994.

Una de las más importantes revisiones e investigaciones sobre microorganismos epibiontes en copépodos y otros crustáceos marinos, fue realizada por **Carman** y Dobbs (1997). En esta revisión, se recogen las investigaciones y resultados de los trabajos de Wickstead 1963, Fenchel 1965, Sprague y Couch 1971, Smaldon 1974, Shelton 1974, Turner et al. 1979, Moore 1985, Camacho y Chinchilla 1989, Granados y Chinchilla 1990, Moohlenberg y **Kaas** 1990, Shields 1994, cuyos criterios se resumen a continuación.

Wickstead (1963) hipotetiza que las demandas nutricionales de los epibiontes pueden hacer que el hospedador muera de hambre, así como ingerir partículas que los copépodos (su hospedador) no coman.

Fenchel (1965), estudió 25 especies de colióforos asociados con 5 especies marinas del anfípodo *Gammarus*. Él demostró que la distribución de muchos epibiontes es sitio-específica en el hospedador y clasifica a los epibiontes en 4 grupos, según sus hábitos alimenticios: de elementos en suspensión, herbívoros, carnívoros y parásitos. Además, demostró que los ciliados peritrichos y conotrichos forman un enjambre de células con antelación a la muda de su hospedador.

Sprague y Couch (1971), en un inventario de ciliados epibiontes de decápodos, listan 24 géneros de ciliados epibiontes distribuidos en 10

familias en 4 órdenes: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia y Suctoría, sin incluir en esta lista los protozoarios que viven en la cámara branquial o en los filamentos branquiales del hospedador. Además, listaron 52 especies con sus géneros, 22 de los cuales exhibían una alta especificidad con Oecapoda.

Smaldon (1974), encontró un foraminífero *Neoconorbina* sp., en el carapacho del cangrejo de porcelana *Pisidia longicornis*, parasitándolo.

Shelton (1974) y Mohlenberg y Kaas (1990), sugirieron que aguas con bajas salinidades podrían hacer prevalecer otras microalgas que no sean diatomeas como epibiontes fotoautótrofos de crustáceos, como es el caso de las algas rodofitas. Afirman que los protozoarios epibiontes parecen ser predominantemente miembros del phylum Ciliophora, Subclases Hypostomata, Suctoria, Hymenostomata, Peritrichia y Spirotrichia (Clasificación según Corliss 1979), así como foraminíferos, rizópodos, coanoflageiados y elobioópsidos.

Tumer et al. (1979), encontraron lesiones atractivas a las bacterias en sitios donde el ciliado peritrichio *Epistylis* se fijaba al copépodo *Acartia tonsa*. La presencia de bacterias epibióticas sugiere que luego emplearán materia disuelta para su alimentación.

Moore (1985), describió foraminíferos *Cibicides lobatulus* en los isópodos *Astacilla longicornis*. Moore creía que el tamaño, en

consecuencia, la longitud del período de intermuda, eran factores críticos en la determinación de los niveles de infestación.

Camacho y Chinchilla (1989) publicaron una clave taxonómica de ciliados epibióticos en decápodos **nadantes** dulceacuícolas, listando 13 géneros distribuidos en 10 familias.

Granados y Chinchilla (1990) demostraron que 7 de esos géneros de ciliados del trabajo de Camacho y Chinchilla (1989), no estaban distribuidos al azar en el camarón dulceacuícola *Macrobrachium rosenbergii*, pero estaban posicionados de manera que maximizaban la eficiencia alimenticia exhibida por los diferentes protozoarios y repartiéndose las fuentes hechas disponibles por el hospedador.

Shields (1994) reporta 3 especies de elobiópsidos en varias especies de copépodos marinos. Las esporas flageladas de *Ellobiopsis* se asientan en las setas de los apéndices bucales del hospedador. Allí ellas se metamorfosean en trofómeros e introducen un organelo en forma de raíz a través de la **cutícula** del copépodo, presumiblemente para absorber nutrientes. La penetración causa al menos daños localizados en el exoesqueleto del hospedador y en los músculos adyacentes, en adición, la infección puede reducir la fecundidad o causar la castración parasítica, concluye.

Como se aprecia, las contribuciones del trabajo de **Carman** y **Dobbs** son altamente específicas, y **servirán** de base para las investigaciones de la presente tesis.

Bauer (1998), concluye que los cangrejos de río, *Procambarus clarkii*, han desarrollado un sistema de limpieza de branquias a través del cepillado empleando sus apéndices, y lo evaluó en función de infestaciones de ciliados peritrichos *Cothurnia variabilis*. El autor menciona que en trabajos anteriores, ha determinado que las estructuras pasivas de limpieza **tales** como epipoditos **setados**, son efectivas en camarones peneidos, langostas palinúridas, y otros crustáceos, para evitar el asentamiento de epibiontes.

Jiménez, De Bamiol y Machuca (1998), reportan altas mortalidades de camarones **peneidos** cultivados, en el Ecuador, durante **los periodos** de aguaje en 1997. Las muertes, según se determinó, eran producidas por bacterias bioluminiscentes, gregarinas y virus, cuya acción conjunta producía una enteritis **hemocítica** del epitelio intestinal. Se detectaron altas concentraciones de hasta 10.000 gregarinas por camarón, del género *Nematopsis marinus*, y se le determinó como patógena para **los** peneidos, debido a la gran motilidad, **las** altas concentraciones por organismo, la fuerte delaminación que **lleva** a cabo en el epitelio intestinal y a la facultad que posee de adherencia de bacterias en la parte terminal del protozoo. Esta característica concluyen, es la que permite una enteritis del epitelio intestinal, producida por la **infiltración** de las bacterias en el subepitelio intestinal.

Con los antecedentes anteriormente mencionados se plantean el siguiente objetivo principal:

La presente tesis por tanto pretende identificar los organismos protozoarios epicomensales asociados al camarón cultivado en piscinas de engorde, y verificar su correlación con variables ambientales presentes, empleando dos técnicas histológicas.

Y los siguientes objetivos secundarios:

1. Obtener cortes histológicos adecuados para la identificación de protozoarios parásitos de camarones del género *Litopenaeus*.
2. Identificar organismos protozoarios que hayan sido reportados o no como causantes de afecciones en los camarones del género *Litopenaeus*, o que emplean al mismo como hospedadores primarios, secundarios o terciarios.
3. Asociar la presencia de los protozoarios parásitos a variables ambientales presentes en el momento de la recolección de las muestras.
4. Mejorar el uso de métodos de análisis de **calidad** del agua empleando métodos estándar, y colorimétricos.
5. Perfeccionar al estudiante en el empleo de muestreadores y aparatos de mediciones de campo.

6. Diseñar estrategias de aprendizaje teórico-práctico en el campo de la investigación científica, con miras a una mejor participación humano-práctica, en varias ramas de la acuicultura: Calidad del agua, patología, entre otras.

CAPÍTULO 2 BREVE ETIOLOGÍA Y EPIZOOTIOLOGÍA DE PROTOZOARIOS PARASITOS COMUNES, DE CAMARONES DEL GÉNERO *LITOPENAEUS*

Los protozoarios son organismos unicelulares, los más pequeños del reino **animal**.

En el camarón, estos están presentes en los apéndices locomotores, branquias, hepatopáncreas e intestino, de **allí** ta importancia de su estudio individual (**Bortolini**, 1994).

Las epizootias debidas a protozoarios se presentan principalmente como consecuencia de una sobrepoblación de **los** mismos en los sitios de fijación. Se ha visto que, en estas condiciones, se pueden producir altas mortalidades y en cambio comportarse de manera inofensiva en estanques con baja densidad de población.

Existen tres clases de protozoarios de acuerdo a la relación que guardan con su huésped, los **ecto** o endocomensales que no producen reacciones de patogenicidad, un grupo intermedio que considera a los protozoarios capaces de producir enfermedad en un momento dado sin ser estrictamente parásitos y por último los parásitos verdaderos que viven directamente a expensas del huésped (Armijos y López, 1993).

El **phylum** Protozoa se dividen en cuatro grupos, a saber (según Roberts, 1981): Sarcomastigophora, **Coliophora**, Sporozoa y Cnidospora.

Los Sarcomastigophora son protozoarios con flagelos que pueden o no, ser ameboides. Posee dos Superclases: 1) **Mastigophora** que contiene los Phytomastigophora (con clorofila) como *Oodinium* y *Amyloodinium* y los Zoomastigophora (sin clorofila) como *Costia*, *Cryptobia*, *Tripanosoma*, *Hexamita*, Ordenes Retortamonodida, Kinetoplastida y Diplomonadida, respectivamente, y 2) **Sarcodina**, cuyos ejemplos más relevantes son las amebas.

Los Coliophora son protozoarios con apéndices semejantes a pelos, mucho más corto que los flagelos. Tiene a una clase Ciliata que posee tres subclases 1) **Holotrichia**, ciliados de cuerpo uniforme y simple, 2) **Peritrichia**, con cilios orales complejos y conspicuos, y 3) **Suctoria**, cuyos adultos sin cilios pero con **túbulos** nutricios delgados.

Los Sporozoa, habitualmente producen esporas simples resistentes. No poseen cilios o flagelos y excepcionalmente se encuentran gametos machos. Posee cuatro clases: 1) **Telosporea**, con reproducción sexual, y cuyas esporas contienen esporozoitos. Aquí se incluye la Subclase **Coccidia**, a la cual pertenecen las gregarinas. 2) **Piroplasmea**, que son parásitos no pigmentados que se encuentran sobre todo en los eritrocitos. 3) **Toxoplasmoda**, contenidos como zoitos en quistes o pseudoquistes, y 4) **Haplosporidea**, cuyas esporas son características.

Los Cnidospora, que desarrollan esporas con uno o más filamentos polares. Poseen dos Clases: 1) Myxosporidea, cuyas esporas contienen esporoplasma y dos capsulas polares conteniendo cada una un filamento

polar enrollado, y 2) Microsporidea, cuyas esporas contienen esporoplasma y un filamento polar enrollado. Aquí se incluyen *Agmasoma penaei* y *Thelohania duorara*

A continuación se pueden apreciar descripciones anatómicas y patologías producidas por los diversos grupos de protozoarios.

2.1. MASTIGOPHORA

Los representantes de esta Superclase no tiene afecciones reportadas para camarones.

2.2. SARCODINA

No se conocen afecciones en camarones producidas por protozoarios de esta Superclase.

2.3. CUATA

Los camarones afectados por ciliados, muestran señales de nerviosismo y una tendencia a agruparse en las orillas de las piscinas. Animales fuertemente infestados presentan un aspecto veloso, de color blanquecino-grisáceo, o amarillento-marrón al nivel de la superficie de las branquias, apéndices, y a menudo, caparazón y ojos. Los camarones son letárgicos y muestran evidencia de asfixia. A veces se aprecia una decoloración de la musculatura abdominal.

Un ejemplo de ciliados peritricos es la *Vorticella*, cuyo cuerpo tiene la forma de campana invertida con un tallo individual, contráctil y no

ramificado y posee un **mionema**; este ciliado es solitario (no forma colonias) y la falta de un tallo ramificado facilita la diferenciación de *Carchesium*, *Epistylis*, *Opercularia* y *Zoothamnium*.

Otro ejemplo de ciliado peritrico es *Epistylis*, cuyo cuerpo tiene la forma de campana invertida, con un tallo ramificado de manera dicótoma, no contráctil, y que carece de **mionema**; el organismo forma colonias grandes pero los tallos no pueden contraerse en forma individual; se observa un collar extra alrededor del borde de la campana, que separa el peristoma del cuerpo propiamente dicho, no hay lórica (lo que permite diferenciarlo de *Cothurnia*).

El más conocido de los ciliados peritricos es *Zoothamnium penaei*, cuyo cuerpo tiene la forma de una campana invertida, los **mionemas** de todos los tallos son continuos, lo que permite a toda la colonia contraerse simultáneamente, permitiendo así su diferenciación de *Carchesium*; las colonias generalmente son bastante grandes.

Como representante de los ciliados suctorios está *Acineta* cuyo cuerpo se encuentra cubierto por una lórica delgada, con dos grupos de tentáculos en la superficie superior y un tallo grueso y corto con **escópula** (Carrera Internacional, 1998).

2.4. SPOROZOA

Los camarones infectados tienden a ser débiles y muy susceptibles a factores ambientales y estresantes como el manejo. El abdomen y la

cola presentan una coloración opaca o blanco tiza, caracterizada por áreas o máculas blanquecinas, y tejido muscular blando y de aspecto algodonoso o lechoso. A veces se observa una pigmentación azul-negrucza en casos de infección con *Ameson nelsoni* o *Pleistophora* sp., así como la presencia de zonas blanquecinas en el cefalotórax, gónadas, vasos sanguíneos y tracto digestivo en casos de infección por *Agmasoma penaei* y *Thelohania duorara*.

Adicionalmente, *Agmasoma penaei* produce castración parasitaria del animal infectado. La incidencia de la infección en camarones cultivados puede llegar al 15% de la población.

Agmasoma penaei se observa a nivel de vasos sanguíneos, con 8 esporas piriformes por panesporoblasto, esporas pequeñas midiendo 2,4 a 4,7 μm x 2,0 a 3,5 μm y las esporas grandes o megaesporas midiendo 5,5 μm x 8,2 μm . *Amenson nelsoni*, tiene esporas individuales a nivel de los músculos que miden alrededor de 2,5 μm x 1,5 μm . *Pleistophora* sp., a nivel de la musculatura, corazón y pared del intestino, deja de 16 a 40 esporas por esporonte. *Thelohania duorara*, a nivel de musculatura, intestino medio y cecum posterior, deja 8 esporas piriformes de 4,7 μm a 6,8 μm por esporonte que mide 8,5 μm a 13,6 μm de diámetro (Carrera Internacional, 1998).

2.5. COCCIDIA

Como representantes de este **grupo** están las gregarinas, que si bien no hay datos concretos sobre las manifestaciones clínicas que pudieran presentar **los** camarones infectados, hay fuertes sospechas de que algunos de estos parásitos pueden estar asociados con estados de debilidad, disminución de **alimentación**, pobre crecimiento y mortalidad limitada. El género *Nematopsis*, por ejemplo, es considerado como potencialmente patógeno para los camarones **peneidos** en condiciones de cultivo. Cuando se presenta como gametocitos hay como **combatirlos**, pero como **trofozoitos** ya es difícil su **control**.

Paraophioidina scolecoides n. sp es otra especie de gregarinas aseptada que se ha reportado como potencialmente patógena para camarones *Litopenaeus vannamei*.



CAPÍTULO 3 SUSTENTACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE TINCIÓN ESCOGIDAS

Los protozoos deben estudiarse hasta donde sea posible en vivo. Pero cuando no es posible estos estudios en fresco, se pueden realizar macerados de tejidos, una vez fijados, para analizar las estructuras de los protozoos, empleando frotis o preparaciones squash de los tejidos donde están presentes (Kudo, 1976).

La coloración es necesaria para resaltar ciertas estructuras de los protozoarios o de los tejidos para que contrasten con los circundantes.

Para la tinción de preparaciones squash, se emplean colorantes vitales específicos para protozoos como el azul de metileno alcohólico al 1% y rojo neutro, ya que estos resaltan las estructuras internas de los parásitos unicelulares, por medio de principios físicos y químicos. El principio físico explica que la tinción se produce por adsorción, propiedad de los cuerpos sólidos de atraer hacia ellos partículas minúsculas del material líquido que les rodea siendo compuestas o iones, mientras que el principio químico atribuye la coloración a un proceso de unión entre las moléculas del colorante con los elementos constituyentes del tejido. En ambos casos, se determina que la penetración del colorante al tejido se realiza por ósmosis (Gaviño, 1990).

Si se emplean colorantes cuya base es acuosa, los colorantes no penetrarían tan rápida o adecuadamente, debido a los potenciales **iónicos** equilibrados.

En el caso de cortes incluidos en parafina, es necesario primero eliminar el medio incluido a través de baños sucesivos de **xilol** e hidratar, durante 5 minutos en cada uno de ellos. Luego se puede pensar en la tinción con hematoxilina variante de Gil-eosina.

Esta técnica nos da un panorama general y es la base de muchas comparaciones de tejidos, así mismo nos da la pauta para determinar que estructuras queremos resaltar posteriormente. En ella **los** núcleos se tiñen de morado mientras que el **citoplasma** tiñe de naranja a rojo, debido a las características ácidas y básicas respectivamente.

