

ESCUELA SUPERIOR
POLITECNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERIA MARITIMA
Y CIENCIAS DEL MAR



"Uso de Furazolidona y Cloranfenicol y su efecto en la sobrevivencia, peso, tamaño y resistencia a stress, en los estadios de misys del camarón marino *Penaeus vannamei*."

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

ACUICULTOR

Presentada por:

Harry Avilés M.

Guayaquil - Ecuador

1991

DEDICATORIA

A mis padres y familiares que me
apoyaron durante el transcurso
de mis estudios.



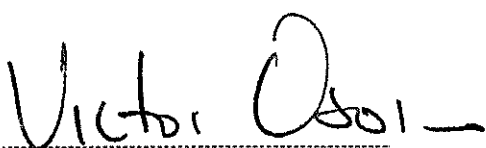
AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, en primer lugar. A mis padres, a mi director de Tesis, y demás profesores que fueron formandome en esta noble institución. También a mis compañeros con los cuales luche durante el transcurso de la carrera.

M. Sc. Edgar Arellano Moncayo
Presidente del Tribunal



M. Sc. Edgar Arellano Moncayo
Director de Tesis


M. Sc. Víctor Osorio Cevallos
Jurado Principal

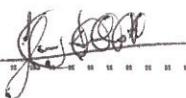

Dr. Nicolás Campaña Gómez
Jurado Principal



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MANIZABA

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".


.....

Harry Avilés Macías



BIBLIOTCA
DEL RG.
MASILIA

MSC. EDGAR ARELLANO M.

Director de Tesis

RESUMEN

Para determinar si existe una influencia de los antibióticos, en larvas del camarón, en lo que respecta a su capacidad de resistencia y su biometría, se realizaron pruebas en el camarón marino Penaeus vannamei (Desde misys 1 hasta postlarva 1).

Se tomaron datos de sobrevivencia, peso, longitud cefalotorácica con rostrum (LCR), longitud cefalotorácica sin rostrum (LCB) y se realizaron pruebas de stress tanto de temperatura (T°C) como de salinidad (‰.).

Se utilizó para los ensayos dos antibióticos, el cloranfenicol y el furazolidona. En cada antibiótico se utilizó tres concentraciones, siendo para el Furazolidona: 0.5 ppm como concentración mínima (T1), 0.75 ppm como concentración media (T2) y 1.0 ppm como concentración máxima (T3). Para el Cloranfenicol : 1.0 ppm como mínima concentración (T1), 5.5 ppm como concentración media (T2) y 10.0 ppm como concentración máxima (T3).

El uso de las concentraciones de los tratamientos uno y tres (T1 y T3) fueron resultado de sondeo en diferentes laboratorios de la Península de Sta. Elena y de datos

encontrados en la literatura. Se determinó que no existe una influencia de la calidad de nauplios, ya que estos son de similar característica, es decir provinieron de una misma fuente.

Los resultados demostraron, que con el uso de concentraciones mayores de los antibióticos (T3) se obtiene mayor supervivencia, siendo directamente proporcional la concentración del antibiótico con respecto a la sobrevivencia al final de los ensayos, esto fue igual para los dos antibióticos ($P = 0.1$).

El peso de las larvas no fue afectados por la ausencia o presencia del antibiótico y tampoco fue afectado por las concentraciones de los mismos ($P = 0.1$).

En el caso de la longitud cefalotorácica con rostrum (LCR) tanto para el furazolidona y el cloranfenicol, no fue afectado significativamente, siendo el control igual que los tratamientos ($P = 0.1$). Para el caso del Furazolidona; los resultados del control fue significativamente mayor su longitud con respecto al tratamiento tres, siendo igual a los tratamientos 1 y 2. ($P = 0.1$). Con el cloranfenicol el control mantuvo una igualdad de longitudes con respecto a los tres tratamientos. ($P = 0.10$).

En las pruebas de resistencia al stress, tanto de salinidad (S./‰) como de temperatura (T°C), se encontró que el control mantuvo significativamente mayor resistencia que tratamientos y de estas la mayor resistencia entre los tratamientos fue la concentración mínima o T1.

Determinando, por lo tanto que si existe una influencia de los antibióticos sobre las larvas en estos estadios (Mysis 1 a PL'S 1) disminuyendo su capacidad de resistencia y por ende a una posible no adaptación a condiciones adversas en el medio, aspecto que requiere mayor investigación.

INDICE GENERAL

PAG.
INDICE
PAG. IND.
MARITIMA

RESUMEN _____	6
INDICE GENERAL _____	9
INDICE DE FIGURAS _____	11
INDICE DE FOTOS _____	12
INDICE DE TABLAS _____	13
INDICE DE GRAFICOS _____	14
INTRODUCCION _____	16
I.- CAPITULO No. 1	
1.1 MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DEL CAMARON PENAEUS ____	20
1.2 RESEÑA SOBRE EL CULTIVO DEL CAMARON PENAEUS VANNAMEI EN LABORATORIO _____	31
II.- CAPITULO No. 2	
2.1 DESCRIPCION DE EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS	39
2.2 COMPORTAMIENTO Y EFECTO DE LOS ANTIBIOTICOS EN ORGANISMOS BIOACUATICOS _____	45
2.3 SELECCION Y DESCRIPCION DE LOS ANTIBIOTICOS - EMPLEADOS _____	47
2.4 SELECCION Y DESCRIPCION DEL METODO DE ADMINIS- TRACION DE LOS ANTIBIOTICOS _____	56

III. CAPITULO No. 3

3.1 DESCRIPCION DEL SISTEMA USADO PARA EL ENSAYO -	64
3.2 DOSIFICACION DE ANTIBIOTICOS PARA EL ENSAYO --	70
3.3 METODOLOGIA DEL ENSAYO _____	72
3.4 PRUEBAS DE STRESS _____	91

IV. CAPITULO No. 4

4.1 ANALISIS DE RESULTADOS _____	95
4.2 ANALISIS ESTADISTICO _____	126
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES _____	130
BIBLIOGRAFIA _____	141

INDICE DE FIGURAS

	PAG.
FIG. 1.1 MORFOLOGIA DEL CAMARON PENAEUS _____	23
FIG. 1.2 FISILOGIA DEL CAMARON PENAEUS _____	24
FIG. 1.2 FISILOGIA DEL CAMARON PENAEUS _____	26
FIG. 2.1 TANQUE PARA BANO MARIA _____	40
FIG. 2.2 REJILLAS PARA SOPORTE DE BOTELLAS _____	41
FIG. 2.3 FLAUTA PARA DISTRIBUCION DE AIRE AL SISTEMA	42
FIG. 3.1 TANQUE CON TERMOSTATOS _____	67
FIG. 3.2 BOTELLAS _____	68

INDICE DE FOTOS

	PAG.
FOTO 1. DESINFECCION DE BOTELLAS _____	74
FOTO 2. SECADO DE BOTELLAS _____	75
FOTO 3. TERMOSTATOS _____	66
FOTO 5. BOTELLAS SECAS EN SERIE _____	77
FOTO 6. SOLUCIONES MADRES Y PIPETAS _____	82
FOTO 7. LAS DOS LONGITUDES L.C.B Y L.C.R. _____	88
FOTO 8. L.C.R. _____	88
FOTO 9. MICROSCOPIOS CON PIPETAS Y TARRINAS _____	90
FOTO 10. PRUEBAS DE STRESS _____	97

INDICE DE TABLAS

	PAG.
1. PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA (FURAZOLIDONA) _____	97
2. PESO INICIAL, TIEMPO E INCREMENTO _____	98
3. LONGITUDES CEFALOTORAXICA CON ROSTRUM _____	99
4. LONGITUDES CEFALOTORAXICA SIN ROSTRUM _____	100
5. PRUEBA DE STRESS POR SALINIDAD A - B _____	101
6. PRUEBA DE STRESS POR SALINIDAD a - b _____	101
7. PRUEBA DE STRESS POR TEMPERATURA A - B _____	102
8. PRUEBA DE STRESS POR TEMPERATURA a - b _____	102
9. PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA POR CLORANFENICOL ____	103
10. PESO INICIAL, FINAL E INCREMENTO CON CLORANF. ____	104
11. LONGITUDES CEFALOTORAXICA CON ROSTRUM _____	105
12. LONGITUDES CEFALOTORAXICA SIN ROSTRUM _____	106
13. PRUEBA DE STRESS POR SALINIDAD D - B _____	107
14. PRUEBA DE STRESS POR SALINIDAD C - D _____	107
15. PRUEBA DE STRESS POR TEMPERATURA A - B _____	108
16. PRUEBA DE STRESS POR TEMPERATURA C - B _____	108



INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
Y PESQUERIAS
DE CHILE

INDICE DE GRAFICOS

PAG.

1. SUPERVIVENCIA EN TRATAMIENTO CON FURAZOLIDONA	109
2. INCREMENTO EN PESO EN TRATAMIENTO CON FURAZOA.	110
3. INCREMENTO DE LONGITUD CEFALOTORAXICA CON ROSTRUM	111
4. INCREMENTO DE LONGITUD CEFAL. SIN ROSTRUM	112
5. PRUEBA DE STRESS DE SALINIDAD CON TRATAMIENTOS CON FURAZOLIDONA	113
6. PRUEBAS DE STRESS DE SALINIDAD CON TRATAMIENTOS A-B FURAZOLIDONA	114
7. PRUEBA DE STRESS DE TEMPERAT. CON TRAT. C - D	115
8. PRUEBA DE STRESS DE TEMPERATURA CON TRAT. A - B	116
8.1 PRUEBA DE STRESS DE TEMP. CON TRAT. C - D	117
9. SOBREVIVENCIA EN TRAT. CON CLORANFENICOL	118
10. INCREMENTO EN PESO PARA TRATAM. CON CLORANFENICOL	119
11. INCREMENTO DE LONGITUD CEFALOTORAXICA CON ROSTRUM	120
12. INCREMENTO EN LONGITUD CEFAL. SIN ROSTRUM	121
13. PRUEBAS DE STRESS DE SALIN. CON CLORANF. A - B	122
14. PRUEBAS DE STRESS DE SALIN. CLORANFEN. C- D	123
15. PRUEBAS DE STRESS DE TEMPER. CLORANF. A - B	124

16. PRUEBAS DE STRESS DE TEMPERATURA CON CLORANFENICOL

C - D _____ 125

17. STRESS DE TEMPERATURA VS. SUPERVIVENCIA _____ 126



INTRODUCCION

Instituto Tecnológico de Costa Rica
Escuela de Ingeniería de Alimentos
Alajuela, Costa Rica

Investigaciones realizadas sobre el efecto que produce los antibioticos sobre los organismos bio-acuaticos, en este caso el camarón son muy pocos. Efectuando bio-ensayos para determinar algunos efectos sobre larvas de P. vannamei. En este estudio se efectuaron un ensayo y tres réplicas por cada antibiótico.