Las otras técnicas de tinción con **hematoxilinas** alúmbricas son muy agresivas, y tiñen demasiado a los protozoarios, amén de que el tiempo para virar la coloración es muy corto y no da tiempo a errores. Las coloraciones con hematoxilina variante de Gil, son “suaves” para observar, para virar el colorante y por estas características, le dan un margen más amplio para imprevistos en el momento de la tinción.

CAPÍTULO 4 DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS

4.1. MUESTREO

4.1.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el efecto se muestrearán cuatro camaroneras lo más lejos posible entre ellas, maximizando las diferencias entre ecosistemas, dentro de los límites de la provincia del Guayas. En cada camaronera se muestrearán las piscinas y mediante una observación de infestación de agallas, se determinará la piscina más afectada, y en ella se procederá a la colección de muestras de camarón y de agua. Así mismo se muestreará la zona silvestre próxima a la camaronera, para determinar la variabilidad de los organismos con el medio circundante.

Para este tipo de trabajos no se pueden aplicar la **aleatoriedad** en la elección de las piscinas pues no se está determinando la presencia o el grado de virulencia de la misma, sino se intenta determinar cuales son los organismos protozoarios parásitos presentes en el camarón blanco.

4.1.2. AREA DE ESTUDIO

El área de estudio está comprendida dentro del Golfo de Guayaquil, circunscrito a la Provincia del Guayas – Ecuador.

CAPÍTULO 4 DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS

4.1. MUESTREO

4.1.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el efecto se muestreafán cuatro camaroneras lo más lejos posible entre ellas, maximizando las diferencias entre ecosistemas, dentro de los límites de la provincia del Guayas. En cada camaronera se muestrearán las piscinas y mediante una observación de infestación de agallas, se determinará la piscina más afectada, y en ella se procederá a la colección de muestras de camarón y de agua. Así mismo se muestreará la zona silvestre próxima a la camaronera, para **determinar** la variabilidad de los organismos con et medio circundante.

Para este tipo de trabajos no se pueden aplicar la aleatoriedad en la elección de las piscinas pues no se está determinando la presencia o el grado de virulencia de la misma, sino se intenta determinar cuales son los organismos protozoarios parásitos presentes en el camarón blanco.

4.12. AREA DE ESTUDIO

El área de estudio está comprendida dentro del Golfo de Guayaquil, circunscrito a la Provincia del Guayas – Ecuador.

Esta área se encuentra enmarcada dentro de la Región Sur y Centro de la Costa Ecuatoriana, según la división propuesta por Guevara 1992. La ubicación geográfica de esta región comprende las provincias del Guayas, Los Ríos, Manabí, parte de El Oro y el sur de la provincia de Esmeraldas. El clima predominante de toda esta región, presenta una temperatura en general de 17 °C hasta 24 °C, precipitaciones desde 250 hasta 3.000 mm, y evapotranspiración potencial de 1.296 a 1.886 mm. La vegetación predominante de estas zonas es el mangle, en especial en las islas y en el Estero Salado.

El Golfo de Guayaquil es el mayor estuario de la costa pacífica de América del Sur, y está compuesto de dos cuerpos, un estuario interno y un estuario externo. El estuario interno tiene dos cuerpos distintos en características: El primero por el este, la desembocadura del Río Guayas, cuyas aguas arrastran grandes cantidades de sedimentos provenientes de la cuenca alta de los ríos **Daule** y Babahoyo. Por el oeste, está compuesto por el Estero Salado, cuya influencia marina está muy marcada una vez que no se mezcla con el agua del Río Guayas y percibe las descargas de aguas servidas de la ciudad de Guayaquil.

Las islas del estuario tienen un origen en la depositación de los sedimentos que arrastraba el Río Guayas en tiempos

anteriores y que se fueron depositando en el gran delta. Luego la vegetación, **manglar** en su gran mayoría, se asentó en las islas formadas, y permitió una mayor compactación de los mismos.

El Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador **INOCAR**, monitorea periódicamente el Estero Salado, ya que por él **circulan** todos los barcos que **accesan** al Puerto de Guayaquil, y en sus estudios menciona que el **clima** de la zona, según **Holdridge**, está clasificado como Tropical Húmedo, con temperaturas medias del aire de **25,2 °C** y un acumulado anual de precipitación de 955 mm, resultado de la interacción del océano y la atmósfera y en particular de corrientes oceánicas y la posición de la zona de convergencia intertropical **ZCIT**.

Los parámetros meteorológicos en la Estación Guayaquil del **INOCAR**, para el mes de mayo de 1998, presentan temperaturas del aire de **27.9 °C**, **lluvias** por 307.6 mm, humedad relativa de **82%**, vientos en dirección SW de **2.2 m/s** de velocidad, nubosidad de **7/8**, tensión de vapor de 31.3 mb y heliófanía de 102.7 horas.

El estuario externo del Golfo tiene una incidencia más bien marina, y sus condiciones son más estables y cercanas a la de la corriente de Humboldt que pasa frente a las costas ecuatorianas.

Durante la fecha de los muestreos, se sentía fuertemente las influencias del fenómeno climático de El Niño Oscilación Sur **ENOS**, que altera considerablemente los patrones climáticos de toda la costa oriental del Pacífico Sur. En la Tabla 1 del Anexo Resultados Obtenidos del presente trabajo, se presentan los valores de las variables medioambientales, recolectados durante las visitas.

Las camaroneras muestreadas (Fig. 1), se detallan a continuación, incluyendo una breve sinopsis de su climatología en particular.

4.1.2.1. CAMARONERA A

Muestreada el 5 de mayo de 1998, está situada en el margen izquierdo del Estero Salado, Provincia del Guayas, en el área de Sabana Grande, comuna Caballo Muerto. Tiene una superficie de espejo de agua cultivable de 70 Has., con producción extensiva. La salinidad varía todo el año, con promedios de 27 ppt, y **lluvias** de 500 mm anuales. Su agua tiene en gran mayoría cianofitas, y ectorofitas.

4.1.2.2. CAMARONERA B

Muestreada el 7 de mayo de 1998, está situada en el margen derecho del Golfo de Guayaquil, Provincia del

Guayas, en el área de **Balao**. Tiene una superficie de espejo de agua cultivable de 215 Has., con producción extensiva. La salinidad varía todo el año, con promedios de 30 ppt, y lluvias de 1000 mm anuales. Su agua tiene en gran mayoría sedimentos en suspensión por el movimiento de barcos de cabotaje en el puerto cercano.

4. í.2.3. CAMARONERA C

Muestreada el 19 de mayo de 1998, está situada en el margen derecho de la Isla Mondragón, Golfo de Guayaquil, Provincia del Guayas. Tiene una superficie de espejo de agua cultivable de 370 Has., con producción extensiva. La salinidad varía todo el año, con promedios de 27 ppt, y lluvias de 900 mm anuales. Su agua tiene en gran mayoría cianofitas, sedimentos en suspensión y vibrios en altas cantidades en el agua.

4.1.2.4. CAMARONERA D

Muestreada el 28 de mayo de 1998, está situada en el margen izquierdo del Estero Salado, Provincia del Guayas, en el área de Puerto Hondo. Tiene una superficie de espejo de agua cultivable de 180 Has., con producción extensiva. La salinidad varía todo el

año, con promedios de 15 ppt, y **lluvias** de 900 mm anuales. Su agua tiene en gran mayoría cianofitas, **clorofitas** y vibrios.

4.1.3. MUESTREO DE CAMARONES

Para capturar los camarones se empleó una **atarraya** de 2 metros de diámetro y $\frac{1}{4}$ " de ojo de malla, recorriendo parte de la piscina, en las compuertas de entrada y de salida. Los camarones a considerarse fueron los moribundos o enfermos positivos tomando en consideración un rápido examen de branquias en 3 a 5 ejemplares para verificar que piscina de cada camaronera es la más afectada.

De cada piscina muestreada, se tomaron aproximadamente 40 organismos vivos, los cuales fueron fijados, colocados en envases **plásticos** con fijador para su procesamiento histológico posterior. Así mismo, se colectaron organismos del medio **silvestre**, esteros y canal reservorio a la altura de la estación de bombeo.

4.1.4. MUESTREO DE PARÁMETROS AMBIENTALES

Para los parámetros ambientales, se obtuvieron de cada piscina y del medio silvestre, dos muestras de agua de cada uno para determinar los nutrientes y el oxígeno disuelto. Para los nutrientes se utilizó un frasco de 1 litro, determinándose

nitrito, nitrato, amonio y fosfato, y para el oxígeno disuelto se empleó una botella de DBO, oscura, de 350 ml para oxígeno disuelto, para verificar la exactitud de las lecturas del oxímetro. En un recipiente se colocó una muestra para la medición de pH.

Todas las muestras de agua se recolectaron con una botella Van Dorn de dos litros. Para la muestra de oxígeno, a la salida de la botella Van Dom, se le agregó una manguera plástica larga, de tal manera que al colocar la muestra en la botella respectiva no forme burbujas, ni realice movimientos bruscos que incorporasen gases al agua.

Para verificar en el campo los valores de oxígeno disuelto, se midió *in situ* su concentración empleando un oxímetro digital YSI, modelo 55, con compensación de temperatura.

El pH es medido con un pHmetro WTW, modelo 131, calibrado con soluciones búffer estándares.

4.2. **PRESERVACIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS**

Para la fijación de camarones se empleó el reactivo **R&F** descrito por Hasson y colaboradores en 1997, que sugiere mezclar los reactivos en cualquier orden y medir el pH del fijador que debe estar entre 6,0 y 7,0. Para preparar el fijador se requiere:

1 00 % formalina

349 ml

95% etanol	407 ml
Agua destilada	222 ml
Hidróxido de amonio	22 ml

Se inyecta fijador al cuerpo del organismo, empleando una jeringa, e insertándola al final del cefalotórax, entre este y la primera pleura del primer segmento abdominal, entre el segundo y tercer segmento abdominal, y al final del sexto segmento abdominal, lateralmente. Se deja al organismo inmerso en el fijador durante 15 días, para asegurar que el fijador penetre bien en todos los tejidos del crustáceo. Los organismos son conservados en etanol 70% hasta su posterior procesamiento. Se recomienda hacer tres cambios de etanol 70% cada veinticuatro horas.

Las muestras de nutrientes fueron mantenidas a una temperatura de 4°C por un máximo de doce horas para su conservación.

Las muestras de oxígeno fueron fijadas con sulfato manganoso (1 ml) y solución álcali de yodo (1 ml), luego floculadas con ácido sulfúrico concentrado (1 ml). De esta manera se garantizó que lleguen intactas al laboratorio.

4.3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

4.3.1. PREPARACIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE CAMARONES LITOPENEIDOS

Para el procesamiento de las muestras de camarón se emplearon dos técnicas histológicas: preparaciones histológicas semipermanentes, y las preparaciones histológicas permanentes por inclusión en parafina.

4.3.1.1. TÉCNICA PARA PREPARACIONES HISTOLÓGICAS SEMIPERMANENTES

Para la presente técnica, se emplearon 105 ejemplares de camarón, a los que se **disectaron** apéndices locomotores, branquias y hepatopáncreas, se maceraron y tiñeron según se detalla a continuación:

Para la **disección**, se midieron características **morfométricas**, longitud del camarón, determinación de su especie, datos que se guardaron y se presentan en la Tabla 3 del capítulo Resultados.

Se **disectan** los apéndices natatorios del primero y sexto segmento abdominal, y los apéndices locomotores primero y tercero, y se colocan en un portaobjetos, para su tinción.

Con las pinzas de relojero se levanta la cutícula del camarón sobre el área de la cámara branquial, y se extraen las branquias con una tijera de disección. Estas son colocadas en un vial con etanol 70%, y etiquetadas con el número de muestra.

Se realiza un corte del dorso del cefalotórax en forma de U con la concavidad hacia el rostro, se extrae el hepatopáncreas, haciendo dos cortes transversales del intestino a la altura del inicio del primer segmento abdominal y al finalizar el estómago pilórico. El hepatopáncreas es medido a lo largo y ancho, y colocado en el mismo vial con las branquias, que contiene etanol 70% para su posterior análisis.

Las partes restantes del camarón son desechadas.

Para los **squash** de branquias, son colocadas dos láminas branquiales -una larga y una corta- en un portaobjetos de 76x26 mm, y un cubreobjetos fino – 0,13 – 0,17 mm de grosor- sobre cada una de ellas. Con el borrador de un lápiz se presionan las láminas branquiales, se retira el cubreobjetos y se procede a teñirlas.

Para los squash de hepatopáncreas, se colocan los mismos entre dos vidrios de 10x15x1 cm y se presiona

colocando algunas gotas de alcohol 70%, presionando el vidrio superior contra el inferior y haciendo movimientos circulatorios del superior. Luego se observa al microscopio, ya que no es necesario la tinción de los mismos.

4.3.1.2. TÉCNICA PARA PREPARACIONES HISTOLÓGICAS POR INCLUSIÓN EN PARAFINA

Se detallan los pasos de la técnica histológica disección, deshidratado, aclaramiento, e inclusión en parafina, corte y tinción para analizar las muestras de camarón colectadas.

En la **disección**, se extrajeron los apéndices locomotores y natatorios, que fueron utilizados para las preparaciones semipermanentes de apéndices procesados con los métodos del acápite anterior. Se seccionó el camarón que para efectos de identificación se consideró el cefalotórax como muestra (a), el primero, tercero y el sexto segmentos abdominales como muestras (b), (c), y (d), respectivamente. La sección de la cabeza desde el rostro en adelante se denomina como muestra (f).

Estos segmentos fueron colocados en gasas simples, etiquetadas con sus números y clave de muestras, para comenzar la fase de deshidratación.

Para la **deshidratación** de los tejidos, las gasas que contenían los segmentos del camarón a ser procesados fueron sumergidas en el doble de su volumen en cada uno de los alcoholes graduales (50%, 70%, 96% y 100%) durante treinta y seis horas. Ensayos anteriores demostraron que el tiempo de veinticuatro horas, era insuficiente para deshidratar efectivamente los tejidos, debido a las altas concentraciones de carbonato de calcio en la cutícula y la baja salinidad a la que se encontraban los camarones colectados.

Para comprobar si el tejido se encuentra perfectamente deshidratado, debe ponerse sobre un portaobjetos una pequeña gota de alcohol absoluto empleado en el proceso y agregarle una gota de xilol. Si la gota se torna de color lechoso, indica que el tejido aún se encuentra hidratado y debe iniciarse nuevamente la deshidratación.

Para la preparación de los alcoholes a diferente graduación, se utilizó como base el alcohol al 96% según la tabla de Gay Lussac.

Para el **aclaramiento**, en ensayos previos, se determino que el tiempo del baño de xilol debe ser de 45 a 60 minutos, revisando permanentemente las gasas para determinar el punto exacto de aclaramiento, el cual es cuando los tejidos presentan una transparencia y un color caramelo.

En la **inclusión en parafina**, se colocaron las gasas en vasos de precipitados que contienen parafina purificada para histología con punto de fusión 56 - 58 °C. Ensayos previos determinaron que el primer baño de parafina debe durar cuarenta y ocho horas, una vez que el tiempo de aclaramiento es mas largo. Posteriormente se cambian a otro baño de parafina, durante veinticuatro horas. Al termino de este tiempo, son colocadas las piezas individualmente en cajitas de papel bond, armadas para mantener en su interior la pieza embebida en parafina. La parafina fundida es colocada en el interior de las cajitas y el tejido orientado según el corte. Se deja endurecer la parafina a

temperatura ambiente y se procede al corte de los cubos (Aguilar, 1996).

Cada cubo se prepara para ser montado sobre la platina del microtomo para proceder a su corte. Se obtuvieron cortes de ocho micras de grosor, que se colocaron en un baño de flotación con grenetina de grado ACS disuelta (1 g por cada 400 ml) a 30 °C, para que se extienda el tejido. Se empleó para el corte un microtomo manual **American Optical** modelo 820 Spencer (Aguilar, 1996).

Una vez extendidos, se los colocó sobre un portaobjetos y se marca el portaobjetos para su posterior tinción y análisis.

4.3.2. MÉTODOS PARA DETERMINAR CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES Y OXÍGENO DISUELTO EN MUESTRAS DE AGUA

Para las muestras de agua, se aplicaron los métodos **Hach** para nutrientes y **Winckler** para oxígeno disuelto.

4.3.2.í. ANÁLISIS DE OXIGENO DISUELTO: <MÉTODO WINCKLER>.-

Para el método **Winckler**, ver Anexo “Métodos de Análisis para Determinar Parámetros Ambientales”.