Los ensayos se realizaron de dos en dos, es decir ocho botellas por cada corrida. En el tanque solo se podía mantener ocho botellas a la vez o sea un ensayo y una réplica, realizándose en total dos corridas por antibiótico o lo que es lo mismo cuatro ensayos por cada antibiótico. Cada ensayo consta de de tres tratamientos (T1, T2 y T3) y un control respectivo.

Se usaron dos antibióticos (Furazolidona y Cloranfenicol); los cuales fueron seleccionados para este estudio, por sus propiedades y su frecuente uso en tratamientos de organismos acuaculturales.

Los tratamientos de los ensayos son standards, con concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0 ppm de furazolidona y de 1.0, 5.5 y de 10.0 ppm de cloranfenicol para T1, T2 y T3 respectivamente, acompañado los tres tratamientos con un control (C) el cual no tiene antibiótico.

El procedimiento utilizado en los ensayos es similar al aplicado en los laboratorios de producción de larvas de camarón y en parte aplicado en el laboratorio de larva de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) en el cual se realiza este trabajo de investigación. Cabe señalar que el cloranfenicol no es utilizado como tratamiento en la ESPOL

En los ensayos se usa larvas en estadios de misys 1, sometiénolas a las concentraciones de los antibióticos en el transcurso de los estadios misys 1, 2 y 3 pasando a postlarva 1, durando aproximadamente tres días en forma constante; excepto un ensayo que duro 10 horas mas de lo normal.

La regularidad del tiempo en que se demoraron las larvas de los ensayos se debió principalmente a que la temperatura se mantuvo mas o menos constante durante todo el ensayo ($27.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Se tomó en consideración para hacer una evaluación en lo posterior de los efectos de los antibióticos sobre las misys lo siguiente:



A) La Supervivencia Final, para lo cual se sembró 70 misys por litro, en recipientes de tres litros con un total de misys sembradas por botella de 210.

B) Peso promedio de las misys sembradas tanto inicial como final evaluando el incremento en peso.

C) Las longitudes, para lo cual se medía la longitud cefalotorácica más el rostrum (LCR) y la longitud cefalotorácica sin el rostrum (LCB), con la ayuda de un microscopio marca Nikon el cual consta de un ocular con escala (0 - 100 UM) para la lectura de las dos longitudes. Tomada la LCR y LCB tanto inicial como final se determinó el incremento por longitud.

D) Por último, se determinó la resistencia o vigorosidad de las larvas (control y tratamientos) aplicando pruebas de stress de salinidad y temperatura.

Las pruebas de stress se realizarán una vez terminado el tratamiento de las larvas, después de tomar el peso y las longitudes.

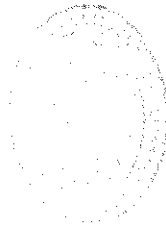
En una tarrina plastica de 250 cc, las cuales ya estaban preparadas con agua ya sea a la temperatura o salinidad adecuada para la realización de dichas pruebas, se coloca 10 postlarva por cada tarrina y despues de cierto tiempo se determinó la sobrevivencia por cada tarrina, realizándose dos o tres veces cada prueba.

El sistema en el cual se realiza los ensayos consta de recipientes de vidrio de tres litros (botellas), contenidos en un tanque de fibra de vidrio el cual se usa como recipiente para el baño María; el agua del tanque de fibra era calentado con cuatro termostatos de 100 w cada uno que se mantenía prendido las 24 horas del día.

El agua se la toma del Sistema Central de Agua del area de larvicultura, la cual era precalentada en la cisterna o reservorio, esto tambien ayudaba a tener siempre temperaturas constante en el sistema del ensayo.

Los antibióticos se suministraban, en forma de solución, para lo cual se preparaba una solución madre, desde la cual se agregaba la concentración deseada en los respectivos tratamientos. La solución se la hacía por dilución del antibiótico en agua filtrada.

La alimentación, recambio y la concentración de EDTA se usaba según tablas que se operaba en el laboratorio en el momento de realizar los ensayos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
MAR DEL PLATA

CAPITULO Nº 1

1.1 RESEÑA DE LA MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DEL CAMARON PENNAEUS.

La morfología y fisiología de los camarones peneidos es muy extensa, estudio de varios textos y por muchos investigadores, se hará una síntesis de su estructura tratando de tomar los principales aspectos, para lo cual se lo ha dividido en :

MORFOLOGIA Y EXOESQUELETO

El genero de los Penaeus, son crustáceos decápodos de simetría bilateral, teniendo su cuerpo protegido por un esqueleto externo segmentado formado por quitina, este esqueleto externo denominado exoesqueleto, está dividido en dos regiones, la primera el cefalotorax (de una sola pieza) y el

abdomen (de varias piezas articuladas), el abdomen es flexible en las articulaciones para permitir el movimiento. Los peneidos presentan en su caparazón incrustaciones de pigmentos como la astaxantina de coloración azul y los carotenoides de varios colores. Las branquias están alojadas en dos cámaras branquiales situadas a ambos lados del cuerpo en la región del cefalotórax y por debajo del exoesqueleto. El agua entra por debajo del caparazón, por las articulaciones de los periopodos y sale hacia la cabeza.

El movimiento rítmico de los periopodos permite una mayor circulación del agua por las branquias por lo tanto una mejor oxigenación.

Las branquias tienen una gran superficie; esta gran superficie permite el intercambio de gases, iones y otras sustancias químicas con el agua.

Los crustáceos pueden sobrevivir grandes periodos fuera del agua siempre que tengan humedad suficiente en las branquias.

MUSCULOS Y LOCOMOCION

Todos los crustáceos decápodos son bentónicos (a excepción de algunos camarones plantónicos). Los peneidos son decápodos nadadores, utilizando el abdomen para movimiento rapidos, contrayéndose rápidamente utilizando el último segmento como remo.

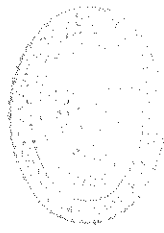
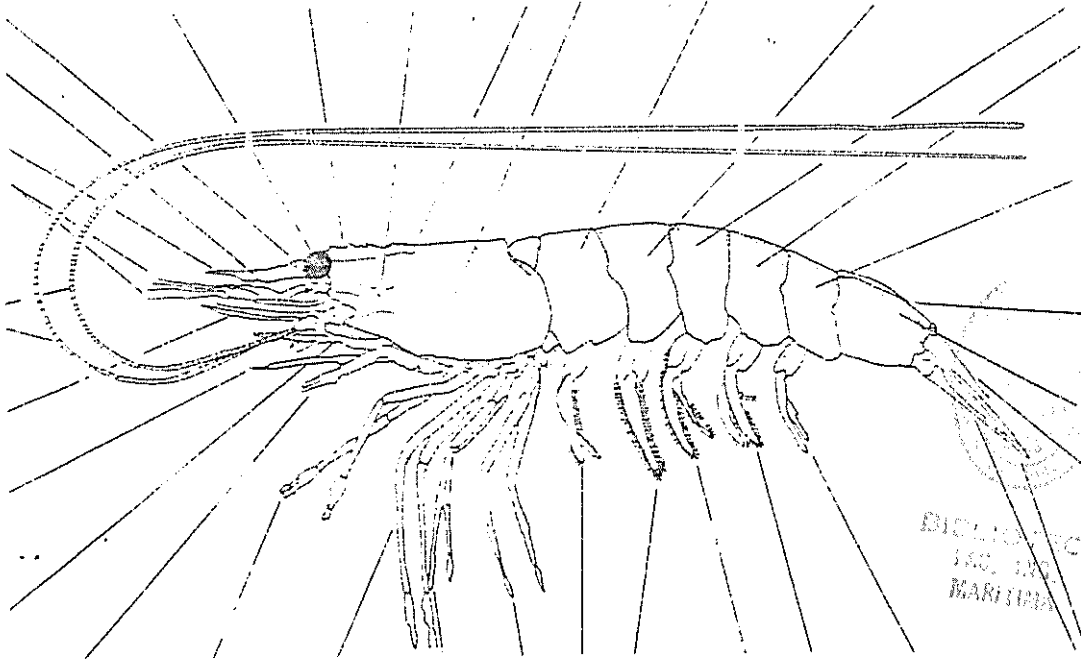


Figura N° 1.1

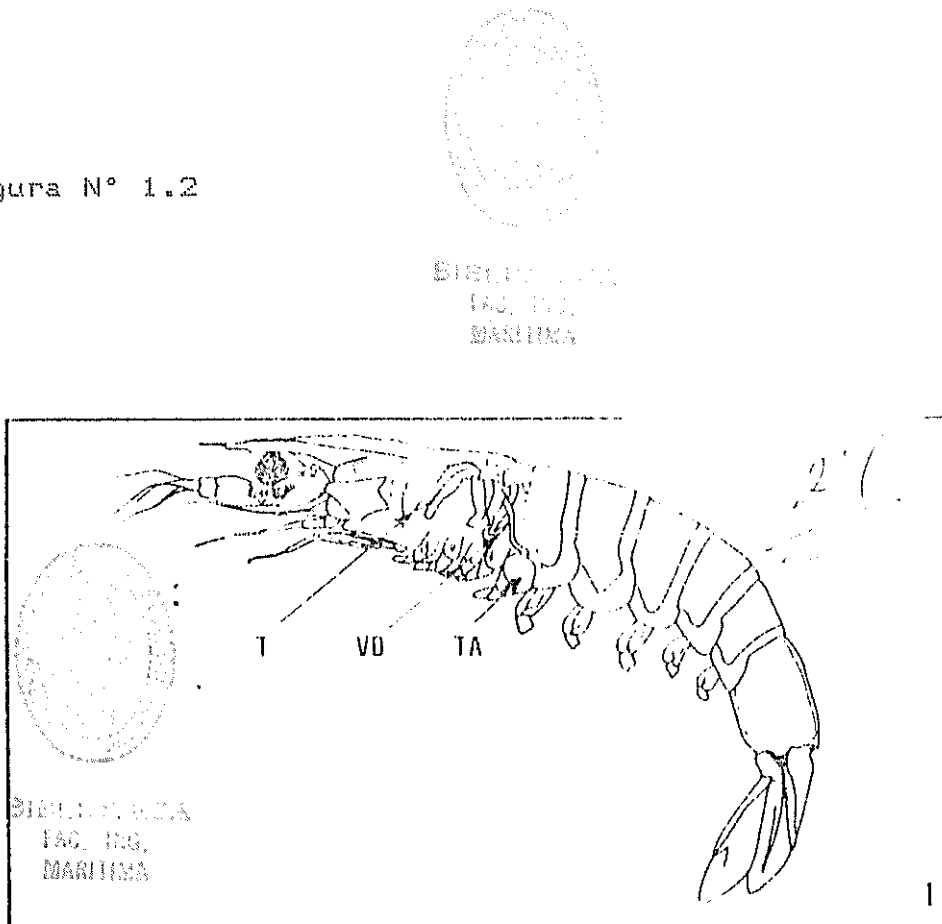
BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARÍTIMA



Texas A&M Pg. 183 Fg. 1

- | | |
|------------------------|------------------------------|
| 1. Cefalotórax | 12. Pleopodos |
| 2. Abdomen | 13. Sexto segmento abdominal |
| 3. Antenulas | 14. Telson |
| 4. Antena | 15. Uropodos |
| 5. Espina antenal | 16. Branquias |
| 6. Rostrum | |
| 7. Ojo | |
| 8. Maxilipedos | |
| 9. Cefalotórax | |
| 10. Periopodos | |
| 11. Segmento Abdominal | |

Figura N° 1.2



Texas A&M Pg. 183 Fg.2

1. Esófago
2. Estómago
3. Hemocoel
4. Hepatopancreas
5. Corazón
6. Intestino
7. Musculo Abdominal.

APARATO RESPIRATORIO

La respiración se realiza a través de las branquias. Las branquias estan situadas a ambos lados del cefalotórax, por debajo del exoesqueleto.

Esta disposición forma dos cámaras branquiales a los lados del cuerpo, por donde circula el agua desde atrás y sale por la cabeza. En general tiene de 6 a 20 pares de branquias.

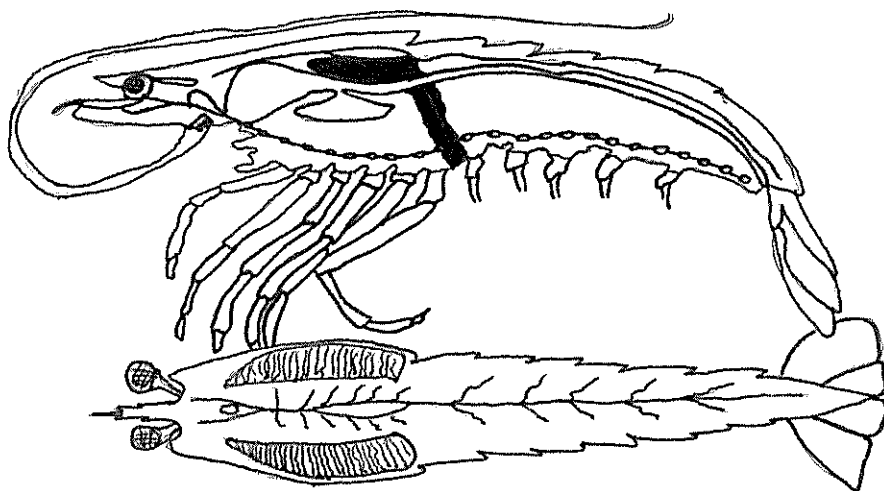
SISTEMA CIRCULATORIO

La circulación es abierta. La sangre sale del corazón (dorsal), distribuyéndose por el cuerpo, donde se extravasa e inunda los tejidos, luego vuelve al corazón pasando por las branquias, donde se oxigena.

La sangre de las peneidos es incoagulable. Las únicas células presentes en la sangre son los glóbulos blancos.

El pigmento respiratorio, hemacianina (que contiene cobre), se encuentra disuelto en el plasma.

Figura N° 1.3



Morales pg. 154 Fg. 31

Corte Longitudinal Vista Lateral (A) y Vista de Arriba (B)

REGULACION OSMOTICA Y EXCRECION

En las altas salinidades marinas, los peneidos son osmoconformes (osmoreguladores), es decir, adaptan su concentración sanguínea a la del mar.

Sin embargo los que viven en menores salinidades tienen que mantener una mayor concentración de la sangre que la del medio.

Los organos excretorios son las glandulas de las antenas. Se encuentran en la cabeza y desembocan en la base de las antenas. Sin embargo la mayor parte del nitrógeno se excreta por las branquias. El nitrógeno se excreta en forma de amoníaco (NH_4^+), principalmente, óxido de trimetilamina y urea, en menor proporción.

APARATO DIGESTIVO

Como regla genaral los peneidos son carnivoros-omnivoros y se alimentan de noche. Pueden alimentarse de presas vivas capturados por ellos o de animales muertos.

La boca está en posición ventral, aconpañada de madibulas (apéndices



BIBLIOTECA
EX. 103.
MADRID

masticadores), un esófago corto lleva el alimento al estómago, que está dividido en dos porciones o cámaras separadas por un estrechamiento.

En la primera cámara (estómago gástrico), el alimento es triturado gracias a un sistema llamado "molino gástrico". En la segunda cámara (estómago pilórico), ocurre la digestión de los alimentos el estómago gástrico y la mitad del pilórico están forrados de quitina que se cambia con cada muda.

El alimento se trocea en la boca y pasa al estómago gástrico. Las paredes del estómago gástrico son musculosas y forradas interiormente de quitina, además de poseer tres dientes opuestos uno contra otro (molino gástrico). Aquí el alimento es triturado y mezclado a un pH de 7-8 con las enzimas digestivas procedentes de las paredes del estómago, lo que le da una fina consistencia. El alimento pasa después al estómago pilórico que está formado por paredes

plegadas constituyendo un verdadero filtro que conduce el alimento a las secreciones del hepatopáncreas. Sólo las partículas finas pasan por el filtro para ser digeridas; las partículas mayores vuelven al estómago gástrico. Las paredes del estómago pilórico son musculosas para ayudar a pasar los alimentos por entre los filtros. El Hepatopancreas segrega enzimas que digieren las proteínas (proteasas), carbohidratos (amilasa, celulasa, quitinasas) y lípidos (lipasa). El alimento pasa al intestino cuya primera parte es, probablemente, absorbido. El alimento no digerido es eliminado en las heces.

Las bacterias y los protozoarios que viven en el tubo digestivo contribuyen a la digestión del alimento, sobre todo, de celulosa y quitina.

SISTEMA NERVIOSO Y SENTIDOS

El sistema nervioso de los peneidos es ganglionar. (animales protóstomos). Incluye el encéfalo y los ganglios que se suceden a lo largo del cuerpo hasta el final del abdomen.

El primer ganglio ventral inerva la boca y sus apéndices. En el cefalotorax, los siguientes ganglios inervan cada uno un par de patas. En el abdomen hay un ganglio en cada segmento.

El sentido de los ojos reside en los ojos compuestos. Las antenas tienen función olfatoria (detección de sustancias disueltas en el agua). En la base de las antenas se encuentran los órganos del equilibrio.

APARATO REPRODUCTOR

Los sexos son siempre separados, y con diferenciación externa.

Los peneidos tienen dos gónadas situadas en el cefalotórax, cerca del corazón. En



BIENOTROCA
FAC. AG.
MAKINA

los machos los conductos desembocan en el primer par de apéndices abdominales, que están transformados en órganos copuladores. La fecundación es externa, la puesta prosigue a la fecundación.

1.2 RESEÑA SOBRE EL CULTIVO DEL CAMARON

Penaeus vannamei EN LABORATORIO

En el cultivo del P. vannamei en laboratorios hay básicamente dos técnicas: el método Japonés en el cual se utilizan tanques entre 100 - 250 TM (m³), este método es extensivo con densidades de cultivo entre 30 - 60 nauplios por litro; y el método Galveston, en el cual los tanques son pequeños de 2 TM (m³), es un sistema intensivo con densidades mayores a 100 nauplios por litro; también existe el método semi-intensivo que resultó de la combinación del método Japonés y Galveston.

El método semi-intensivo es el más utilizado en el Ecuador, con densidades medias y capacidad de los tanques entre 10 - 20 TM.

A continuación se describirá el método que se lo utiliza más frecuentemente en nuestro medio:

TOMA Y DISTRIBUCION DEL AGUA

El laboratorio para la producción de Postlarvas de *P. vannamei* debe contar con una línea de toma de agua directa del mar, esta agua pasa por una serie de filtros de grava, arena y filtros de capuchones, luego es almacenada en un reservario donde es calentada para ser usada directamente en los tranques de larvas.

la actualidad se esta utilizando un sistema llamado "well-point" con el cual se disminuye el uso de filtros, ya que viene previamente filtrada el agua de mar, el calentamiento puede ser con un intercambiador de calor con lo cual el agua se la calienta a la temperatura

requerida directamente sin la necesidad de ser calentada en las cisternas. (IP).