4.3.2.2. **ANÁLISIS DE NUTRIENTES: <MÉTODO COLORIMÉTRICO HACH>.-**

Los métodos son colorimétricos y producen sustancias secundarias coloreadas, que son las que se miden en el espectrofotómetro marca **Hach**, modelo **Drell 2000** empleando una determinada longitud de onda. Todos los métodos emplean reactivos fabricados por la **Hach Co.**, y los números de cada uno de ellos corresponden a los impresos en el Manual del Usuario del Espectrofotómetro **Hach Drell 2000**.

Los detalles de la sensibilidad, precisión y principio del método se detallan a continuación:

Para **nitritos** El método empleado es el # 371, Nitrito de bajo rango, que detecta entre 0 y 0,99 mg/L de nitrito, empleando una longitud de onda de 507 nm. La precisión del método es de $\pm 2,2 \mu\text{g/L NO}_2^-$.

El nitrito de la muestra reacciona con el ácido sulfanílico para formar una sal **diazónica** intermedia. Esta se une con el ácido cromotrópico para producir un complejo de color rosa, directamente proporcional al monto de nitrito presente.

Los resultados de este análisis son multiplicados por 3,3 para expresar sus resultados en mg/L NO_2^- .

Para **nitratos** el método empleado es el # 355, Nitrato de alto rango, que detecta entre 0 y 132 mg/L de nitrato, empleando una longitud de onda de 500 nm. La precisión del método es de $\pm 3,52 \text{ mg/L NO}_3^-$.

El cadmio metálico reduce el nitrato presente en la muestra a nitrito. Los iones nitrito reaccionan en medio ácido con el ácido sulfanílico para formar una sal **diazónica** intermedia. Esta sal se une al ácido genticónico para formar un producto de color ambar.

Los resultados de este análisis son multiplicados por 4,4 para expresar sus resultados en mg/L NO_3^- .

Para amonio el método empleado es el # 380, Amonio - Amoníaco, que detecta entre 0 y 3,05 mg/L de amoníaco y entre 0 y 3,225 mg/L de amonio, empleando una longitud de onda de 425 nm. La precisión del método es de $\pm 0,015 \text{ mg/L}$.

El mineral estabilizador empleado ayuda a eliminar la interferencia de la dureza en la muestra. El agente polivinil alcohol dispersante, ayuda a la formación del color en la reacción del reactivo de Nessler y los iones

amonio. Un color amarillento se forma proporcional a la concentración de amonio presente en la muestra.

Los resultados de este análisis son multiplicados por 1,22 para expresar sus resultados en mg/L NH_3 y por 1,29 para expresar sus resultados en mg/L NH_4^+ .

Para **fosfatos** el método empleado es el # 490, Fósforo reactivo, que detecta entre 0 y 2,5 mg/L de fosfatos, empleando una longitud de onda de 890 nm. La precisión del método es de $\pm 0,01$ mg/L PO_3^- .

El ortofosfato reacciona con el molibdato en un medio ácido para producir el complejo fosfomolibdato. El ácido ascórbico luego reduce ese complejo, dando un intenso color azul molibdénico.

4.4. TINCION DE LAS MUESTRAS

Las preparaciones histológicas, excepto las de hepatopáncreas, se tiñeron como se detalla a continuación:

4.4.1. TINCIÓN DE PREPARACIONES SEMIPERMANENTES

Para las preparaciones de apéndices locomotores y natatorios, se tiñeron las preparaciones con azul de metileno alcohólico al 1%, durante dos minutos, luego se hicieron dos lavados de los tejidos, con agua corriente y agua destilada, respectivamente.

Otra preparación de branquias, fue teñida con rojo neutro durante cinco minutos, luego se hicieron dos lavados de los tejidos, con agua corriente y agua destilada, respectivamente.

Una vez teñidos los squash de apéndices y branquias, fueron montados con gelatina glicerizada. Para ello, se emplearon cubreobjetos para microscopio de tamaño estándar 40x24 mm, de cristal blanco y de preferencia delgados (0,13 - 0,17 mm de grosor) (Kudo, 1976). Las preparaciones montadas fueron colocadas en una plancha de calor, y mantenidas por 5 minutos para extender la gelatina glicerizada y luego dejadas al ambiente para que se coagule la gelatina.

4.4.2. **TINCIÓN** DE PREPARACIONES PERMANENTES

Se utilizó la técnica de hematoxilina - eosina variante de Gil según se detalla en el anexo Técnicas de Histología (Aguilar, 1996).

Los cortes son montados con resina sintética. Para ello, se emplearon cubreobjetos para microscopio de tamaño estándar 40x24 mm, de cristal blanco y de preferencia delgados (0,13 - 0,17 mm de grosor) (Aguilar, 1996). Las laminillas montadas son colocadas en una placa de calor a 30 °C, y mantenidas por 3 días para extender y endurecer la resina, de tal manera que selle el contenido de la preparación entre el cubre y el portaobjetos (Gaviño, 1990).

4.5. TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN

Para su observación general se empleó microscopios con sistema de luz de campo claro, y una vez localizados los organismos se hacía la observación con microscopio con sistema de contraste de fases para verificar características que no resalten en el primer sistema empleado. El barrido de los campos fue de derecha a izquierda, y de abajo hacia arriba en su mayoría cubriendo todas las áreas con tejido disponibles.

4.51. MICROSCOPIO DE CAMPO CLARO

La observación de las preparaciones semipermanentes se hizo en un microscopio con sistema de luz de campo claro, a 10, 1 OO, 400 y 1000 aumentos buscando organismos patógenos en las laminillas branquiales o superficies externas de los apéndices locomotores.

En el caso de hepatopáncreas se busco la presencia de otros organismos patógenos que serán extraídos a viales con etanol 70% para su análisis posterior.

La observación de las preparaciones permanentes se hace en un microscopio con 10, 1 OO, 400 y 1000 aumentos buscando organismos parásitos en los lúmenes de los órganos u otros tipos de parásitos en el exterior de las mucosas epiteliales.

4.5.2. MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASES

La microscopia con sistema de contraste de fases fue ampliamente utilizada luego de observar los organismos con el primer sistema, **especialmente** para identificar los pies de fijación, organelos intracelulares, y cilios.

CAPÍTULO 5 RESULTADOS

De los análisis realizados a las muestras de agua se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 1 del Anexo Resultado de Análisis. Los niveles de materia orgánica del suelo, no fueron considerados en el presente estudio.

Para efecto de ubicación de los resultados para el área de estudio, se ha empleado la siguiente convención: A4 = camaronera A, piscina 4; A6 = camaronera A, piscina 6; **AE** = camaronera A, estero; **BPc4** = camaronera B, precriadero 4; B7 = camaronera B, piscina 7; BE = camaronera B, estero; C2 = camaronera C, piscina 2; C6 = camaronera C, piscina 6; C8 = camaronera C, piscina 8; C12 = camaronera C, piscina 12; CR = camaronera C, reservorio; D7 = camaronera D, piscina 7; D34 = camaronera D, piscina 34, DR = camaronera D, reservorio.

Las especies estudiadas fueron camarones *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris*.

Los camarones en la camaronera A, presentaban una cutícula amarillenta, aún cuando se estaban alimentado normalmente y no se observaba necrosis en sus segmentos abdominales. Los camarones de la camaronera B, tenían necrosis en todo el cuerpo, y su intestino estaba lleno de alimento. El estero de esta camaronera mostraba una gran cantidad de sedimentos en suspensión. Los camarones de la camaronera C, tenían problemas de

vibriosis, una vez que en el agua las concentraciones de *Vibrios* eran elevadas. Adicionalmente, por efecto de las lluvias, se podía percibir un evidente olor a choclo en las muestras. La camaronera D era la más problemática, 144 días de cultivo tenían ambas piscinas muestreadas, y los crecimientos eran del orden de 0 gramos por semana, estancándose en un peso promedio de 8,51 gramos. La fertilización no se lleva a cabo debido a que en 2 corridas anteriores las piscinas habían desarrollado olores a choclo, podrido, tierra y moho por efecto de las cianofitas.

Todas las camaroneras presentaban los camarones con cola roja, apéndices alimenticios, locomotores y natatorios de color amarillento pálido, con crecimientos entre 0,0 y 0,6 gramos por semana y con alimentación aparentemente normal. Las anténulas quebradizas y segmentadas, rostro deforme, son otras características observadas con frecuencia.

5.1. INVENTARIO DE LOS ORGANISMOS IDENTIFICADOS

De las preparaciones histológicas se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 2 y de las preparaciones squash se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 3, ambas del Anexo Resultados Obtenidos. En estas tablas se incluyen las frecuencias de observación de organismos (1 para presencia, 0 para ausencia), sobre el crustáceo examinado, no se expresa en la misma la intensidad de la infestación, que en la mayoría de los casos era en grado 2 y 4.

En las preparaciones histológicas, la predominancia de *L. stylirostris* se hizo notoria con el 60% de las muestras, en tamaños de 5,3 a 13,0 centímetros y *L. vannamei*, con el 40% de las muestras, en tamaños de 7,5 a 12,0 centímetros.

En las preparaciones squash el 48,57% estuvo representado por *L. vannamei* con tamaños de 5,0 a 14,1 centímetros; *L. stylirostris* con el 46,67% en tamaños de 5,5 a 13,5 centímetros; y finalmente 4,76% de organismos que no pudieron ser identificados, cuyos tamaños varían de 11,3 a 13,4 centímetros.

Los organismos que fueron identificados como protozoarios epibiontes en branquias y sectores aledaños fueron:

- *Zoothamnium penaei*
- *Epistylis* sp.
- *Acineta* sp.

En ningún caso se registró gregarinas en estadíos de gametocitos o trofozoitos en el lumen intestinal, en todas las preparaciones permanentes o semipermanentes.

Adicionalmente se encontraron algas rodofitas y clorofitas, huevos y estadíos juveniles de crustáceos isópodos, en las branquias de los camarones.

En el Anexo Resultados Gráficos se presenta una memoria fotográfica de los mejores cortes histológicos y preparaciones squash, que demuestran los organismos anteriormente mencionados.

5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS EMPLEADOS

Para determinar la correlación de los datos, se emplearon los siguientes análisis estadísticos: Análisis Canónico de Correspondencia, Dendrogramas, y un Análisis No Paramétrico de los cuadrados de Pearson, cuyas memorias de resultados y gráficos se encuentran en las Tablas 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 y las figuras 2, 3, 4, 5, 6, 7, todos del Anexo Resultado de Análisis.

Se ha establecido para todos los análisis, un nivel de confianza del 95% con un 2% de prevalencia de la población y asumiendo que el nivel de afección de estos organismos es del 5% o más.



CAPÍTULO 6 DISCUSION

6.1. ANÁLISIS DE FRECUENCIAS DE LOS ORGANISMOS PARASITOS

El análisis de cúmulos en la figura 3, explica la influencia de las variables biológicas (grupo-especie-talla), con la presencia de los protozoarios en los organismos procesados con histología permanente. Se observa claramente una fuerte relación entre la talla y la presencia de organismos epibíontes, y así mismo una relación entre todas estas últimas y la relación especie-grupo. Es decir hay una alta especificidad de especies y tallas con respecto a la presencia de organismos, debido al periodo intermudal de los organismos.

La figura 6 presenta el mismo análisis con las observaciones squash, y nos muestra la misma relación pero mucho más acentuada.

Si en estos dos análisis se incluyen todas las demás variables, figuras 2 y 5, para las dos preparaciones de tejidos, la relación especie-calidad del suelo <localización> tiene una fuerte correlación con la temperatura y la talla. Esto nos explica la real incidencia de la temperatura y la longitud del periodo intermudal sobre la presencia de los organismos como tal y determina como concluyente una estricta participación de estos factores como altamente influyentes.

Los resultados obtenidos en el análisis anterior son respaldados por el Análisis Canónico de Correspondencia CCA, cuyos resultados

expresan un coeficiente de regresión de 0,96, explicando la mayor parte de la presencia de organismos epibiontes y las variables ambientales de la misma manera que el análisis de cúmulos.

6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La influencia de las condiciones del Fenómeno del Niño, que gobernaba el clima en el momento del muestreo, es bastante notoria. Para otros años la presencia de algas cianofitas es altamente perceptible durante la estación invernal, que va de Diciembre a Mayo de cada año.

Inusuales niveles de temperatura del agua, así como la presencia de elevadas concentraciones de materia orgánica favorecieron la aparición de protozoarios (Arredondo, 1998) y otros organismos patógenos, así como otros crustáceos isópodos, larvas de peces y algas cianofitas y rodofitas, cuya velocidad de metabolismo en gran medida está controlada por la temperatura.

En general, la mayoría de parámetros ambientales, estaban arriba de los rangos óptimos: temperatura $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH $>8,5$, Nitritos $>0,100$ ppm, amonio $>0,25$ ppm. Estas condiciones, producen stress, y potencian las acciones de oportunistas primarios, secundarios así como **disfunciones** en el metabolismo y periodo intermudal.

Los olores a choclo y podrido, y la falta de crecimiento de los camarones cultivados en el momento de la colecta, son atribuidos a la

presencia de hongos actinomicetos y algas cianofitas, muchas de estas últimas detectadas inclusive en el intestino medio del camarón, y algunas algas rodofitas presentes en las branquias. No se detectaron los hongos actinomicetos en los carapachos de los camarones, ni en sus cámaras branquiales. Es bien sabido que los hongos actinomicetos y las algas cianofitas producen dos compuestos la geosmina y el 2-Metilisoborneol, que pueden permanecer buen tiempo en el camarón, libernándose una vez muertas y desconociéndose al momento su excreción activa.

Una vez que los camarones tienden a enterrarse en las épocas de quiebra, y la presencia de una cantidad considerable de materia orgánica, producto de la erosión de los bordes de los ríos y cauces de aguas lluvias, así como la acumulación de alimento balanceado no consumido y no oxidado en el fondo de las piscinas, generan grandes concentraciones de amonio ($>0,25$ ppm), que debilita al camarón y contamina el medio, haciendo propenso el ambiente para el desarrollo de organismos patógenos.

Así mismo, luego de la muda, el camarón vuelve a ser colonizado por los protozoarios en el momento de desenterrarse, y el proceso entonces se repite.

Las erosiones cuticulares, producidas por los protozoarios en el momento de la fijación, permitían el ingreso de bacterias y otros organismos. Estos epibiontes, que se fijan en los extremos apicales

de los protozoarios o infectan directamente los orificios de fijación aprovechan estas vías de entrada al organismo para afectarlo, y generar lesiones secundarias producto de su fijación directa.

En muchos casos las lesiones **necróticas** de la cámara branquial son producto de la colonización masiva de protozoarios, observada hasta en un número de 30 al borde de 5 **lamelas**, y producen un retardo en el crecimiento al disminuir la actividad osmótica y de respiración y al reducir su velocidad de natación.

Así mismo, la percepción del alimento y la velocidad de muda, se ven influenciadas por el grado de nutrición del camarón y la medida en que los patógenos inhiben su gestión alimenticia. Cuando se observó una mayor infestación de protozoarios, coincidentemente las mudas habían ocurrido mucho tiempo atrás, posiblemente con dos aguajes de anterioridad, lo que permite una fijación de organismos epibiontes considerable.

CONCLUSIONES

Del presente trabajo se puede concluir:

Es posible utilizar preparaciones histológicas permanentes y semipermanentes para examinar la condición de afectación por parte de protozoarios en camarones del género *Litopenaeus* de manera precisa y confiable.

Las preparaciones histológicas permanentes teñidas con la **hematoxilina-eosina** variante de Gil, permiten una observación minuciosa y detallada de organismos epibiontes y otros patógenos en cualquier parte del camarón. Su utilización es empleada como confirmatoria de diagnósticos.

Las preparaciones squash teñidas con azul de metileno alcohólico al **1%**, durante 2 minutos, son las herramientas más rápidas para observar protozoarios epibiontes en branquias, apéndices locomotores y natatorios.

Las preparaciones squash son económicas y no requieren aparatos distintos a un microscopio para su ejecución. Las limitantes de las preparaciones histológicas permanentes se reducen al costo de los equipos requeridos para su ejecución y al conocimiento detallado de las estructuras ínter e intracelulares de los tejidos.

Los protozoarios asentados sobre la cutícula de las **lamelas** branquiales, producen daño **tisular** como consecuencia de una delaminación **del** epitelio cuticular, y permiten el ingreso por esa vía de bacterias al organismo.