CONDICIONES AMBIENTALES

Los parámetros físicos-químicos, que deben ser considerados son: la temperatura, que debe estar en $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, la salinidad, entre 25 - 35 ppt, el pH entre 7.8 - 8.2, siendo el óptimo 8.0.

DISTRIBUCION DEL SISTEMA DE CULTIVO

El sistema de cultivo esta distribuido en areas o secciones, estas son:

Larvicultura, en la cual consta de los tanques de cultivo de la larvas, con sus respectivos sistemas de distribución de agua, aire y calentamiento.

Algas, aquí es donde se cultivan microalgas (fitoplancton) en forma de monocultivos, teniendo una metodología patrón que por lo general varía de un laboratorio a otro, pero conservando los mismos principios de cultivos monoalgales, entre las principales algas cultivadas están: Chaetoceros sp, Skeletonemas sp, Tetraselmis spp, entre otros.

ARTEMIA, en el área de artemia se cultivó, con propósito de dar alimentación a la larva, un pequeño crustáceo llamado Artemia spp; el cual es rico en lípidos. Su cultivo es simple, en un recipiente cónico con agua de mar se colocan entre 1 - 2 gr. de cystos de artemia por litro, se da aireación continua durante 24 horas con luz, procediendo luego a su cosecha para suministrarle a las larvas.

Existen otras áreas dependiendo de los laboratorios como Microbiología , Maduración , etc .

RUTINA DE RECAMBIO DE AGUA

Los recambios de agua se realizan dependiendo del estadio de las larvas, siendo de la siguiente rutina de recambio la utilizado en el laboratorio donde se realizó este trabajo de tesis (ESPOL) y la misma que se usó en el ensayo.

Nauplius : 0 % de recambio

Misys 1 : 50 % de
recambio

Zoea 1 : % de recambio

Misys 2 : 60 % de recambio

Zoea 2 : % de recambio

Misys 3 : 70 % de recambio

Zoea 3 : % de recambio Pl's

>1

La forma de recambio de agua puede ser de dos formas dependiendo del sistema: el recambio continuo, es decir de flujo continuo o el de recambio tradicional en el cual se baja los niveles y luego se vuelve a llenar hasta el nivel original.

ALIMENTACION DE ESTADIOS LARVARIOS

La rutina de alimentación en un laboratorio es la siguiente:

En los estadios de nauplios (5) no se alimenta, pues estos se mantienen con las reservas vitelinas, en los estadios de Zoeas (3), se alimentan de microalgas (fitoplancton), entre estas las diatomeas y fitoflageladas principalmente. Se desarrollan para esto cultivos puros de estas (Chaetoceros spp, Tetraselmi spp, Skeletonema spp, etc.) en concentraciones que dependen de la especie de alga utilizada en la alimentación 500000 - 1500000 cell/ml, de esta forma se controla la población de algas en el tanque (Simón 1978), en la actualidad también se alimenta con plancton artificial por ejemplo el BP, en concentraciones que depende de los varios tipos de alimento que se suministra en los tanques.

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

En los estadios de misys la alimentación del camarón varia, de acuerdo a su hábito que es mas carnívoro o zooplanctónico, siendo el principal alimento de las misys, la Artemia spp ; suministrándosela de varias formas, por volumen en lo cual se agrega Artemia hasta tener una concentración de 2-5 nauplios de artemia por centímetro cúbico o por biomasa en el cual se alimenta dependiendo de una tabla de consumo diario de nauplios de Artemia por cada larva de camarón, por ejemplo para el ensayo se uso lo siguiente dosificación:

en Misys 1 : 14 nap art/larva - día
para Misys 2 : 25 nap art/larva - día y
para Misys 3 : 35 nap art/larva - día.
También se alimentó con algas pero en menores concentraciones.

En los estadios de postlarvas se alimenta con nauplios de artemia de igual forma que en mysis y/o alimento artificial.

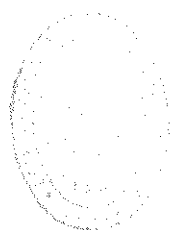


Diagrama de la vida
del pez.
MARIQUITA

Los nauplios mudan seis veces en treinta y seis horas, y pasan el 100 % a la forma de Zoea; la Zoea muda tres veces en cinco días y pasan a misys; las misys muda tres veces entre tres a cinco días y pasan a la forma de postlarva; la postlarva muda veinte veces en treinta días hasta llegar a medir 2 cm asemejándose al adulto (Bardach et al., 1972 ; Shigueno 1975 ; Hudinaga y Kittaka 1966, 1967 ; Idyll 1965).

CAPITULO N° 2

2.1 DESCRIPCION DE EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS.

Los equipos y materiales que se utilizaron durante el ensayos fueron los siguientes:

- Un tanque rectangular de fibra de vidrio, como baño María de las siguientes dimensiones: 2.5 mts. de largo por Ø.6Ø mts. de ancho por Ø.4Ø mts. de profundidad. (Fig. 2.1)

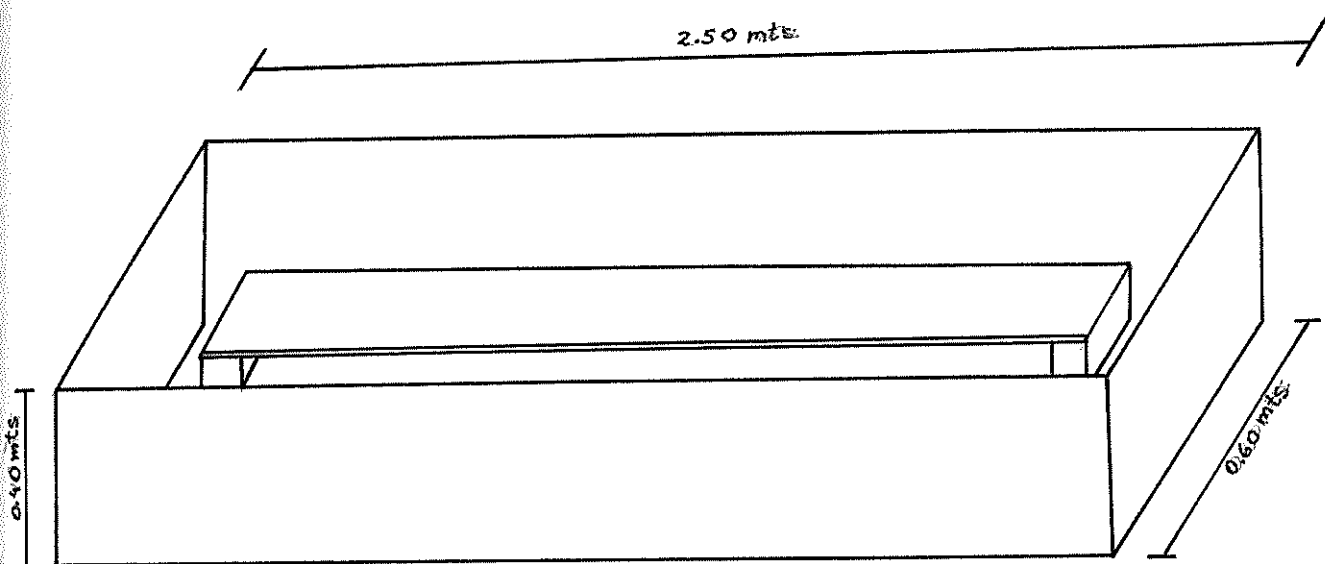
- Trece botellas de vidrio de capacidad de 4 litros, las cuales están cortadas por el fondo y selladas por el pico con un tapón de caucho 5½, recubierto en ambos lados con silicón, la capacidad de utilización de las botellas era de tres litros, para lo cual se las señalaban con marcadores permanentes a prueba de

agua y se le colocaban etiquetas con sus respectivos códigos.

Figura N° 2.1



BIBLIOTECA
DEL INO
MANAGUA

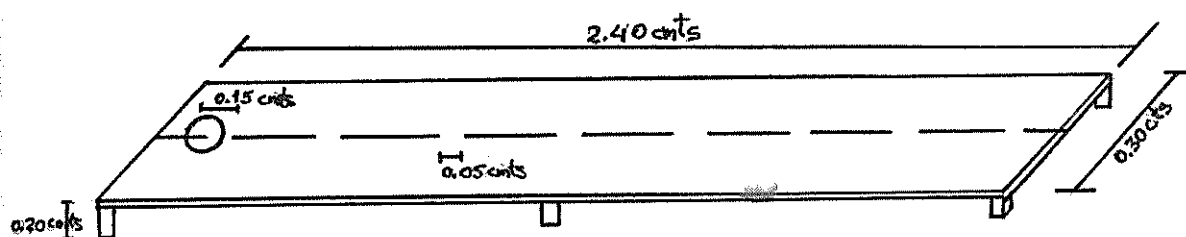




BIBLIOTECA
IICA
PANAMA

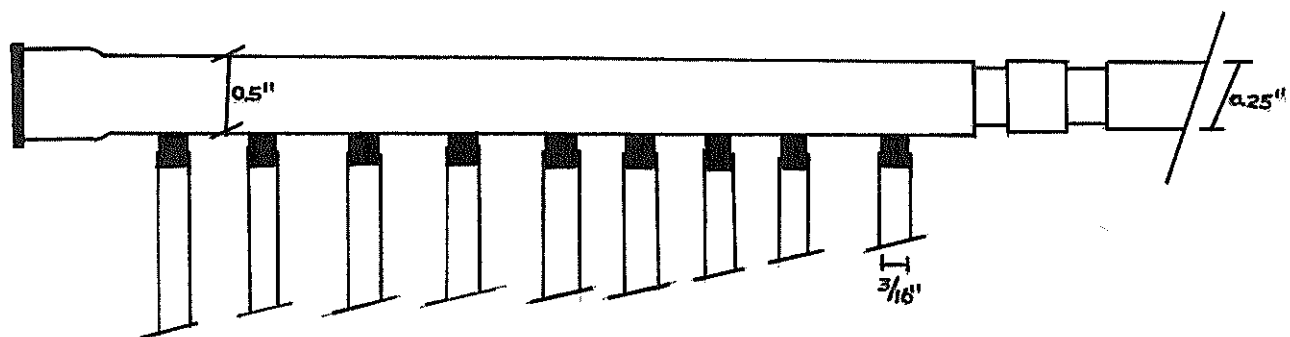
- Una rejilla de 2.40 mts. de largo por 0.30 mts. de ancho con patas de 0.20 mts. de altura, consta de once orificios de un diametro de 15.0 cms. y una separación entre orificio de 5 cms., el material de la rejilla era de plywood y unido con clavos. (Fig. 2.2)

Figura 2.2



- El agua se tomaba directamente del sistema general de larvicultura, la cual era temperada.
- La aireación se tomaba del sistema general de aire, en el área de artemia, se la tomaba de una válvula de $\frac{1}{4}$ de pulgada.
- Una línea de 8 salidas, en un tubo de $\frac{1}{2}$ pulgada de PVC de presión, el cual en un extremo tiene un adaptador de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ pulgadas y el otro extremo sellado con un tapón de caucho de $5\frac{1}{2}$ pegado, con ocho válvulas de $\frac{3}{16}$ de pulgadas de diámetro interior. (Fig. 2.3).

Figura 2.3



- Ocho líneas de aire, que consta de mangueras de plástico para acuario de 3/16 pulgadas, con piedras difusoras pequeñas.

- Cuatro termostatos o calentadores, Supreme Heetmaster Mod II de longitud total de 12 pulgadas y de 10 pulgadas del tubo de vidrio, de 100 watts, corriente de 110 - 120 voltios/60 Hs.

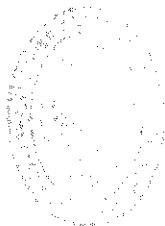
- Un microscopio marca Nikon.

- Una balanza analítica marca Mettler.

- Antibióticos y químicos, el cloranfenicol y la furazolidona que son los antibioticos usados en los ensayos como parte del estudio, otros químicos como el cloro en forma de Hipoclorito de calcio y EDTA de segundo grado.

- Misys, las cuales fueron obtenidas de los tanques de larvicultura del laboratorio de la ESPOL, excepto solo en dos ensayos que se utilizó misys de

laboratorio privado Larvamar.



BIBLIOTECA
INIA
MEXICO

- Recipientes de plasticos de 500 cc y de 250 cc.

- Vidriería, en la cual constan: fiolas, pipetas, beakers, pipetas pasteur, cubre-objetos, porta-objetos, probetas, etc.

- Equipos de calidad de agua, termómetros y salinómetro.

- Un reloj

2.2 COMPORTAMIENTO Y EFECTO DE LOS ANTIBIOTICOS EN ORGANISMOS ACUATICOS

Como bien sabemos los antibióticos que se están utilizando; entre estos el cloranfenicol y la furazolidona; fueron utilizados primero para el uso en humanos y animales terrestres, poco se sabe sobre el real comportamiento que estos químicos tienen en organismos acuáticos.

Los antibióticos usados en animales y en humanos afectan los componentes celulares de la sangre, se sabe que el cloranfenicol causa el deterioro de los corpúsculos celulares de la sangre. (Kreutzmann, H., 1973) (Kautz 1960; Kaler 1962).

Cuando los organismos son tratados con antibióticos en corto tiempo, apenas si se producen daños, se ha detectado retraso en el crecimiento, hasta la restitución de la flora bacteriana intestinal, que ha sido eliminado en el

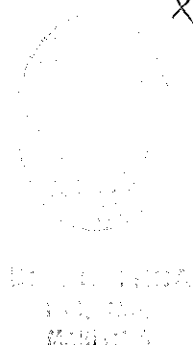
tratamiento (principalmente en tratamientos con piensos medicados).

En tratamientos con antibióticos demasiados largos pueden presentarse efectos tóxicos como la variación de la hematopoyesis, especialmente con las sulfaminas (Smith et al., 1973).

Entre otros efectos tenemos, la vacuolación en el plasma, cambios nucleares de crecimiento en el tamaño y número de los eritrocitoblastos y trastorno en el metabolismo de los eritrocitos. (Kreutlmann, H., 1977) (Kautz 1968, Kaler 1962, Libansky 1970, Remmele 1972). Todos estos efectos a nivel fisiológico, en la sangre de los organismos no se los detalla, por presentar este trabajo observaciones a nivel externo del organismo. Los antibióticos actúan en diferentes formas sobre las bacterias, clasificándose por esto, unos actúan sobre la síntesis proteica de la célula bacteriana y/o sobre la pared celular de la bacteria .

.

X 2.3 SELECCION Y DESCRIPCION DE LOS ANTIBIOTICOS EMPLEADOS



X Hay una gran gama de antibióticos en el mercado que se están utilizando para los tratamientos de enfermedades bacterianas en los laboratorios de larvas de camarón y en la acuicultura en general, los antibióticos se clasifican en dos grandes grupos dependiendo de su toxicidad hacia las bacterias en: **bacteriostáticos**, los cuales detienen el crecimiento de la población bacteriana sin destruirlos y los **bactericidas** estos destruyen las células bacterianas; así se aplica el criterio, uno bacteriostático y el otro bactericida. En nuestro medio se ha generalizado el uso de los antibióticos para el tratamiento de las diferentes enfermedades causadas por bacterias. X

El cloranfenicol y la furazolidona son unos de los antibióticos que con mayor frecuencia se utilizan y teniendo cierto éxito en el tratamiento de las

enfermedades bacterianas, este uso en exceso causa ciertos trastornos en los organismos administrados, como también causa que las bacterias adquieran cierta resistencia a los antibióticos por este uso en exceso, siendo tema de esta tesis determinar los efectos de los dos antibióticos sobre los camarones (P. vannamei), en ciertos estadios larvarios.

El furazolidona entre la familia de los nitrofuranos es el mejor y mas usado de estos antibioticos (Post 1939).

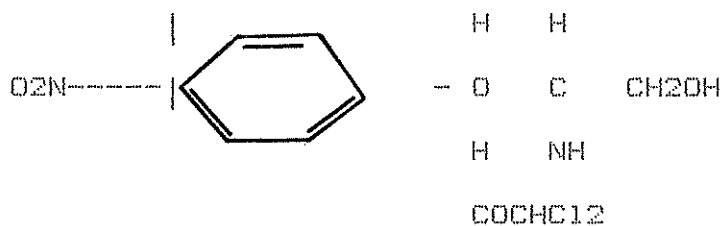
Este antibiotico es aparentemente poco tóxico en peces (Post y Keiss, 1962).

Otra clasificación de los antibióticos es: el grupo de los de amplio espectro y los antibióticos de espectro reducido; por lo cual se escoje en esta tesis un antibiótico de cada uno de los grupos, siendo el cloranfenicol de amplio espectro y la furazolidona de espectro reducido.

DESCRIPCION

Cloranfenicol .- El cloranfenicol fue aislado de cultivos de *Streptomyces venezuelae* en 1974 y fue sintetizado en 1949. Es el único que se lo prepara sintéticamente en escala comercial con ventajas económicas frente a su obtención en forma natural.

Su formula es la siguiente :



Estructura química del cloranfenicol.

El cloranfenicol es singular por poseer un grupo aromático nitrobenceno, al cual se debe sus acciones tóxicas, y una cadena lateral alifática derivada del propanodiol que posee a su vez un grupo dicloracetamido, debiéndose las propiedades antimicrobianas a dicha cadena lateral.

En dicha estructura química se advierten dos carbonos asimétricos, lo que condiciona la existencia de cuatro posibles estereoisómeros, siendo solamente activo como antibiótico el que tiene la configuración D(-) treonina (la configuración del aminoácido treonina) y prácticamente inactivos los demás isómeros.

El cloranfenicol posee un grupo alcohólico terminal, siendo fácil preparar ésteres, empleándose especialmente el palmitato de cloranfenicol y el estereato de cloranfenicol, siendo casi insolubles, insípidos.

Otro éster es el cloranfenicol succinato sódico muy soluble a diferencia del cloranfenicol que lo es poco.

El cloranfenicol también se lo conoce como: ampicol; palmitato de cloranfenicol; cloromicetin; cloronitrin; Leukomycin.

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro; abarcan todos los gram-positivos y los gram-negativos.

Se incluye además a las anaerobias, las formas L, las rickettsias, (prowaseki, rickettsi y thypi), bacterias hemorrhagic septicemia, furunculosis, pseudomonas, fungicidas y algunos protozoarios .

El cloranfenicol es un bacteriostático, inhibe el crecimiento de los gérmenes permitiendo que las defensas inmunitarias de los huéspedes lleven a la supresión de la infección. La acción inhibidora de este antibiótico sobre los

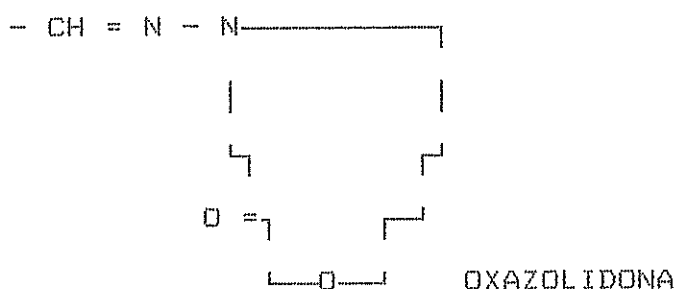
gérmenes persiste mientras son efectivas las concentraciones plasmáticas, si se suspende prematuramente su administración las bacterias pueden readquirir su capacidad reproductora y su agresividad patógena.