La muda es un mecanismo de “limpieza” natural de los crustáceos para eliminar o controlar efectivamente ectoparásitos o ectocomensales, adicional a su función de crecimiento.

En orden de importancia, la calidad del suelo y la especie, temperatura, talla, tienen influencia sobre la presencia de los protozoarios y algas rodofitas en branquias.

El fenómeno del Niño Oscilación Sur **ENOS**, tiene una fuerte influencia en la aparición de protozoarios, una vez que modifica las variables ambientales, genera stress y acelera la velocidad metabólica de los crustáceos. La materia orgánica, adiciona a las variables ambientales, es un **potenciador** para la aparición de protozoarios en camarones.

El manejo de la calidad del suelo de las piscinas debe ser una estrategia como vía de control de oportunistas asociados a materia orgánica, del deterioro ambiental y de **contaminación** de los cuerpos de agua.

RECOMENDACIONES

Luego de ejecutar la presente tesis se presentan las siguientes recomendaciones:

Presentar a la industria camaronícola, la opción de los métodos de **tinción** en fresco como medio económico para la examinación presuntiva de epibiontes y parásitos, en facilidades nuevas o donde no existan presupuestos extendidos para estas actividades.

Recomendar la histología permanente como mecanismo de reconocimiento directo de las afecciones patológicas producidas en crustáceos, especialmente en condiciones de cautiverio.

Mejorar el manejo de la calidad del suelo, para evitar la contaminación de los efluentes, de los organismos cultivados y minimizar los efectos de los estresores ambientales en el cultivo del camarón en particular.

Que el técnico de las facilidades acuícolas, analice estadísticamente la información generada a través de todos los análisis que realiza, relacione estos a las variables ambientales si se aplica, y estudie las tendencias generadas, para de esta manera tomar las acciones necesarias que lo lleven a la optimización de la producción.

La presente tesis fue ejecutada en el Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México con sede en México DF, una

vez que la FIMCM de la ESPOL, no contaba con los equipos completos para su posible ejecución, o en algunos casos estaban incompletos. El apoyo en materiales, reactivos y tecnología para su ejecución, también fueron puntos de peso considerables para su ejecución en México.

Siendo las técnicas presentadas en el actual trabajo, importantes en el diagnóstico de enfermedades del camarón, se sugiere fortalecer su aprendizaje en la FIMCM, mediante prácticas de laboratorio de las materias afines, en las cuales el estudiante desarrolle su habilidad de observación de la normalidad de los tejidos del camarón y otros organismos acuáticos y sea capaz de detectar aquellos procesos anormales de manera anticipada o en estadíos iniciales.

Ampliar los pensums académicos de la materia de Bioestadística de la FIMCM, incluyendo en ellos, análisis estadísticos no paramétricos, obteniendo potentes herramientas para analizar las **caraterísticas** cualitativas de los eventos observados en el cultivo de especies acuáticas, sus tendencias, y verificar su correlación con las variables ambientales.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, M., B., Coutiño y P., Salinas, 1996. Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Las Prensas de Ciencias - UNAM, México DF – México: 130 pp.
2. Akiyama, D. y B., Polanco, 1994. Manejo de granjas en cultivos semi-intensivos de camarones. ASA, Caracas – Venezuela:6.
3. Appleton, P.L. and K., Vickerman, 1998. *In vitro* cultivation and developmental cycle in culture of a parasitic dinoflagellate (*Hematodinium* sp.) associated with mortality of the norway lobster (*Nephrops norvegicus*) in british waters. Parasitology, 116:115-130.
4. Armijo Ortiz, A. y S., López Jiménez, 1993. Diagnóstico y control de las enfermedades más frecuentes de los peces que se cultivan en México. INP, México DF - México:20.
5. Austin, B. and D.A., Austin, 1989. Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. Ellis Horwood Limited, Great Britain:69-97.
6. Becker, K., 1996. Epibionts on carapaces of some malacostracans from the gulf of Thailand. J. of Crust. Biol., 16(1):93-104.
7. Bell, T.A. and D.V., Lightner, 1988. Handbook of normal penaeid shrimp histology. WAS, Baton Rouge - USA: 1-6.

8. **Boschi**, E.E. y V., Angelescu, 1962. Descripción de la morfología externa e interna del langostino con algunas aplicaciones de índole taxonómica y biológica. Instituto de Biología Marina, Mar Del Plata – Argentina:73 pp.
9. Bowman, T.E. and **L.G., Abele**, 1985. **Classification of the recent Crustacea**:1-27. En: Bliss, D.E., (Ed.) **The Biology of Crustacea**. Volumen 1. **Academic Press**, New York, NY - USA.
10. **Brock**, J. and K.L., Main, 1994. A guide to **common problems and diseases of cultured *Litopenaeus vannamei***. WAS, Baton Rouge – USA:320 pp.
11. CAAM, 1996. Desarrollo y problemática ambiental del área del Golfo de Guayaquil. Crearimagen, Quito – Ecuador:354 pp.
12. CAAM, 1996. **Sistemas biofísicos en el Golfo de Guayaquil**. Crearimagen, Quito – Ecuador:223 pp.
13. **Carman**, K.R. and F.C., Dobbs, 1997. Epibiotic microorganisms on copepods and other marine crustaceans. *Microscopy Research and Technique*, 37: 116-1 35.
14. Carrera Internacional, 1998. Patología del *P. vannamei*, nuevas técnicas de diagnóstico de enfermedades. Guayaquil - Ecuador:95 pp.

15. Cawthom, R. J., 1997. Overview of “bumper car” disease – impact on the North American lobster fishery. *International Journal of Parasitology*, 27(2):167-172.
16. Dunn, A.M., J., Adams and J.E., Smith, 1993. Transovarial transmission and sex ratio distortion by a microsporidian parasite in a shrimp. *Journal of invertebrate Pathology*, 61:248-252.
17. García de León Loza, A., 1988. Generalidades del análisis de cúmulos y del análisis de componentes principales. UNAM, México DF – México:29pp.
18. Gaviño, G., J.C., Suárez y H.H., Figueroa, 1990. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. 10ma reimpresión. Editorial Limusa – Noriega, México DF – México:71-99.
19. Guevara, R. D., 1992. Principios fundamentales de la ecología ecuatoriana. 2da ed. Gráficas Mediavilla Hnos., Quito – Ecuador: 1-37.
20. Harríson, F.W. and A. G., Humes, 1992. *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. Volume 10. Wiley-Liss, New York -USA:459pp.
21. Hasson, K.W., J., Hasson, H., Aubert, R.M., Redman and D.V., Lightner, 1997. A New RNA-friendly fixative for the preservation of penaeid shrimp samples for virological detection using cDNA genomic probes. *Jour. of Virological Methods*, 66:227-236.

22. INOCAR. 1998. Estudio de impacto ambiental previo al dragado del canal de acceso al puerto marítimo de Guayaquil. **Inocar**, Guayaquil – Ecuador.
23. Jones, T.C., R.M., Overstreet, J.M., Lotz and P.F., Frelie, 1994. *Paraophioidina scolecoides* n. sp., a new aseptate gregarine from cultured **pacific white** shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.**, 19:67-75.
24. Kudo, R.R., 1976. Protozoología. Compañía Editorial Continental, México DF – **México:857-867**.
25. Kuris, A.M. and K.D., Lafferty, 1992. Modelling crustacean fisheries: effects of parasites on management strategies. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 49:327-336.
26. Locquin, M. and M., Langeron. 1985. Manual de **microscopía**. Editorial Labor, Barcelona – España:373 pp.
27. Ludwig, J.A and J.F., Reynolds, 1988. Statistical ecology, a primer on methods and computing. John Wiley & Sons, New York – **USA:337pp**.
28. Maeda, M. And I.Ch., Liao, 1994. Microbial **processes** in aquaculture environment and their importance for increasing crustacean production. **JARQ**, 28:283-288.
29. Martínez, L.R., 1993. Camaronicultura, bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones Peneidos. AGT Editor, México DF – **México:xi-xiii**.

30. Overstreet, R.M., 1978, Marine Maladies? Worms, germs, and other symbionts from the northern Gulf of Mexico. MASGP, Ocean Spring, MI – USA:28-40.
31. Pillay, T.V.R., 1992. Aquaculture and the environment. Fishing News Books, Cambridge – UK:89-93.
32. Provenzano Jr., A. J., 1985. Economic aspects of fisheries and culture:XVII. En: Bliss, D.E., (Ed.). The Biology of Crustacea. Volumen 10. Academic Press, New York, NY - USA.
33. Roberts, R. J., 1989. Fish pathology. Second edition. Bailliere Tindall, Great Britain:374-405.
34. SEMARNAP, 1998. El síndrome de tauro. Semamap, México DF – México: Volante Informativo para el Sector Acuícola.
35. Sinderman, C. J. and D.V., Lightner, 1988. Diseases diagnosis and control in north american marine aquaculture:1-133. In: Sinderman, C.J. and D.V. Lightner (Ed.) Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Second, revised edition. Elsevier, Amsterdam – The Netherlands, (17).
36. Stickney, R.R., 1994. Principles of aquaculture. John Wiley & Sons Inc., New York, NY – USA:v-vii, 1-3.
37. Söderhäll, K., L., Cerenius and M.W., Johansson, 1994. The prohenoloxidase activating system and its role in invertebrate defence. Annuals of the New York Academy of Sciences, 712: 155161

38. Swift, D.R., 1985. Aquaculture Training Manual. Fishing News Books Ltd. Farnhanr – UK: 135 pp.
39. Ter Braak, C.J.F., 1987. The analysis of vegetation-environment relationships by canonical correspondence analysis. *Vegetario*, 69:69-77.
40. Ter Braak, C. J.F., 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecoiogy*, 67(5): 1167-1 179.
41. Vázquez, L., 1963. Tercer curso de zoología (Arthropoda). Parte II. UNAM, México DF – México:240-248.



ANEXOS

ANEXO METODOS DE ANALISIS PARA DETERMINAR PARAMETROS AMBIENTALES

ANÁLISIS DE OXÍGENO DISUELTO <MÉTODO WINCKLER>.-

REACTIVOS:

- Sulfato manganoso
- Solución álcali de yodo
- Ácido sulfúrico concentrado
- Solución de tiosulfato de sodio 0.01 N
- Reactivo de almidón

PREPARACIÓN DEL SULFATO MANGANOSO:

- Disolver 480 g de MnSO_4 tetrahidratado o 400 g de MnSO_4 dihidratado o 365 g de MnSO_4 monohidratado en agua bidestilada, luego llevar a un litro.
- Filtrar y guardar en botellas ámbar o marrón.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ALCALINA DE YODO:

- Disolver 500 g de NaOH o 700 g de KOH más 135 g de NaI o 150 g de KI con agua bidestilada, llevar a 960 ml.
- Agregar una solución de azide de sodio (10 g de azide de sodio disueltos en 40 ml de agua bidestilada).

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE ALMIDÓN:

- Guardar en la refrigeradora a 4 - 5°C.
- Disolver 1 g de almidón grado reactivo en 1 00 ml de agua a 1 00°C,
- hervir esta solución durante 1 minuto y enfriar.

PREPARACIÓN DEL THIOSULFATO DE SODIO 0.01N:

- Guardar en la refrigeradora a 4 - 5°C.
- Disolver 2.9 g de tiosulfato de sodio más 0.1 g de carbonato de sodio, llevando a un litro.
- Agregar una gota de "carbon bisulphide" como preservante.
- La solución es estable por guardarla en botellas marrón o ámbar.

PROCEDIMIENTO:

1. Tomar una muestra como se indica en las precauciones, sin formar burbujas y sin mover mucho el envase de la muestra,
2. agregar inmediatamente 1 ml de sulfato manganoso, y agitar,
3. agregar inmediatamente después 1 ml de solución álcali de yodo,
4. agregar luego 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, y agitar,
5. titular con una solución estándar de tiosulfato de sodio 0.025 N, hasta que el color amarillento se haga casi transparente,
6. agregar 1 ml de reactivo de almidón, cambia el color a azul,

7. seguir titulando con la solución de tiosulfato de sodio hasta que justo desaparezca el color azulado y quede transparente.
8. la cantidad de tiosulfato de sodio empleada en la titulación es la cantidad de oxígeno presente en la muestra de agua.

ANEXO RESULTADOS OBTENIDOS

Tabla 1.- Resultado análisis de aguas: temperatura, pH, salinidad, oxígeno, nitrito, nitrato, amonio y fosfato. Muestras colectadas a las 14h00.

Muestra*	Temp. °C	pH	S o/oo	OD (O) mg/l	Nitrito mg/l	Nitrato Mg/l	Amonio mg/l	Fosfato mg/l
A4	32.40		5		0.036	6.820	0.390	0.610
A6	31.40	9.39	6	8.60				
AE					0.030	13.640	0.510	0.490
BPc4	31.70	8.52	5	8.61	0.644	0.220	0.270	0.970
B7	32.40	9.56	3	8.85	0.825	0.860	0.170	0.630
BE	30.70	8.26	11	5.64	11.550	0.000	0.830	0.570
c2	31.80	9.80	4	5.96	0.990	4.620	0.280	0.910
C6	33.30	9.36	3	8.50	0.002	5.280	0.220	0.080
C8	34.10	9.85	4	6.40	0.000	3.740	0.100	0.370
CI2	30.30	9.30	4	7.00	0.000	1.450	0.080	2.530
CR	33.30	8.30	4	6.12				
D7	30.50	9.45	3	8.57	0.000	7.040	0.450	0.390
D34	28.70	9.57	3	8.60	0.003	3.740	0.170	0.430
DR	27.60	7.96	3	14.88	0.000	4.840	0.210	0.490

* Muestras: **A4** = camaronera A, piscina 4; **A6** = camaronera A, piscina 6; **AE** = camaronera A, estero; **BPc4** = camaronera B, precriadero 4; **B7** = camaronera B, piscina 7; **BE** = camaronera B, estero; **C2** = camaronera C, piscina 2; **C6** = camaronera C, piscina 6; **C8** = camaronera C, piscina 8; **CI2** = camaronera C, piscina 12; **CR** = camaronera C, **reservorio**; **D7** = camaronera D, piscina 7; **D34** = camaronera D, piscina 34, **DR** = camaronera D, **reservorio**

Tabla 2.- Resultado análisis preparaciones squash de branquias.