El cloranfenicol actúa incorporándose en el receptor específico a nivel de la sub-unidad 50S de los ribosomas bacterianos; esta unión que es reversible, bloquea la función del RNA ribosomal, inhibiendo la síntesis de las proteínas (Amlacher 1970, Herman 1972, Evelyn 1968, Smith 1950, Sniesko 1975, Elkan 1965, Van Duijn 1973).

El receptor del cloranfenicol, está ubicado en las vecindades de los receptores de la eritromicina y lincomicina, antibióticos con los cuales presenta una interacción definida en terminos de antagonismo competitivo.

La selectividad por el cloranfenicol para deprimir la síntesis proteica en las bacterias y no en los organismos huésped (no se producen aun en concentraciones 100 veces mayores cuando se estudian células de mamíferos) se debe a que dicha acción se ejerce exclusivamente sobre las células en proliferación muy activa (bacteria), que son las únicas susceptibles, y eso explica la escasa toxicidad del cloranfenicol en el huésped y permite su empleo como quimioterápico.

Furazolidona.— Se presenta como un polvo cristalino, inodoro, y de sabor algo amargo. Se lo conoce también como: Furoxone, Furaxona, NF. 180 y Nitrofurán.



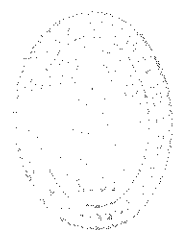
ESTRUCTURA QUIMICA

3-(5-NITRO-2 FURFULIDENDAMINO)- 2
OXAZOLIDONA

Los nitrofuranos son drogas sintéticas derivados del furano (furazolidona) y se ha demostrado que el agregado de un grupo nitro en la posición 5 del anillo heterocíclico le confiere acciones antimicrobianas.

Dichas acciones son reforzados por el añadido de distintas cadenas laterales en la posición 2, con la introducción del nucleo de oxazolidona y dio lugar a la Furazolidona.

La Furazolidona ejerce acciones antibacterianas sobre microorganismos grampositivos y gramnegativos. Bacterias como las de la Furunculosis (*Aeromonas salmonicidas*) Protocidas (*Ceratomyxa shasta*, *Einivia myxosoma cerebrealis*).



BIBLIOTECA
del INC.
MAR DEL PLATA

Los nitrofuranos en general son capaces de provocar el desarrollo de resistencia de los microorganismos susceptibles como se ha comprobado para el stafilococo.

En lo que se refiere al mecanismo de acción bacteriana no está completamente dilucidado, habiéndose observado en stafilococos bajo la acción de nitrofuranos que se acumuló N - acetilglucosamina, sustancias que forma parte del nucleótido de Park, porción esencial de la pared celular de las bacterias, se concluyó que los nitrofuranos interfieren en la síntesis de la pared celular, en forma semejante a la penicilina. (Amend & Ross 1970, Amlacher 1970, Herman 1972, Post 1959.) El furazolidona entre la familia de los nitrofuranos es el mejor y mas usado de estos antibioticos (Post 1939). Este antibiótico es aparentemente poco tóxico en peces como la trucha (Post y Keiss 1962).

Los nitrofuranos en general son capaces de provocar el desarrollo de resistencia de los microorganismos susceptibles como se ha comprobado para el stafilococo.

En lo que se refiere al mecanismo de acción bacteriana no está completamente dilucidado, habiéndose observado en stafilococos bajo la acción de nitrofuranos que se acumuló N - acetilglucosamina, sustancias que forma parte del nucleótido de Park, porción esencial de la pared celular de las bacterias, se concluyó que los nitrofuranos interfieren en la síntesis de la pared celular, en forma semejante a la penicilina. (Amend & Ross 1970, Amlacher 1970, Herman 1972, Post 1959.) El furazolidona entre la familia de los nitrofuranos es el mejor y mas usado de estos antibioticos (Post 1939). Este antibiótico es aparentemente poco tóxico en peces como la trucha (Post y Keiss 1962).

2.4 SELECCION Y DESCRIPCIONN DEL METODO DE ADMINISTRACION DE LOS ANTIBIOTICOS

En el tratamiento de enfermedades de los organismos acuaticos, existen diversas formas de administración de los medicamentos. Todavía no se conoce con certeza o exactitud la terapéutica de las enfermedades de los organismos acuaticos, si se compara con los conocimientos que se tiene sobre su etiología.

Está tratada de forma parcial en las distintas publicaciones científicas, no se refieren a los tratamientos más que de una forma secundaria y ocasional con respecto al tema principal de estudio.

Se han realizados pocos estudios, referidos únicamente a establecer criterios definidos (es decir toxicidad y eficacia) para productos de tratamientos y menos aún sobre los metodos de aplicación.



INSTITUTO DE ACUICULTURA
IAC. INC.
SANTIAGO

A pesar de eso Roberts y Shapherd (1974) y wood (1974) publicaron guías prácticas de gran utilidad.

Al igual que en la mayor parte de sistemas de cultivo intensivos de animales, las tendencias actuales de cultivos de camarones en laboratorio, recaen en la prevención de las enfermedades en lugar de los tratamientos. Por otra parte el medio acuático da lugar a problemas especiales con respecto a la cría por lo que la epizootias se presentan inevitables. (Sheperd y Poupard, 1975).

La terapia que se puede aplicar a los camarones en los laboratorios se clasifica en dos metodos de tratamientos: 1°.- Tratamiento externo
2°.- Tratamiento sistémico a través del alimento

Tratamiento sistémico a través de alimento .

La incorporación de un medicamento al alimento con el objeto de tratar enfermedades sistémicas bacterianas, presenta otros problemas diferentes a aquellos a discutir en el tratamiento externo.

El camarón tiene que ingerir el alimento medicado y en general una de los primeros síntomas de las enfermedades es la falta de apetito. En el tratamiento con alimento medicados se requiere que sean preparados de tal forma que su distribución en todo el alimento sea homogénea. En estos alimentos se usa principalmente antibióticos de amplio espectro de acción teniendo en cuenta, que casi todas las bacterias patógenas son gram-negativas, recomendándose concurrir a productos que tengan gran incidencia sobre estas bacterias.



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

Es importante calcular sin error la dosis cuantitativa del medicamento que se va a incorporar al alimento para suministrar a los camarones y conseguir un punto de equilibrio entre los efectos tóxicos y los efectos terapéuticos que se quiere causar.

Por lo expuesto en esta parte del trabajo, sobre el problema de la pérdida del apetito y los problemas en la elaboración de los piensos medicados, no se trabajó con esta forma de administración de los antibióticos escogidos para el desarrollo de la tesis; también cabe recalcar que en nuestro medio, en los laboratorios de larvas de camarones no se ha reportado el uso de este tratamiento con éxito en las enfermedades de larvas de camarones.

Tratamiento externo .

En este tipo de tratamiento se puede aplicar el antibiótico o químico de muchas formas y a excepción de

tratamiento tópicos (no se tratará) todos ellos son por inmersión en una solución química.

Estos tratamientos por inmersión son los más utilizados a escala comercial; habiendo varias formas de inmersión en este tratamiento por inmersión la forma de adsorción del medicamento (antibiótico) es principalmente por las branquias, otra ventaja de este tratamiento es la disminución de la población bacterial en el medio, reduciendo la posibilidad de una mayor infectación por parte de los microorganismos a los organismos acuáticos.

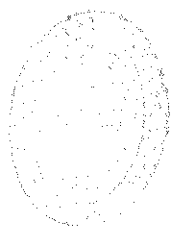
Los tratamientos por inmersión se pueden dividir dependiendo de la concentración del antibiótico o químico usado, también puede clasificarse por el tiempo de duración del tratamiento.

Inmersión (dips) .- Cuando se sumerge a los organismos en una solución química a alta concentración durante un tiempo de 1 - 5 minutos.

Este método es útil para pequeñas poblaciones de organismos (reproductores) que deben ser extraído de su propio estanque, con el consiguiente stress.

Baños cortos.- Cuando se bañan los organismos in situ en una solución química estática a baja concentración durante 30 - 60 minutos.

Este método es útil para estanques o depósitos pequeños, aunque puede ocasionar una pérdida de oxígeno, no teniendo este problema en los laboratorios debido a la aereación suplementaria que se posee en los tanques.



BIBLIOTECA
del INIA
QUITO, ECUADOR

Baños prolongados .- Cuando se bañan a los organismos acuticos in situ en una solución química a muy baja concentración durante un periodo de tiempo superior a las 12 horas.

Este método es uno de los más utilizados en el tratamiento de enfermedades bacterianas en organismos acuaticos.

En los laboratorios de larvas de camarones, el baño prolongado o indefinida, es la única técnica, en los tanques de larvicultura que ha tenido gran éxito en el tratamiento de los enfermedades bacterinas en larvas de camarones, suministrando por periodos indefinidos los antibióticos en forma directa al agua de los tanques de larvas.

Este método de administración de antibióticos por su éxito y por ser el único utilizado en los laboratorios de larvas de camarones en el Ecuador ha sido el seleccionado como técnica de

administración de los dos antibióticos a ser investigado en el presente trabajo de tesis. Explicándose a continuación con mayor detalle la forma de administración de los antibióticos antes mencionados:

Se prepara una solución química del antibiótico a una concentración conocida y luego administrar en forma directa al agua el antibiótico, cuando se realiza los recambios de agua diarios en los tanques, se procede nuevamente a suministrar el antibiótico al tanque en concentración y forma igual, sin considerar el remanente que queda en el porcentaje de agua que no se recambia, considerando que este remanente de antibiótico está químicamente inactivo y a perdido su actividad antimicrobial.

Existe otros tipos de inmersiones, pero se usan principalmente en estanques, tales como: Dispersión y flujo (race-way).

CAPITULO N° 3

3.1 DESCRIPCION DEL SISTEMA USADO PARA EL ENSAYO.

En este estudio el sistema que se utiliza fue adecuado conforme a las condiciones que se dan en un laboratorio comercial de larvas de camarón (Pennaeus vannamei) en el Ecuador.

El sistema utilizado en esta tesis es el siguiente :

En un tanque de fibra de vidrio, de 2.5 metros de largo por 0.6 metros de ancho y 0.40 metros de alto; utilizado como recipiente, el cual, se llena de agua hasta una altura de 30 cmts. de alto (Fig. # 2.1) y que va ha servir como baño María, para la mantención de la

temperatura en las botellas donde se colocan las larvas a ser tratadas.

Una rejilla de madera de 2.4 metros de largo por 30 cms. de ancho y 20 cms. de alto, la cual consta de 11 agujeros donde se va a colocar las botellas, esta rejilla (Fig # 2.1.3) va en el tanque de fibra sumergida en su totalidad.

Para mantener la temperatura constante en las botellas de cultivo, que es necesario para el cultivo de las larvas; se utiliza como sistema de calentamiento cuatro (4) termostatos que estan descritos en el capitulo dos (2) sección 2.1 . Estos calentadores permanecen encendidos las 24 horas del día durante el periodo que dure el ensayo.

Manteniendo la temperatura en $28.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; estos termostatos eran regulados dependiendo de las temperatura del medio durante el ensayo, para lo cual consta de un tornillo calibrador.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

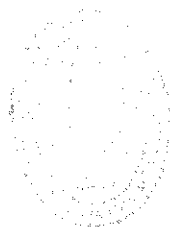
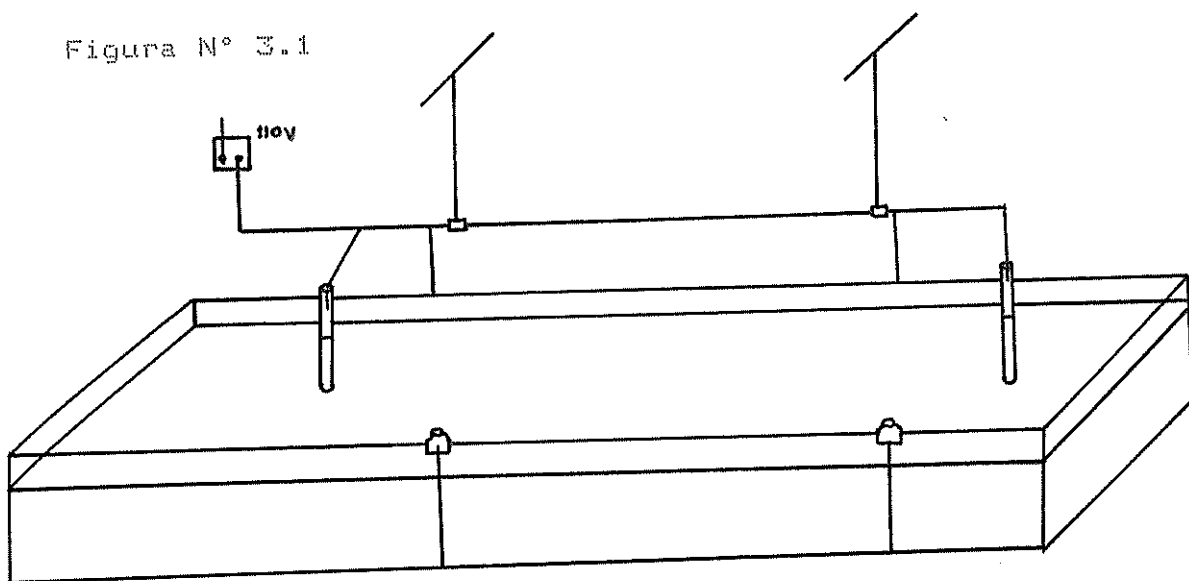
66

En pruebas realizadas previas a los ensayos se pudo comprobar que el sistema de los cuatro termostatos podían mantener una temperatura promedio de 30°C y llegar como máximo a 31°C ; regulándoselos a una temperatura entre 28 y 29°C . Los termostatos están ubicados a ambos lados a lo largo del tanque, dos en cada lado, distribuidos de tal forma que mantenían la temperatura constante en todo el tanque, por ende en las botellas del ensayo (Foto 3), el agua del tanque se mantenía estática, no siendo necesario darle movimiento para homogenizar la columna de agua.

FOTO # 3.



Figura N° 3.1



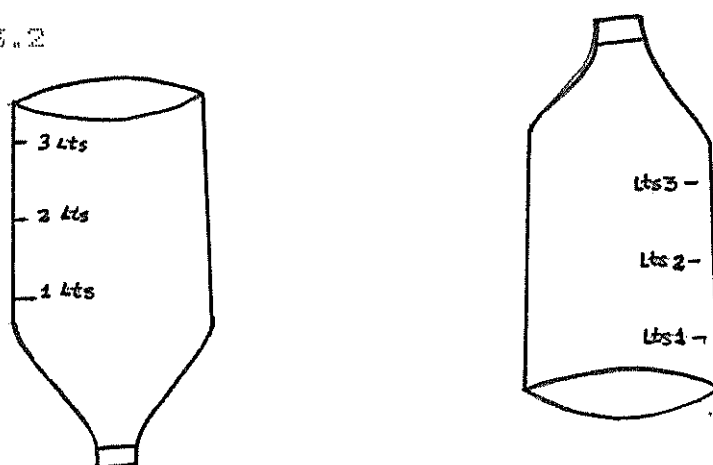
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUZCO
FACULTAD DE INGENIERIA
INGENIERIA

Las botellas estaban distribuidas de la siguiente forma; la primera serie de a cuatro a partir del segundo orificio de la rejilla, la segunda serie de botellas pasando un orificio.

El ensayo en si se realizó en botellas de vidrio transparente, las cuales el fondo estaba cortado y lijado el borde,

selladas por el pico con un tapón de caucho # 5½ y sellado con silicón para evitar posibles fugas de agua. Las botellas se las colocaban en forma invertida (pico hacia abajo) en la rejilla, las cuales quedaban parcialmente sumergidas entre 12 a 15 cms., las botellas se encuentran marcadas volumétricamente a partir de un (1) litro con un incremento de medio ($\frac{1}{2}$) litro hasta los tres (3) litros y cada una marcada con un nombre ejemplo A4, B2, Etc.; explicándose su significado más adelante en la metodología.

Figura N° 3.2





El sistema de distribución de aire a las botellas, consta de una flauta (llamada así en el laboratorio). el tubo de PVC tenía ocho (8) agujeros donde se coloca igual número de valvulas de plastico de 1/8 de pulgada , de las cuales se conectaban ocho mangeritas plasticas del mismo diametro las cuales en su parte terminal teniam una piedra difusora pequeña .

El aire era suministrado desde una linea de aire de tres pulgadas del sistema de aereación de la sección de artemia del laboratorio, donde estaba ubicado el tanque a través de una valvula de ¼ de pulgada que conectaba por una manguera del mismo diametro hasta la flauta del tanque de fibra .

El sistema de aireación de las botellas estaba regulado para dar la misma cantidad de aire (por simple vista) (Fig # 2.3)

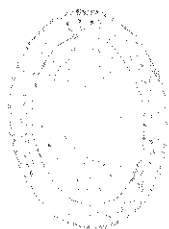
El agua con la cual eran llenadas las botellas, se tomaban directamente de la

línea principal de larvicultura del laboratorio, la venía temperada, no habiendo problemas posibles de disminución de temperatura cuando se realizaban los recambios de agua, lo cual traería como consecuencia un stress a las larvas.

3.2 DOSIFICACION DE ANTIBIOTICOS PARA EL TRATAMIENTO

Una vez que se había seleccionado los antibióticos con los cuales se va a trabajar en el ensayo, otro paso es el de determinar las concentraciones con las que el experimento se iba a realizar, ya que no se quería usar concentraciones aleatorias o por simple escogitamiento.

En los laboratorios de larvas de camarón en el sector de la península de Santa Elena, se trabaja mucho con estos dos antibióticos (Furazolidona y Cloranfenicol); como este estudio trata de determinar los efectos de estos



BIBLIOTECA
del INIA
MEXICO

antibióticos en ciertos estadios larvarios, era necesario hacer una investigación a base de las concentraciones que se estaban utilizando en los laboratorios de larvas del sector.

Una vez que se obtuvieron las concentraciones utilizadas se escujo la concentración máxima de entre todos los laboratorios y la mínima igualmente, para cada antibiótico. Utilizándose las concentración máxima escogida, la mínima escogida y la media de las dos, por cada antibiótico para realizar el ensayo.

De las concentraciones a usar se va a determinar los efectos de los dos antibióticos (Furazolidona y Cloranfenicol) en sus tres concentraciones, usándose las siguientes:

ANTIBIOTICO	Concet. min (ppm)	Concet. media (ppm)	Concet. máx (ppm)
FURAZOLIDONA	0.50	0.75	1.00
CLORANFENICOL	1.00	5.50	10.00

3.3 METODOLOGIA DEL ENSAYO

Cabe señalar antes de proceder a explicar la metodología propia del ensayo, explicar la forma en que esta organizado este trabajo.

El trabajo consta de cuatro corridas ó bachtts, (B01, B02, B03, B04) estas corridas tambien se las llama B01 ó B01 Fura, B02 ó B02 fura, B03 ó B01 Clora, B04 ó B02 clora. En cada bacht ,se realizaban dos ensayos. Como se observa en el cuadro:

CORRIDA	ANTIB.	ENSAYOS	# Nap./	ORIGEN
B01	B01 FURA	A - B	76667	ESPOL
B02	B02 FURA	C - D	-----	IMBIOSA
B03	B01 CLORA	A - B	60000	ESPOL
B04	B02 FURA <i>Clora</i>	C - D	-----	IMBIOSA

En este cuadro se ha puesto el promedio de nauplios por hembra y la procedencia de estos nauplios, cabe señalar que los nauplios son todos de maduración tanto de la Espol como de Imbiosa, el de Imbiosa no se pudo obtener las datos de desove.