Muestra	Grupo ¹	Especie ²	Talla (cm)	Protozoar. branquias	Cil. apóst. branquias	Rodofitas branquias	Céstodo hepatop.
1	DRO	sty	12,50	0,00	0,00	0,00	0,00
2	DRO	van	11,80	0,00	0,00	0,00	0,00
3	DRO	sty	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	DRO	van	13,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	DRO	van	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	DRO	van	12,80	1 ,00	0,00	0,00	0,00
7	D34	sty	9,90	0,00	0,00	0,00	0,00
8	D34	van	9,90	0,00	0,00	0,00	0,00
9	D34	van	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	D34	van	9,70	0,00	0,00	0,00	0,00
11	D34	sty	11,10	1,00	0,00	1 ,00	0,00
12	D34	van	11,00	0,00	0,00	1,00	0,00
13	D34	van	10,50	0,00	0,00	1,00	0,00
14	D34	van	10,80	0,00	0,00	0,00	0,00
15	D34	van	10,80	0,00	0,00	1 ,00	0,00
16	D34	sty	10,30	0,00	0,00	1 ,00	0,00

Muestra	Grupo ¹	Especie ²	Talla (cm)	Protozoar. branquias	Cil. apost. branquias	Rodofitas branquias	Céstodo hepato ³ .
17	D34	van	11,40	0,00	0,00	0,00	0,00
18	D34	sty	10,60	0,00	0,00	0,00	0,00
19	D34	van	9,80	0,00	0,00	1,00	0,00
20	D34	van	10,40	0,00	0,00	0,00	0,00
21	D34	van	10,40	0,00	0,00	0,00	0,00
22	D34	van	7,70	0,00	0,00	0,00	0,00
23	D34	sty	10,50	0,00	0,00	0,00	0,00
24	DO7	van	11,90	0,00	0,00	1,00	0,00
25	DO7	sty	11,70	1,00	0,00	1,00	0,00
26	DO7	sty	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
27	DO7	sty	11,20	1,00	0,00	1,00	0,00
28	DO7	van		1,00	0,00	0,00	0,00
29	DO7	van	10,00	1,00	0,00	1,00	0,00
30	DO7	sty	12,00	1,00	0,00	1,00	0,00
31	DO7	van	12,50	1,00	0,00	1,00	0,00
32	DO7	sty	11,50	0,00	0,00	0,00	0,00
33	DO7	van	8,70	0,00	0,00	0,00	0,00
34	DO7	van	11,60	0,00	0,00	0,00	0,00
35	DO7	sty	12,30	0,00	0,00	0,00	0,00
36	C12	sty	12,00	0,00	0,00	0,00	0,00
37	C12	van	12,30	1,00	0,00	1,00	0,00
38	C12	sty	12,30	0,00	0,00	0,00	0,00
39	C12	sty	12,70	0,00	0,00	0,00	0,00
40	C12	van	12,10	1,00	0,00	0,00	0,00
41	C12	sty	12,60	0,00	0,00	0,00	0,00
42	C12	van	12,30	0,00	0,00	0,00	0,00
43	C12	sty	12,80	0,00	0,00	0,00	0,00
44	C12		12,50	0,00	0,00	0,00	0,00
45	CO8	sty	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
46	CO8	sty	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00
47	CO8	sty	8,80	1,00	0,00	0,00	0,00
48	CO8	van	6,90	0,00	0,00	0,00	0,00
49	CO8	van	10,00	1,00	0,00	0,00	0,00
50	CO8	sty	9,80	1,00	0,00	0,00	0,00
51	CO8	sty	8,30	0,00	0,00	0,00	0,00
52	CO8	sty	9,90	1,00	0,00	0,00	0,00
53	CO8	sty	9,90	1,00	0,00	0,00	0,00
54	CO6	sty	12,00	0,00	0,00	0,00	0,00
55	CO6	sty	11,80	1,00	0,00	0,00	0,00
56	CO6	sty	10,10	0,00	0,00	0,00	0,00
57	CO6	sty	11,60	0,00	0,00	0,00	0,00
58	CO6	sty	10,40	0,00	0,00	0,00	0,00
59	CO6	sty	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
60	co2	sty	13,00	0,00	0,00	0,00	0,00
61	co2	sty	12,70	0,00	0,00	0,00	0,00
62	co2		13,40	0,00	0,00	0,00	0,00
63	co2	van	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
64	BE0		13,00	0,00	0,00	0,00	0,00
65	BE0	van	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00
66	BE0	van	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00
67	BE0	van	14,10	0,00	0,00	0,00	0,00
68	BE0	van	12,70	1,00	0,00	0,00	0,00
69	BE0	van	13,50	0,00	0,00	0,00	0,00
70	BE0	van	14,00	0,00	0,00	0,00	0,00
71	BP4		11,30	0,00	0,00	0,00	0,00

Muestra	Grupo ¹	Especie ²	Talla (cm)	Protozoar. branquias	Cil. apost. branquias	Rodofitas branquias	Céstodo hepatop.
72	BP4		11,40	0,00	0,00	0,00	0,00
73	BP4	van	11,40	0,00	0,00	0,00	0,00
74	BP4	van	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	BP4	van	11,50	0,00	0,00	0,00	0,00
76	BP4	van	11,50	0,00	0,00	0,00	0,00
77	BP4	sty	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
78	BP4	sty	11,80	1,00	0,00	0,00	0,00
79	BP4	van	12,30	0,00	0,00	0,00	0,00
80	BP4	sty	11,40	1,00	0,00	0,00	0,00
81	B07	van	9,60	0,00	0,00	0,00	0,00
82	B07	van	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00
83	B07	van	9,60	0,00	0,00	0,00	0,00
84	B07	van	8,50	0,00	0,00	0,00	0,00
85	B07	sty	7,80	0,00	0,00	0,00	0,00
86	B07	van	8,10	0,00	0,00	0,00	0,00
87	B07	van	8,90	0,00	0,00	0,00	0,00
88	B07	sty	9,50	0,00	0,00	0,00	0,00
89	AEO	sty	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	AEO	sty	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
91	AEO	sty	8,90	0,00	0,00	0,00	0,00
92	AEO	sty	7,20	0,00	0,00	0,00	0,00
93	AEO	sty	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00
94	AEO	sty	8,00	0,00	0,00	0,00	0,00
95	A06	van	11,60	0,00	0,00	0,00	0,00
96	A06	van	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00
97	A06	van	9,00	0,00	0,00	0,00	0,00
98	A06	sty	13,50	0,00	0,00	0,00	0,00
99	A06	van	13,00	0,00	0,00	1,00	0,00
100	A04	sty	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00
101	A04	van	6,70	0,00	0,00	0,00	0,00
102	A04	sty	5,50	1,00	0,00	0,00	0,00
103	A04	van	5,00	1,00	0,00	0,00	0,00
104	A04	sty	6,00	1,00	0,00	0,00	0,00
105	A04	sty	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1 Muestras: A4 = camaronera A, piscina 4; A6 = camaronera A, piscina 6; AE = camaronera A, estero; BPc4 = camaronera B, precriadero 4; B7 = camaronera B, piscina 7; BE = camaronera B, estero; C2 = camaronera C, piscina 2; C6 = camaronera C, piscina 6; C8 = camaronera C, piscina 8; C12 = camaronera C, piscina 12; CR = camaronera C, **reservorio**; D7 = camaronera D, piscina 7; D34 = camaronera D, piscina 34, DR = camaronera D, **reservorio**

2 van = *Litopenaeus vannamei*; sty = *Litopenaeus stylirostris*

1 Muestras: A4 = camaronera A, piscina 4; A6 = camaronera A, piscina 6; **AE** = camaronera A, estero; **Bpc4** = camaronera B, **precriadero** 4; B7 = camaronera B, piscina 7; BE = camaronera B, estero; C2 = camaronera C, piscina 2; C6 = camaronera C, piscina 6; C8 = camaronera C, piscina 8; C12 = **camaronera C**, piscina 12; CR = camaronera C, reservorio; D7 = camaronera D, piscina 7; D34 = camaronera D, piscina 34, DR = camaronera D, reservorio

2 van = *Litopenaeus vannamei*; sty = *Litopenaeus stylirostris*

Tabla 4.- Resumen de análisis canónico de correspondencia para datos de histología permanente.

	LEFT_SET	RIGHT_SE
No. of variables	7	11
Variance extracted	100.000%	66.2133%
Total redundancy	45.1090%	29.5873%
Variables: 1	AC	GRUPO
2	AA	ESPECIE
3	BC	TALLA
4	BA	TEMPERAT
5	CC	PH
6	DC	SALINIDA
7	EC	OX=GENO
8		NITRITO
9		NITRATO
10		AMONIO
11		FOSFATOS

Tabla 5.- Valores de correlación entre la presencia de organismos con variables biológicas y ambientales para datos de histología permanente.

	GRUPO	ESP.	TALLA	T °C	pH	S	0100	OD	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻
AC	-0.086	-0.175	-0.027	0.116	-0.241	0.353	-0.178	0.296	0.019	0.393	-0.291	
AA	-0.328	-0.157	-0.251	0.023	0.041	0.023	0.052	-0.164	0.702	0.214	-0.201	
BC	0.073	0.087	0.140	-0.142	-0.377	0.455	-0.217	0.487	-0.278	0.393	0.011	
BA	0.129	0.232	0.227	-0.173	-0.268	0.461	-0.231	0.533	-0.208	0.414	-0.047	
CC	-0.242	-0.189	-0.502	0.082	0.040	-0.011	-0.064	-0.170	0.604	0.190	-0.154	
DC	0.125	0.068	-0.131	0.112	-0.169	0.046	-0.063	-0.048	-0.000	-0.014	0.001	
EC	-0.078	-0.211	-0.251	0.044	0.152	0.025	-0.055	0.084	-0.041	0.024	-0.071	

Tabla 6.- Eigenvalues del CCA, para datos de histología permanente.

	ROOT__1	ROOT__2	ROOT__3	ROOT__4	ROOT__5	ROOT__6	ROOT__7
Value	0.8998	0.6365	0.5122	0.3123	0.2413	0.0752	0.0265

Tabla 7.- Resultados de prueba Chi², en CCA para datos de histología permanente.

	CANONICL	CANONICL	CHI_SQR	DF	P	LAMBDA-P
0	0.9486	0.8998	93.3275	77	0.0996	0.0083
1	0.7978	0.6365	48.4645	60	0.8569	0.0833
2	0.7157	0.5122	28.7330	45	0.9717	0.2291
3	0.5589	0.3123	14.7345	32	0.9961	0.4697
4	0.4912	0.2413	7.4329	21	0.9971	0.6831
5	0.2742	0.0752	2.0474	12	0.9993	0.9003
6	0.1628	0.0265	0.5238	5	0.9912	0.9735

Tabla 8.- Resumen de análisis canónico de correspondencia para datos de histología semipermanente.

	LEFT_SET	RIGHT_SE
No. Of variables	2	11
Variance extracted	100.000%	13.4324%
Total redundancy	24.6795%	3.75895%
Variables: 1	BP	GRUPO
2	BR	ESPECIE
3		TALLA
4		TEMPERAT
5		PH
6		SALINIDA
7		OX=GENO
8		NITRITO
9		NITRATO
10		AMONIO
11		FOSFATOS

Tabla 9.- Valores de correlación entre la presencia de organismos con variables biológicas y ambientales para datos de histología semipermanente.

GRUPO	ESP.	TALLA	T °C	pH	S	O100	OD	NO ₂	NO ₃	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻
BP	-0.072	-0.157	-0.056	0.175	0.064	-0.033	-0.070	-0.071	0.069	0.018	0.0359
BR	-0.308	0.008	0.132	-0.273	0.192	-0.191	0.033	-0.126	0.116	0.007	0.0803

Tabla 1 O.- Eigenvalues del CCA, para datos de histología semipermanente.

	ROOT__1	ROOT__2
Value	0.3123	0.1981

Tabla 11.- Resultados de prueba Ch², en CCA para datos de histología semipermanente.

	CANONICL	CANONICL	CHI_SQR_	DF	P	LAMBDA- P
0	0.5588	0.3123	57.7336	22.0000	0.0000	0.5515
1	0.4451	0.1981	21.4152	10.0000	0.0184	0.8019

Tabla 12.- Resultados de análisis no paramétrico de los cuadrados de Pearson para datos de histología semipermanente.

	Valid N	Spearman N	t (N - 2)	p-level
BP & GRUPO	105	-0.0493	-0.5005	0.6178
BP & ESPECIE	105	-0.1448	-1.4849	0.1406
BP & TALLA	104	-0.0076	-0.0766	0.9391
BP & TEMPERAT	99	0.1468	1.4614	0.1471
BP & PH	93	0.0630	0.6022	0.5486
BP & SALINIDA	99	0.0384	0.3788	0.7057
BP & OX=GENO	93	-0.1801	-1.7469	0.0840
BP & NITRITO	100	-0.2631	-2.6998	0.0082
BP & NITRATO	100	0.1468	1.4689	0.1451
BP & AMONIO	100	0.0199	0.1967	0.8445
BP & FOSFATOS	100	-0.1788	-1.7990	0.0751
BR & GRUPO	105	-0.3139	-3.3555	0.0011
BR & ESPECIE	105	0.0606	0.6157	0.5394

BR	& TALLA	104	0.1183	1.2033	0.2317
BR	& TEMPERAT	99	-0.3033	-3.1344	0.0023
BR	& PH	93	0.1578	1.5249	0.1308
BR	& SALINIDA	99	-0.2724	-2.7884	0.0064
BR	& OX=GENO	93	0.0289	0.2754	0.7837
BR	& NITRITO	100	-0.2341	-2.3833	0.0191
BR	& NITRATO	100	0.1975	1.9940	0.0489
BR	& AMONIO	100	0.0245	0.2423	0.8091
BR	& FOSFATOS	100	-0.2233	-2.2683	0.0255

Tabla 13.- Resultados de análisis no paramétrico de los cuadrados de Pearson para datos de histología permanente.

	Valid N	Spearman R	t(N-2)	p-level
AC & GRUPO	27	-0.0958	-0.4813	0.6345
AC & ESPECIE	27	-0.1823	-0.9272	0.3627
AC & TALLA	26	-0.0052	-0.0253	0.9800
AC & TEMPERAT	24	-0.0183	-0.0860	0.9323
AC & PH	21	-0.2231	-0.9975	0.3311
AC & SALINIDA	24	0.3091	1.5243	0.1417
AC & OX=GENO	21	-0.2231	-0.9975	0.3311
AC & NITRITO	24	-0.0061	-0.0286	0.9774
AC & NITRATO	24	-0.1036	-0.4885	0.6300
AC & AMONIO	24	0.3717	1.8780	0.0737
AC & FOSFATOS	24	-0.3478	-1.7399	0.0958
AA & GRUPO	27	-0.3639	-1.9532	0.0621
AA & ESPECIE	27	-0.1632	-0.8270	0.4160
AA & TALLA	26	-0.2281	-1.1476	0.2624
AA & TEMPERAT	24	-0.1376	-0.6515	0.5215
AA & PH	21	-0.0374	-0.1630	0.8722
AA & SALINIDA	24	0.2320	1.1187	0.2753
AA & OX=GENO	21	0.0747	0.3267	0.7475
AA & NITRITO	24	-0.3588	-1.8032	0.0851
AA & NITRATO	24	0.5784	3.3254	0.0031
AA & AMONIO	24	0.4131	2.1278	0.0448
AA & FOSFATOS	24	-0.4412	-2.3063	0.0309
BC & GRUPO	15	0.1586	0.5791	0.5724
BC & ESPECIE	15	0.1231	0.4472	0.6621
BC & TALLA	15	0.2622	0.9795	0.3452
BC & TEMPERAT	13	-0.3175	-1.1106	0.2904
BC & PH	11	-0.7250	-3.1582	0.0116
BC & SALINIDA	13	0.4160	1.5173	0.1574
BC & OX=GENO	11	-0.3955	-1.2917	0.2286
BC & NITRITO	12	0.4407	1.5525	0.1516

BC	& NITRATO	12	-0.4926	-1.7897	0.1038
BC	& AMONIO	12	0.4407	1.5525	0.1516
BC	& FOSFATOS	12	0.0259	0.0820	0.9363
BA	& GRUPO	15	0.2811	1.0563	0.3101
BA	& ESPECIE	15	0.3273	1.2490	0.2337
BA	& TALLA	15	0.3408	1.3072	0.2138
BA	& TEMPERAT	13	-0.4321	-1.5892	0.1403
BA	& PH	11	-0.4595	-1.5520	0.1551
BA	& SALINIDA	13	0.4404	1.6267	0.1321
BA	& OX=GENO	11	-0.4595	-1.5520	0.1551
BA	& NITRITO	12	0.4422	1.5589	0.1501
BA	& NITRATO	12	-0.4422	-1.5589	0.1501
BA	8 AMONIO	12	0.4422	1.5589	0.1501
BA	& FOSFATOS	12	-0.1769	-0.5682	0.5824
CC	& GRUPO	15	-0.6007	-2.7094	0.0179
CC	& ESPECIE	15	-0.2619	-0.9784	0.3457
CC	& TALLA	15	-0.6636	-3.1980	0.0070
CC	& TEMPERAT	12	0.4746	1.7053	0.1190
CC	& PH	10			
CC	& SALINIDA	12	0.0678	0.2149	0.8342
CC	& OX=GENO	10			
CC	& NITRITO	13	-0.6804	-3.0794	0.0105
CC	& NITRATO	13	0.6804	3.0794	0.0105
CC	& AMONIO	13	0.4990	1.9096	0.0826
CC	& FOSFATOS	13	-0.5897	-2.4216	0.0339
DC	& GRUPO	15	0.2155	0.7956	0.4406
DC	& ESPECIE	15	0.1000	0.3624	0.7229
DC	& TALLA	15	-0.1638	-0.5987	0.5597
DC	& TEMPERAT	12	0.1608	0.5153	0.6176
DC	& PH	10	-0.1953	-0.5633	0.5886
DC	& SALINIDA	12	0.1343	0.4285	0.6774
DC	& OX=GENO	10	-0.1953	-0.5633	0.5686
DC	& NITRITO	13	-0.4088	-1.4857	0.1654
DC	& NITRATO	13	-0.1076	-0.3589	0.7265
DC	& AMONIO	13	-0.0215	-0.0714	0.9444
DC	& FOSFATOS	13	-0.0645	-0.2145	0.8341
EC	& GRUPO	18	-0.1181	-0.4758	0.6406
EC	8 ESPECIE	18	-0.2673	-1.1094	0.2837
EC	& TALLA	17	-0.2983	-1.2105	0.2448
EC	& TEMPERAT	16	0.2707	1.0520	0.3106
EC	& PH	13	0.1530	0.5137	0.6177
EC	& SALINIDA	16	-0.0553	-0.2074	0.8387
EC	& OX=GENO	13	-0.1020	-0.3402	0.7401
EC	& NITRITO	17	0.1592	0.6247	0.5416
EC	& NITRATO	17	0.0724	0.2811	0.7825
EC	8 AMONIO	17	0.0724	0.2811	0.7825
EC	& FOSFATOS	17	-0.2171	-0.8616	0.4025

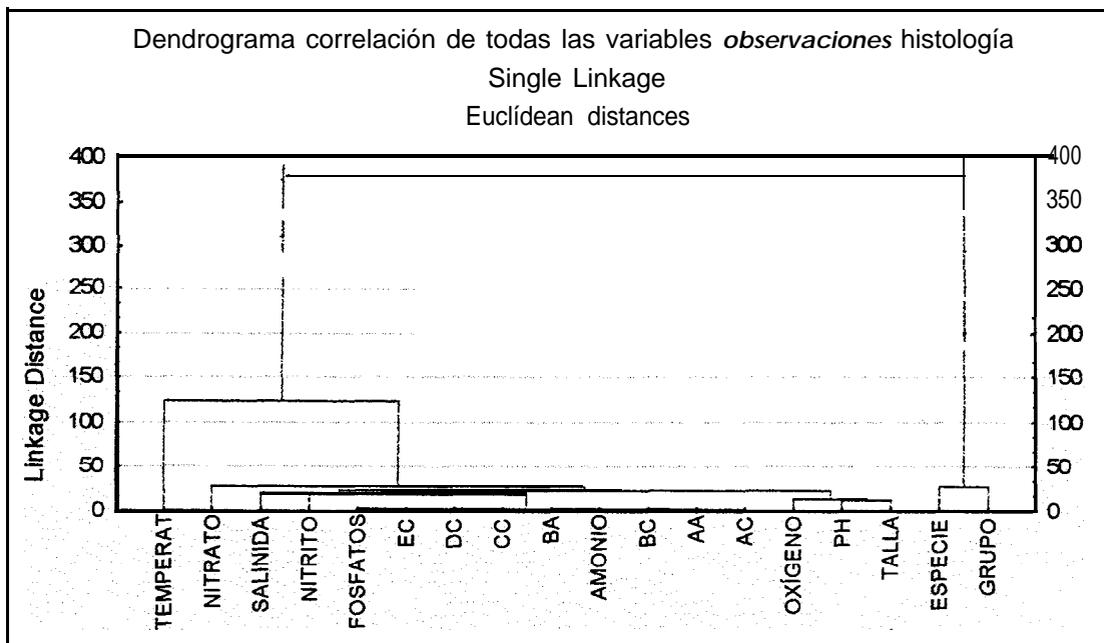


Figura 2.- Dendrograma de correlaciones de todas las variables en observaciones de histología permanente.

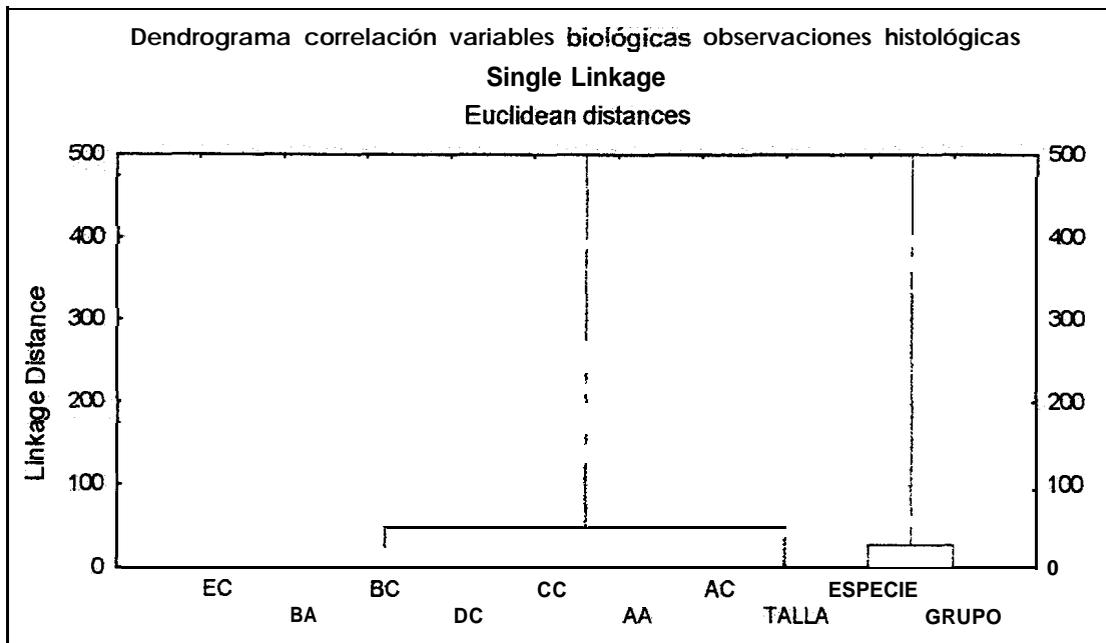


Figura 3.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables biológicas en observaciones de histología permanente.

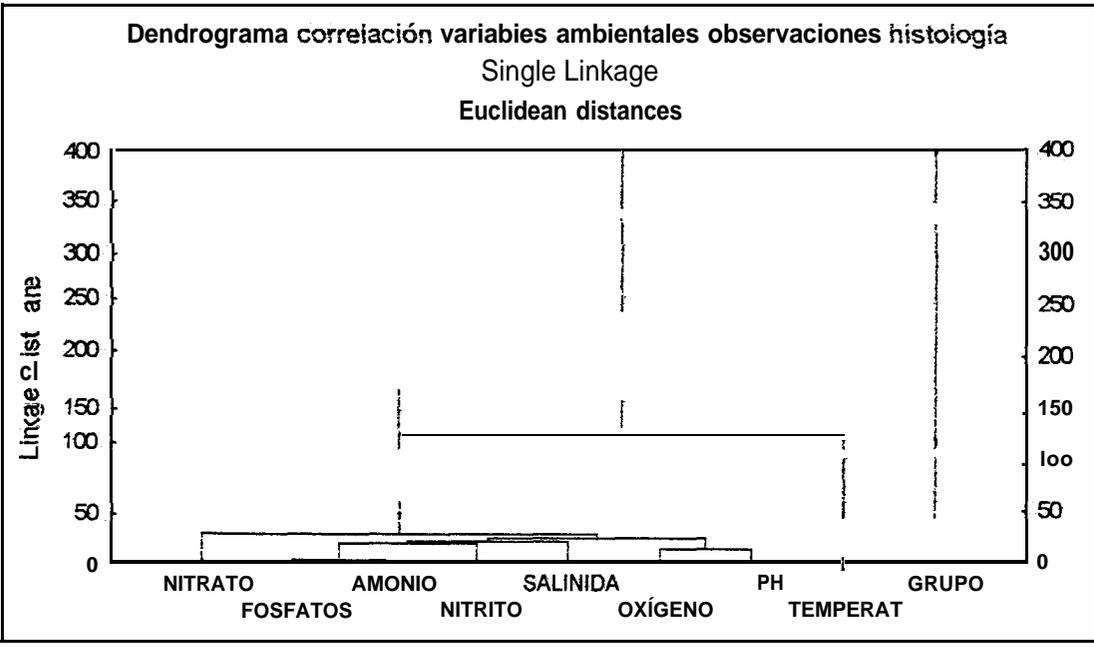


Figura 4.- Dendrograma de con-elaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables ambientales en observaciones de histología permanente.

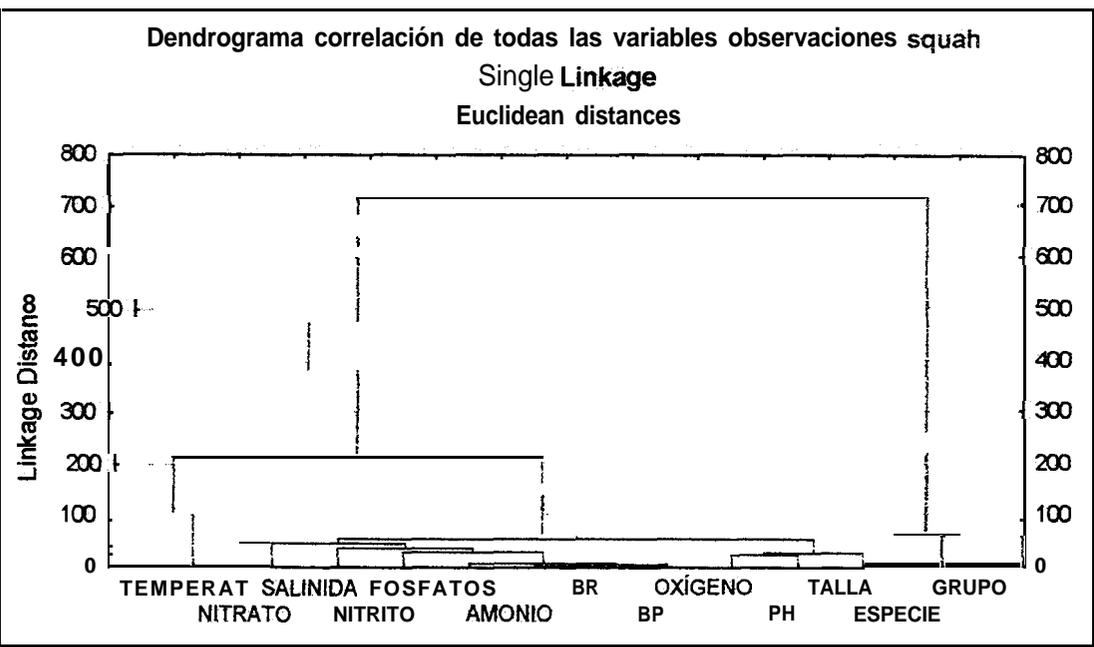


Figura 5.- Dendrograma de correlaciones de todas las variables en observaciones de histología semipermanente.



Dendrograma correlación variables biológicas observaciones squash
Single Linkage
Euclidean distances

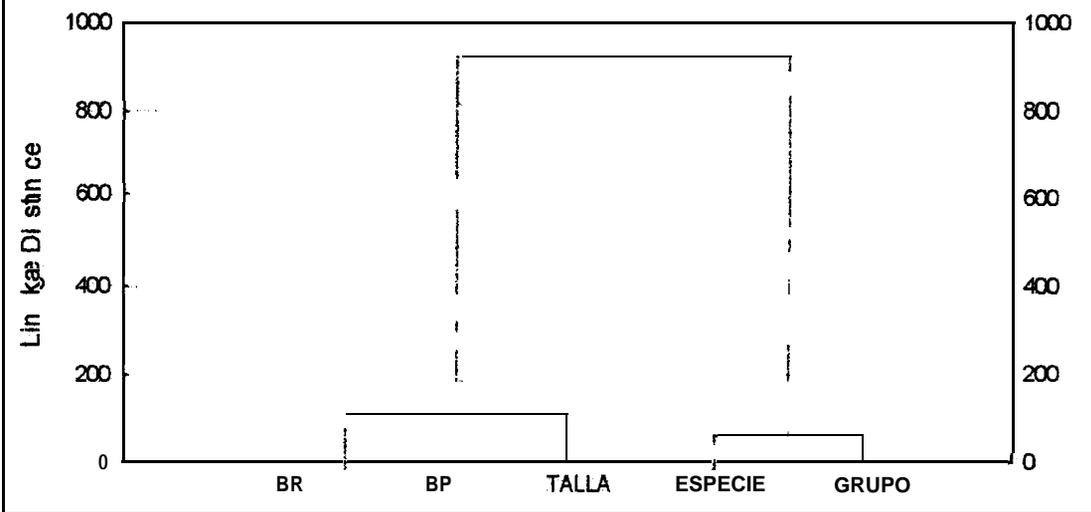


Figura 6.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables biológicas en observaciones de histología semipermanente.

Dendrograma correlación variables ambientales observaciones squash
Single Linkage
Euclidean distances

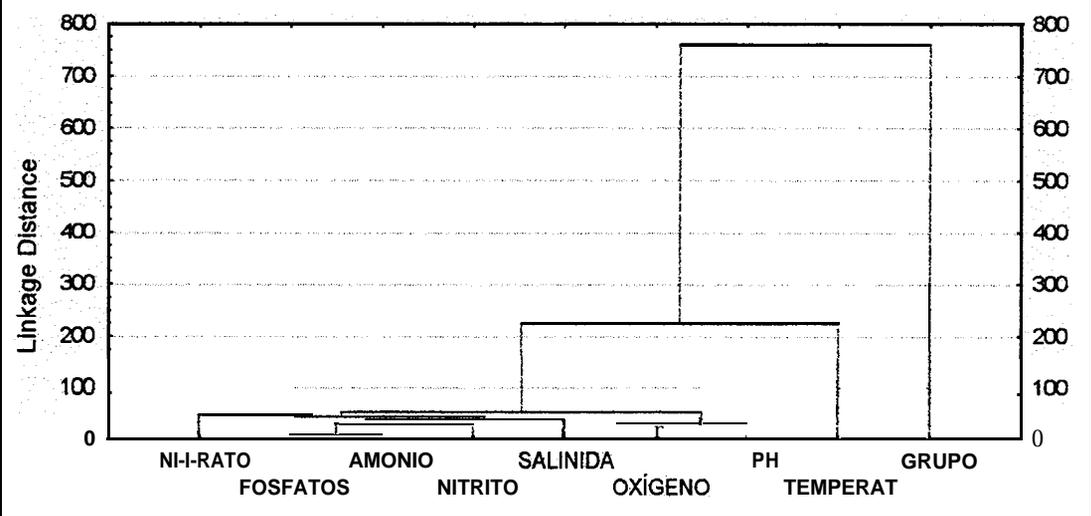


Figura 7.- Dendrograma de correlaciones de la presencia de organismos epibiontes y las variables ambientales en observaciones de histología **semipermanente**.

ANEXO RESULTADOS GRAFICOS

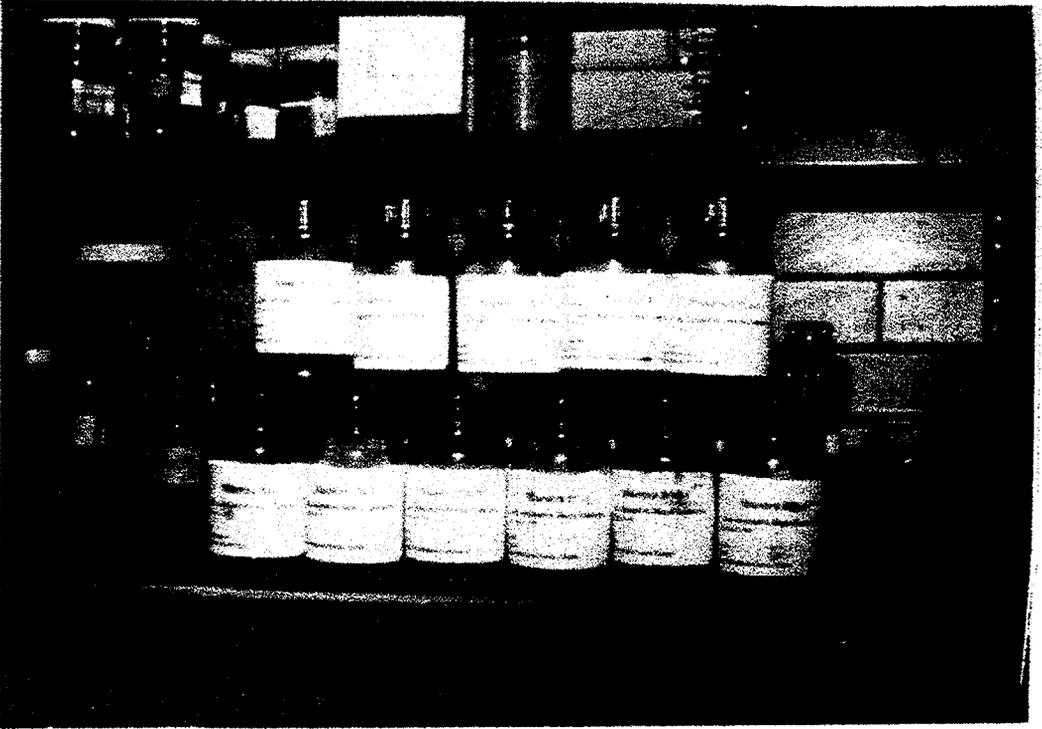


Foto 1.- Detalles de muestras de agua colectada en cada uno de los lugares de muestreo. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – **MEX**, Junio 1998.

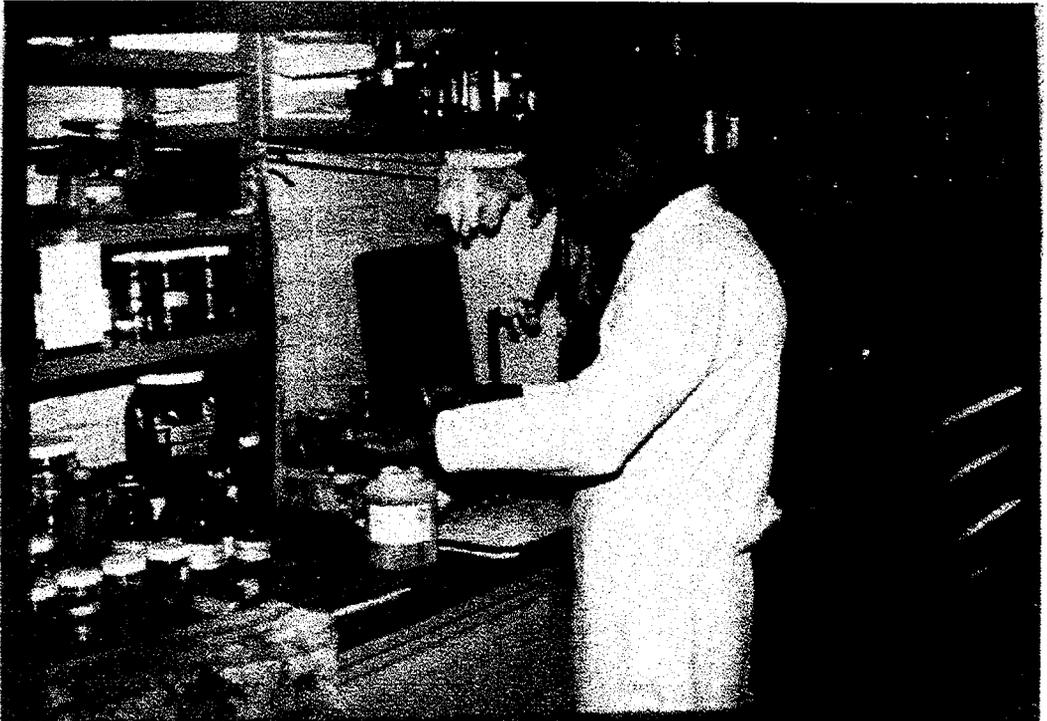


Foto 2.- Toma de organismos para disección y squash; Luis Alejandro Daqui. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – **MEX**, Junio 1998.

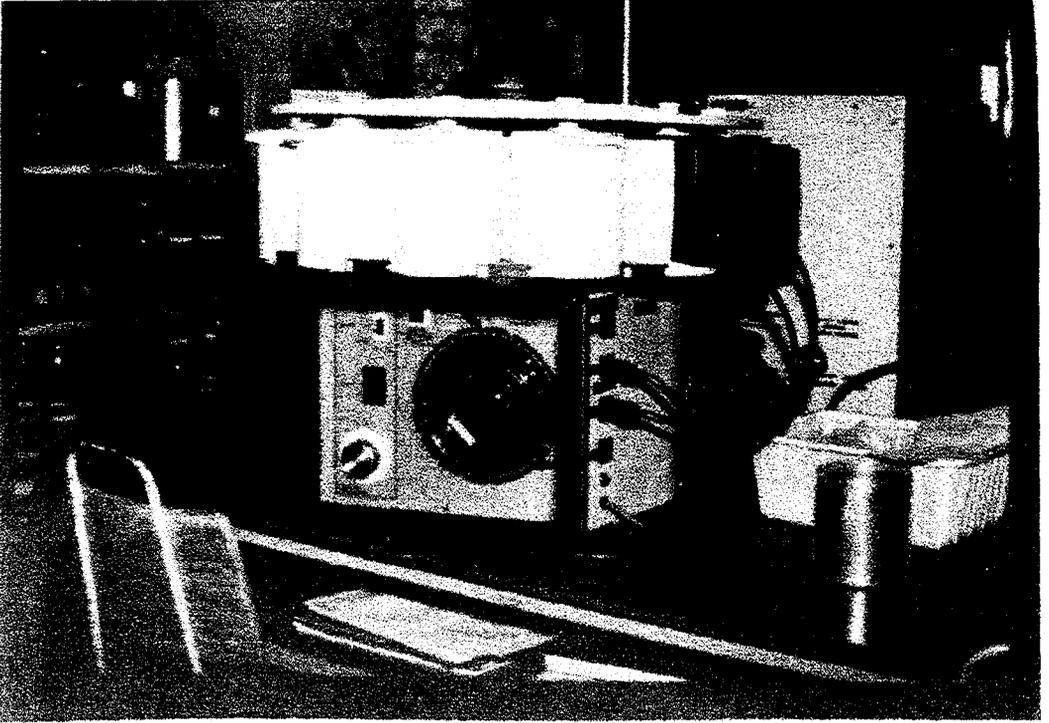


Foto 3.- Detalle del histoquinet, para deshidratación de tejidos en histología. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998.

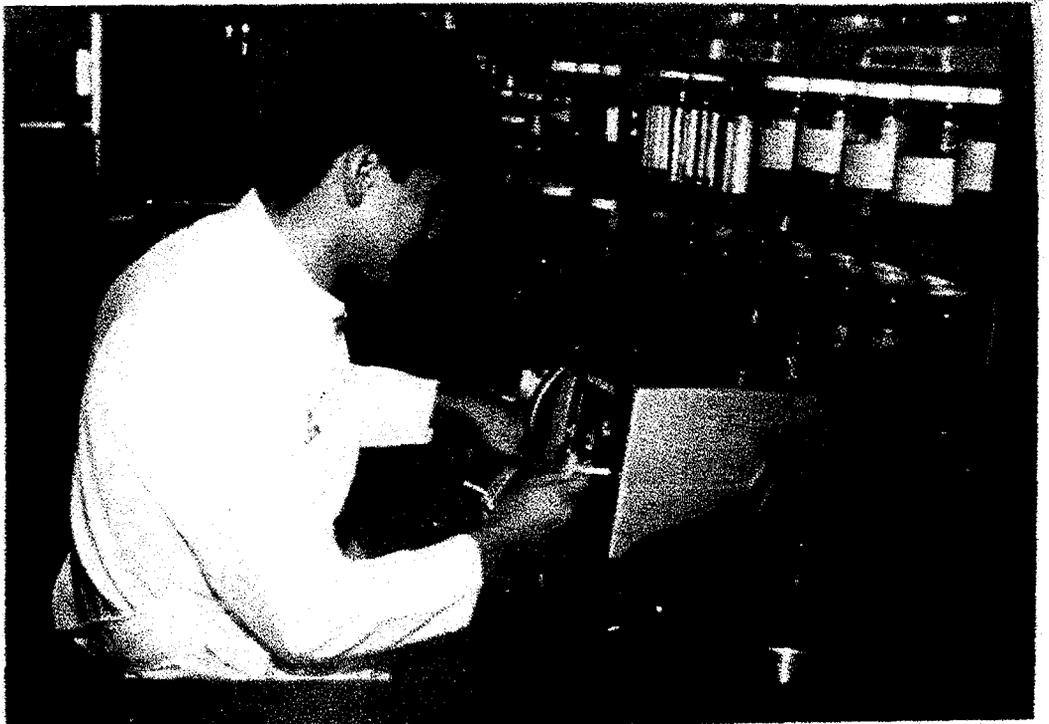


Foto 4.- Corte de cubos con tejidos incluidos en parafina; Luis Alejandro Daqui. Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias, UNAM, México DF – MEX, Junio 1998.

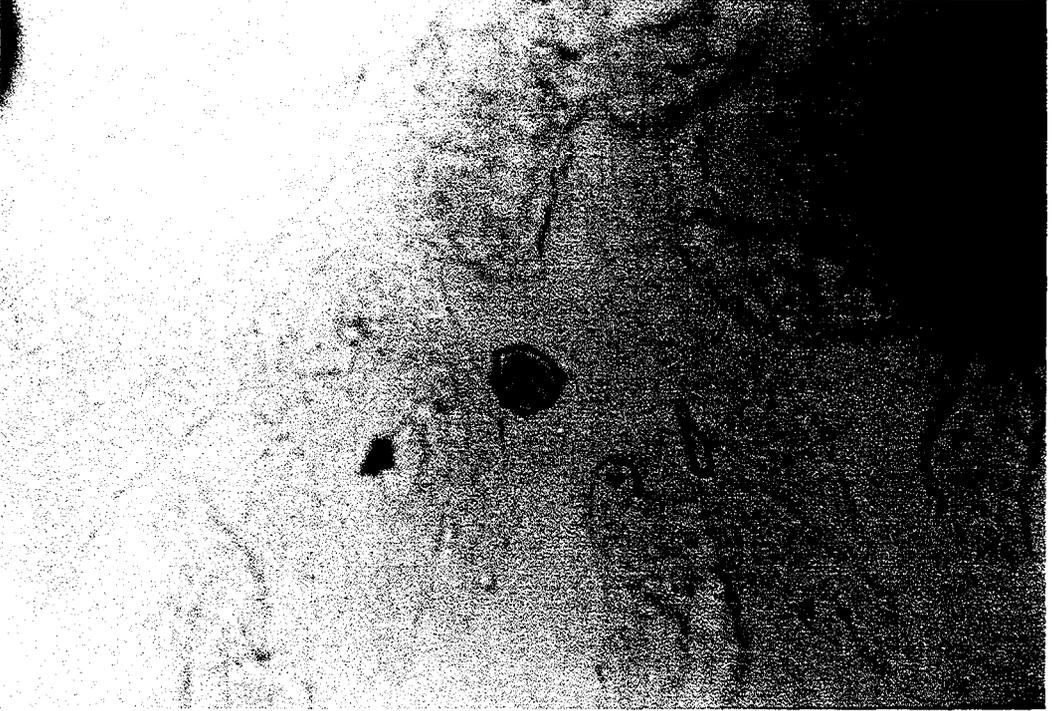


Foto 5.- *Acineta* sp., encontrado en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Isla Mondragón, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 312,5x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.



Foto 6.- *Acineta* sp., encontrado en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Isla Mondragón, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 500x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.

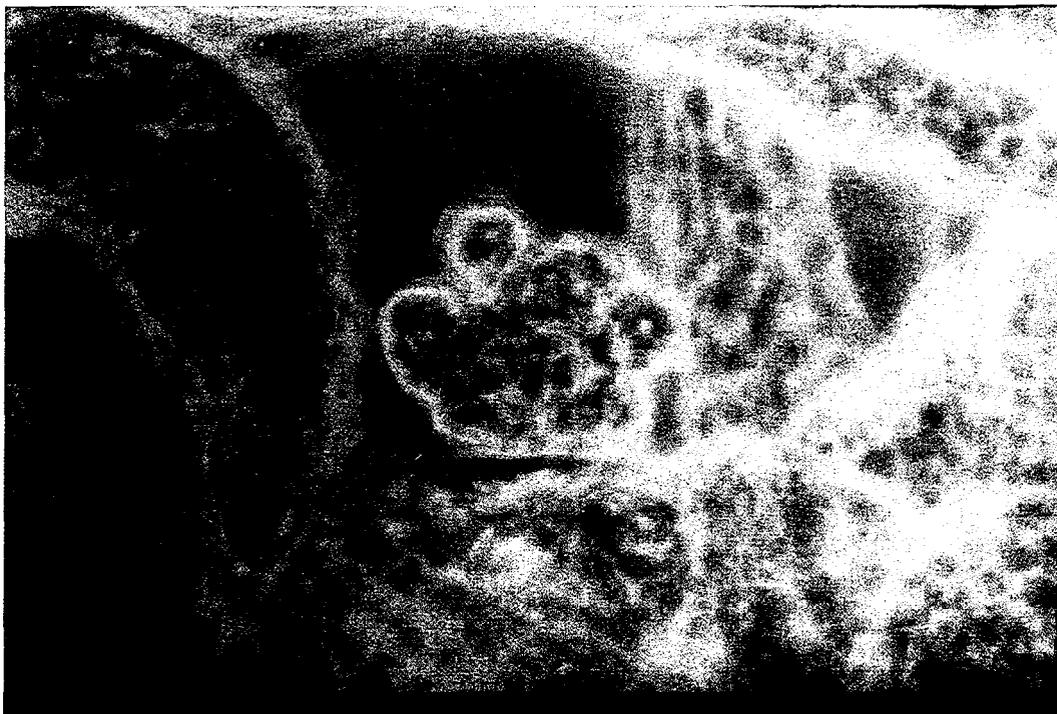


Foto 7.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp., encontrados en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de contrastes de fases, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.

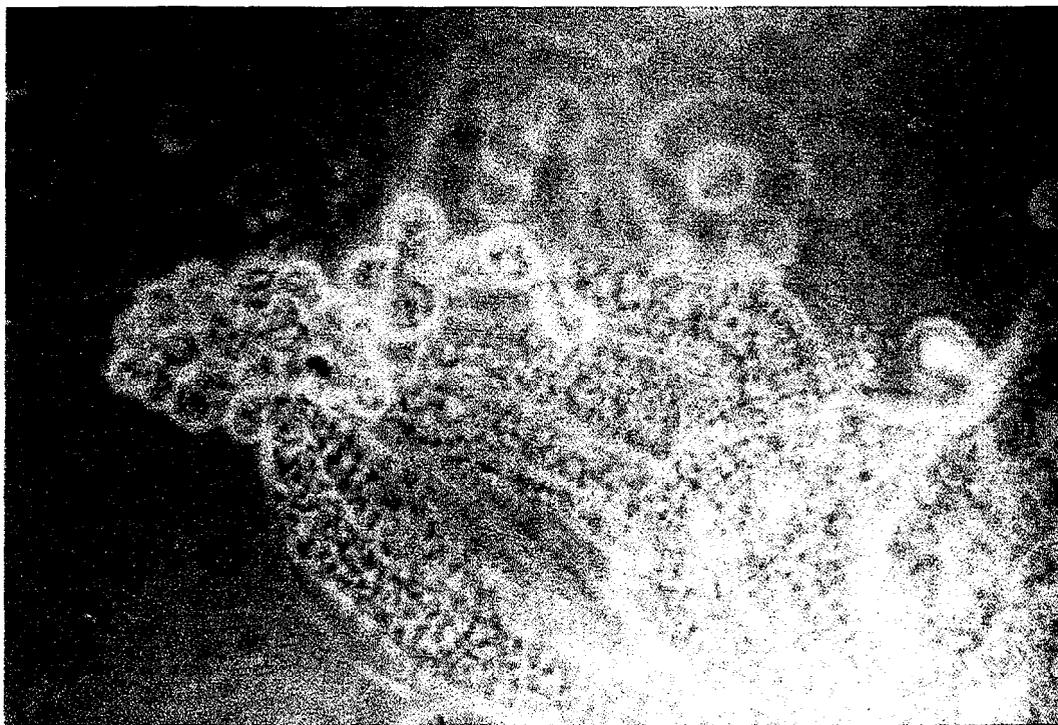


Foto 8.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp. y *Acineta* sp., encontrados en branquias de camarones *Litopenaeus stylirostris* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de contraste de fases, 500x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.

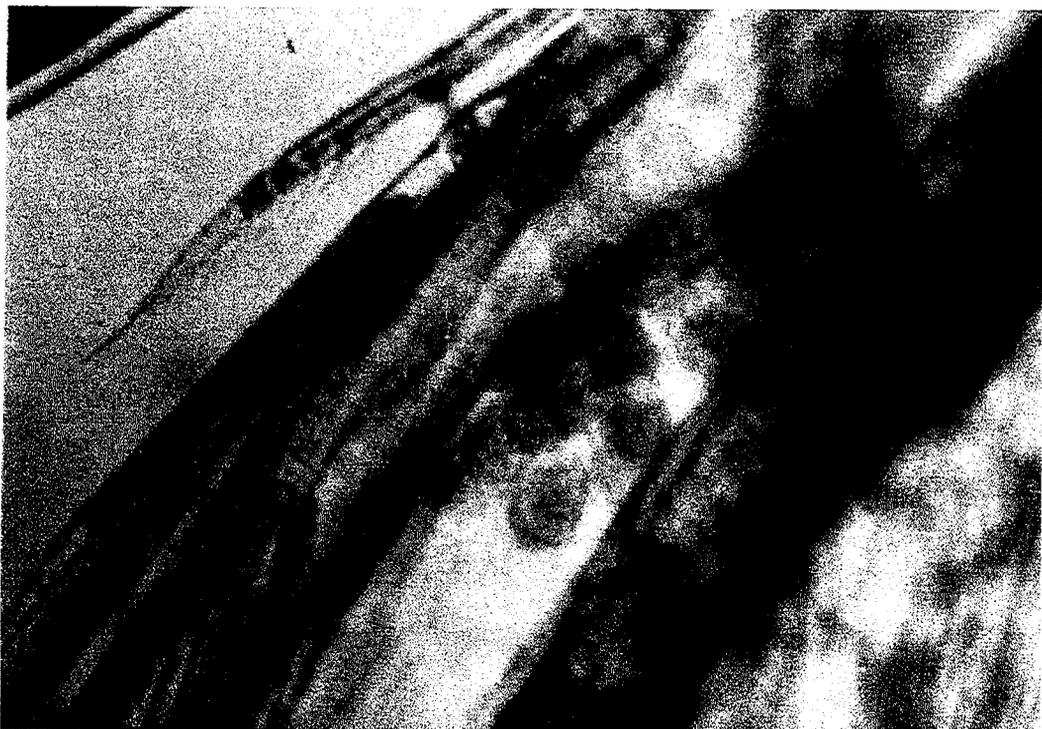


Foto 9.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp. en apéndices locomotores de *Litopenaeus stylirostris* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de contraste de fases, 312,5x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.

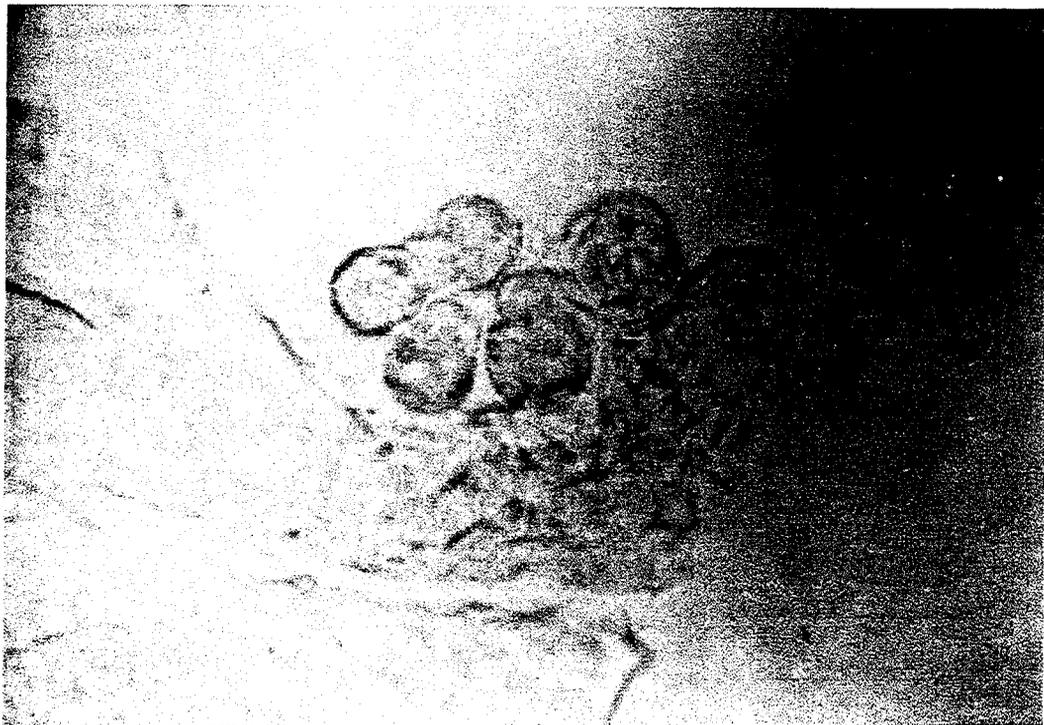


Foto 10.- Protozoarios ciliados apistomados encontrados en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.

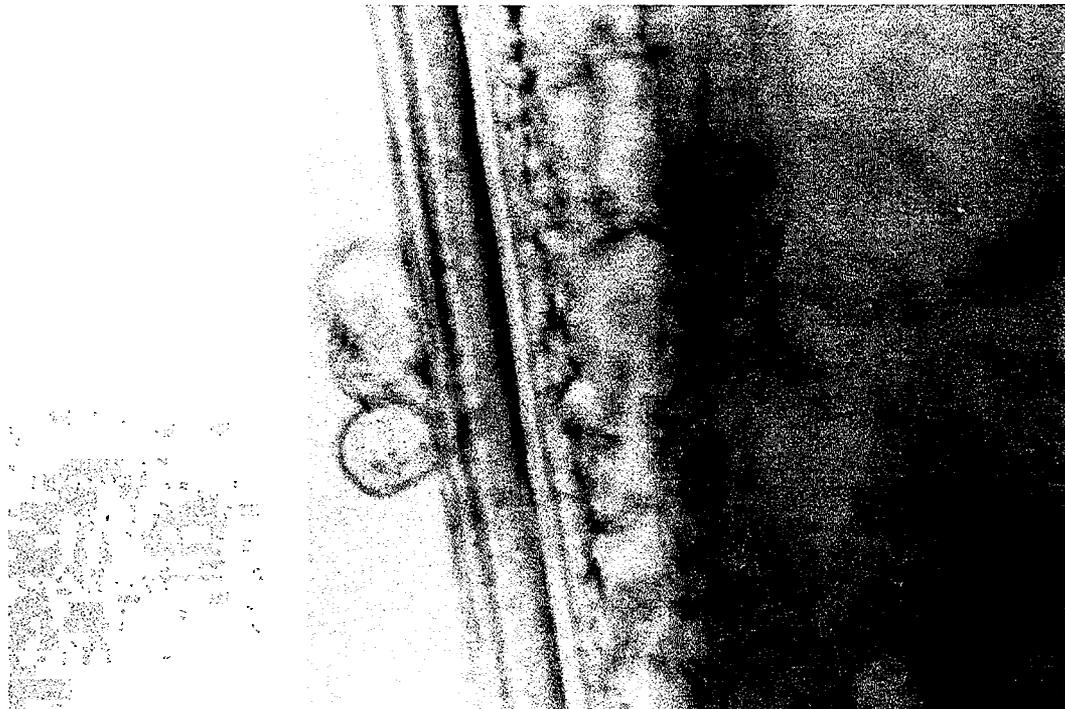


Foto 11.- Protozoarios ciliados apistomados encontrados en la cutícula del quinto par de pereopodos de *Litopenaeus stylirostris* colectados en la zona de Puerto Hondo, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 125x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.



Foto 12.- Protozoarios epibiontes *Zoothamnium* sp. en branquias de *Litopenaeus vannamei* colectados en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 1250x, preparaciones squash, tinción con azul de metileno alcohólico 1%.



Foto 13.- Ciliados del género *Zoothamnium* en los intersticios de las bases de las branquias, junto a tejido nervioso, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de luz, **200x**, histología permanente, **tinción H&E** variante de Gil.



Foto 14.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epystilis* y ciliados apostomados en los intersticios de las bases **lamelas** branquiales, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de luz, **40x**, histología permanente, corte longitudinal, **tinción H&E** variante de Gil.



Foto 15.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epystilis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 100x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil.

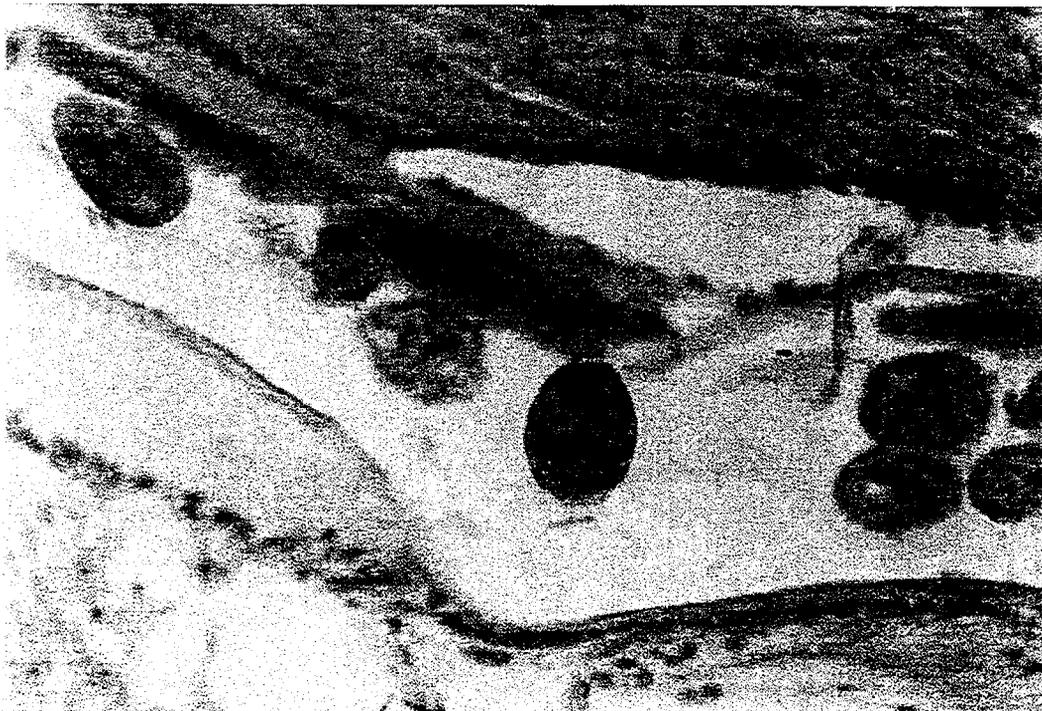


Foto 16.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epystilis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre. Muestra colectada en un estero de la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 200x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil.

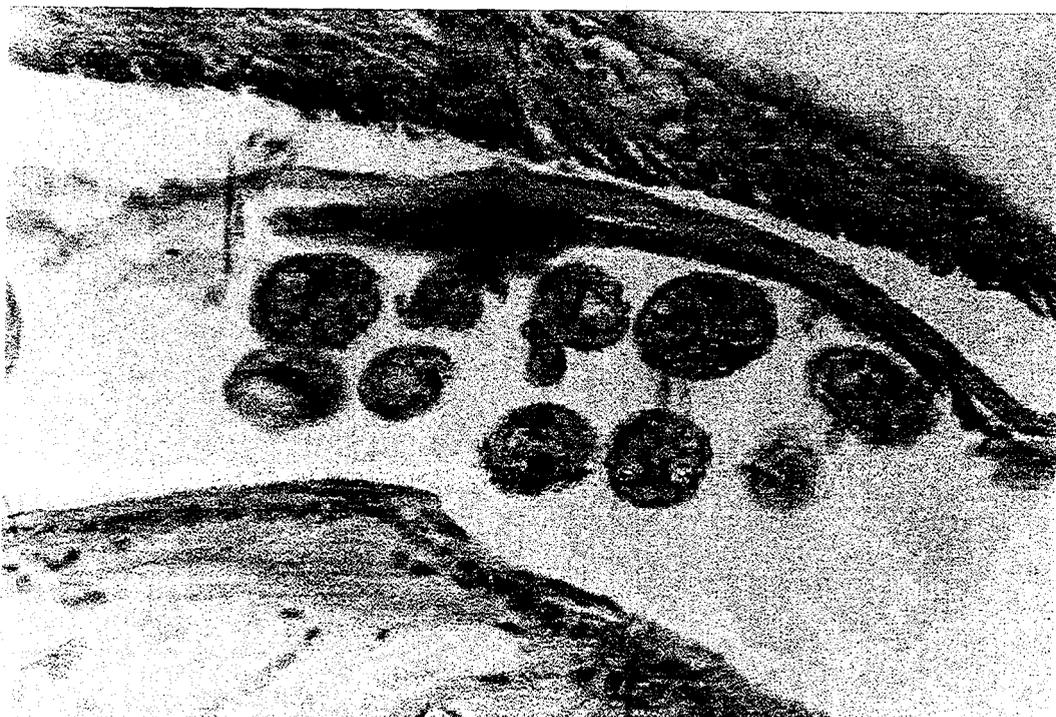


Foto 17.- Ciliados del género *Zoothamnium* y *Epystilis* y ciliados apostomados (ovoidales con caras planas, sin núcleo visible), junto a tejido muscular, de camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 200x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil.

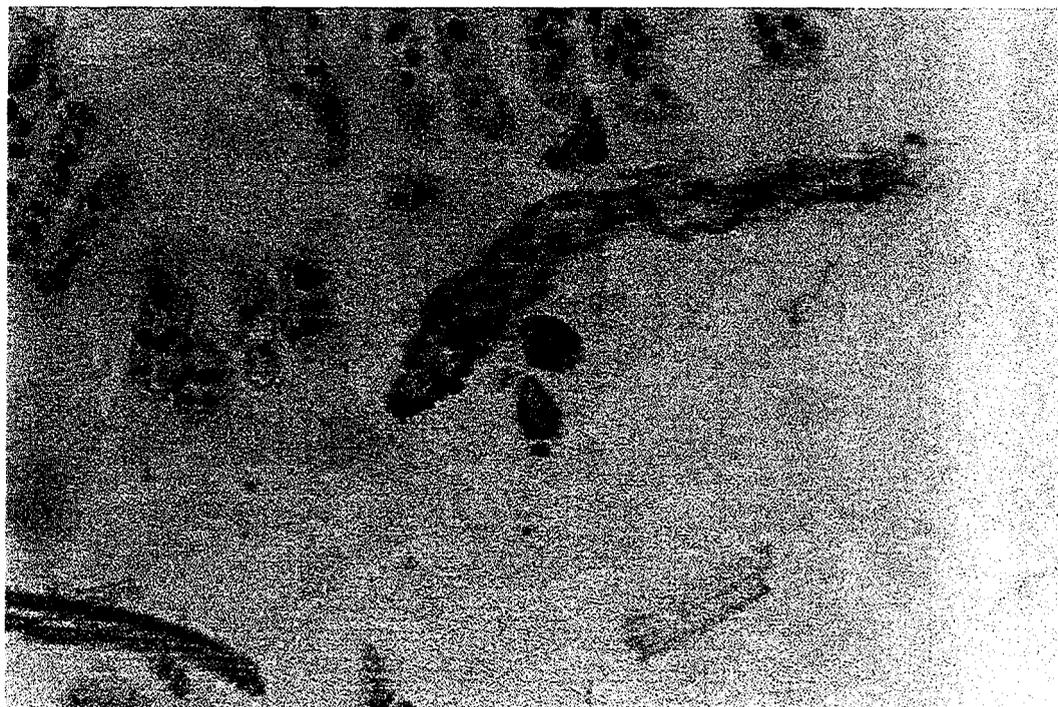


Foto 18.- Ciliados del género *Zoothamnium* sp. en los intersticios de las lamelas branquiales. Nótese los pies de fijación, y lamelas inflamadas. Camarón *Litopenaeus vannamei* silvestre colectado en un estero de la zona de Sabana Grande Provincia del

Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de luz, **200x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil.



Foto **19.-** Delaminación de la cutícula interna de la cámara branquial producida por la fijación de protozoarios ciliados *Zoothamnium*. No se observa inflamación de las lamelas branquiales. *Litopenaeus vannamei* colectado en la zona del Puerto de Balao, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, **200x**, histología permanente, corte longitudinal, tinción **H&E** variante de Gil.



Foto **20.-** Fuerte infestación de protozoarios ciliados *Zoothamnium*. Se observa inflamación con necrosis del epitelio cuticular de las lamelas branquiales. *Litopenaeus stylirostris*

colectado en la zona de Sabana Grande, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. Microscopía con sistema de luz, 100x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil.



Foto 21.- **Vans** deferens en el punto de unión con la gónada, no se observa presencia de protozoarios microsporídeos en las bases de la gónada. Nótese el tejido gonadal envolviendo el **vans** deferens en estadio juvenil e inmaduro. *Litopenaeus stylirostris* colectado en la zona del Puerto de **Balao**, Provincia del Guayas – Ecuador, Mayo de 1998. **Microscopía** con sistema de luz, 100x, histología permanente, corte longitudinal, tinción H&E variante de Gil.