La técnica o metodología aplicada en este ensayo, se lo va a dividir en varias partes para hacer mejor su explicación: Metodo general y las rutinas de desinfección, alimentacion, aplicación de antibióticos recambio, cosecha, pesaje y mediciones de larvas.

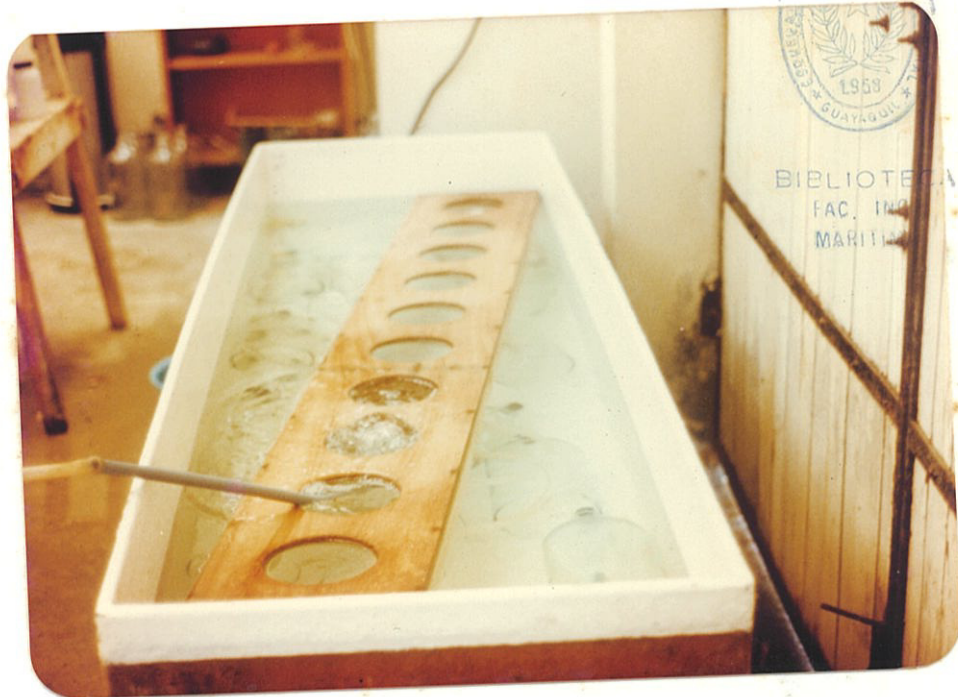


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

74

Metodo General .- Antes de iniciar una serie de ensayos se limpian y desinfecta los materiales tales como las botellas y las lineas de aire, para desinfectar estas se sumergen todas estas en el mismo tanque de fibra en una solución de cloro a una concentración de 200 ppm, por un periodo de 24 horas, con una aireación continua para dar movimiento al agua principalmente.

Foto N° 1



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

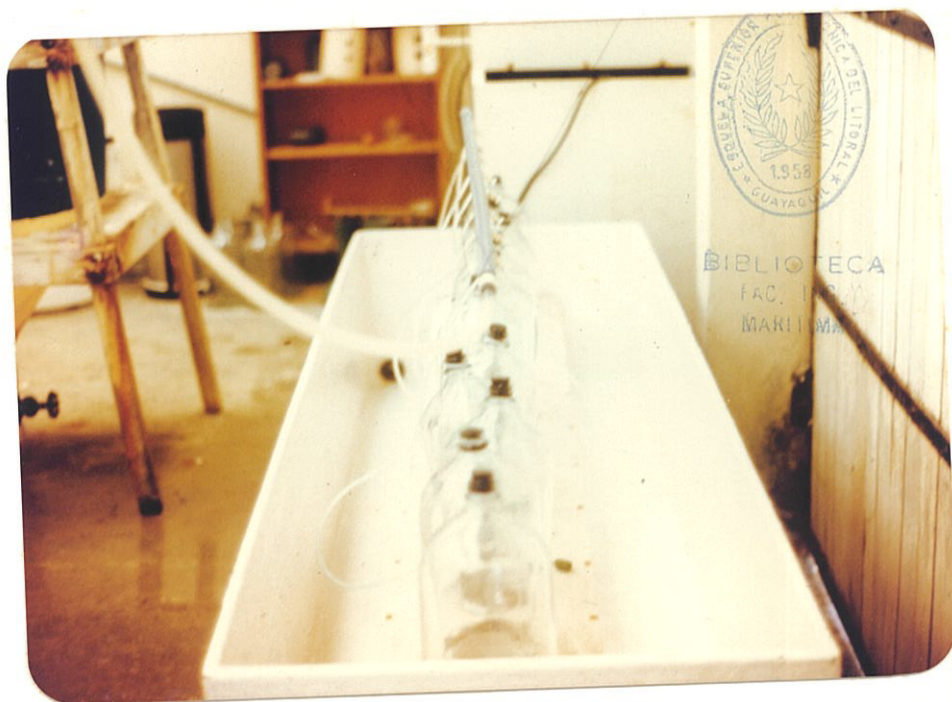


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

75

Luego de esto se retira las botellas y las líneas de aire y se enjuagan con agua dulce, se coloca las botellas en su puesto se las llena con agua dulce; se colocan las líneas de aire y se deja aerear tanto las lines como las botellas, para eliminar cualquier residuo de cloro en los mismos, teniéndolas por un tiempo hasta que no se persiva cloro, el tiempo no era menos de 12 horas, después se las pone ha secar, quedando listas para su uso en los ensayos, esto se repetia antes de cada serie de ensayos.

FOTO # 2





BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA



Las misys 1 para el ensayo era escogida del tanque que se determinaba en el laboratorio , se las colectaba en un recipiente de plastico de 20 litros de agua con aireación.



INSTITUTO
DE INVESTIGACIONES
MARITIMAS

Colectadas las misys 1 se procedia al contajes , se usaba como densidad de cultivo 70 misys por litro , es decir 210 misys por cada botella , contadas una por una se las colocaba las 210 en unas tarrinas de plastico de 500 cc marcadas cada una con un nombre de las botellas, el nombre consistia en una letra mayuscula con un número (1-4) a lado , la letra correspondia a la serie de cada ensayo y el número al tratamiento siendo 1 = concentración minima ; 2 = concetración media , 3 concentración máxima y 4 = control .

Ya contadas y puestas en las tarrinas, se procedía a el pesaje y medición (rutinas que se explicará en lo posterior).

Una vez que se las habia contado, pesado y tomado las longitudes, se las sembraban en las botellas que estaban perparadas con agua al 50 % agua del tanque donde se sustrajo las misys y el otro 50 % con agua nueva, debiéndose de

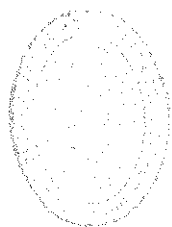
esta manera al porcentaje de recambio correspondiente a es estadio (misys 1 50% recamb.).

Despues de haberse sembrado las misys en las botellas, se le agregaba EDTA a una concentración de cinco (5) ppm. A continuación se procedia a la alimentación y por ultimo se agregaba el antibiótico a las botellas en su respectiva concentración menos al control.

Cada grupo de ensayos eran de dos series; del mismo antibiótico; cada serie constaba de cuatro (4) botellas ejemplo, la serie A de A1 concentración minima, A2 concentración media, A3 concentración máxima y A4 sin antibiótico la cual servia como control.

El antibiótico se lo agregaba despues de cada recambio de agua en la misma concentración en todas las veces del ensayo. Una vez que las misys han pasado a Pl 1, son cosechadas y recolectadas

nuevamente en las tarrinas de $\frac{1}{2}$ litro ,
marcada con el respectivo nombre de cada
botella se las cuenta nuevamente, se las
pesan y miden, también se realizan las
observaciones al microscopio,
determinando el porcentaje de
deformidad, el porcentaje de estadios;
por último se realizaban las pruebas de
stress para determinar si existe una
insidencia de los antibióticos en su
resistencia, estas pruebas son variación
brusca de salinidad y de temperatura ,
las cuales se tratara en una forma más
profunda en la sección cuatro de este
capitulo .



BIBLIOTECA
del INIA
MANAGUA

80

Rutina de administración de antibióticos.- En cuanto a la forma de suministrar el antibiótico, sea el furazolidona o el cloranfenicol, se preparaba una solución madre del antibiótico a ser administrado a una concentración conocida; igual para el EDTA.

En el caso del furazolidona es:

Concentración por botella

C1 = 0.50 ppm	1.50 mg
C2 = 0.75 ppm	2.25 mg
C3 = 1.00 ppm	3.00 mg
C4 = -----	-----

La solución madre es de 500 ppm. Se pesa en la balanza electronica la cantidad de 50 mg del furazolidona, se disuelve en una fiola en un volumen de 100 cc de agua. Teniedo ya la solución madre se administra la cantidad correspondiente en miligramos por botella, a través de una regla de tres simple calculando el volumen de solución madre que contiene la cantidad en miligramos.

CALCULO DE VOLUMEN DE SOL. MADRE

5000 mg ————— 10000 cc

1.5 mg ————— X1 cc = 3.0 cc

2.25 mg ————— X2 cc = 4.5 cc

3.0 mg ————— X3 cc = 6.0 cc

Igualmente para el cloranfenicol, sus respectivas concentraciones:

Solución madre de 20000 ppm .

20000 mg ————— 10000 cc

3.0 mg ————— X1 cc = 1.5 cc

16.5 mg ————— X2 cc = 8.25 cc

30.0 mg ————— X3 cc = 15.0 cc

Para el EDTA se agregaba 3 cc de una solución madre de 50000 ppm .

La disolución de los antibióticos es los realizaban previos a los recambios de agua , en el caso del cloranfenicol , por ser menos soluble , se procedia a su disolución con mayor anticipación ya que se lo efectuava con la ayuda de un macerador esteril .

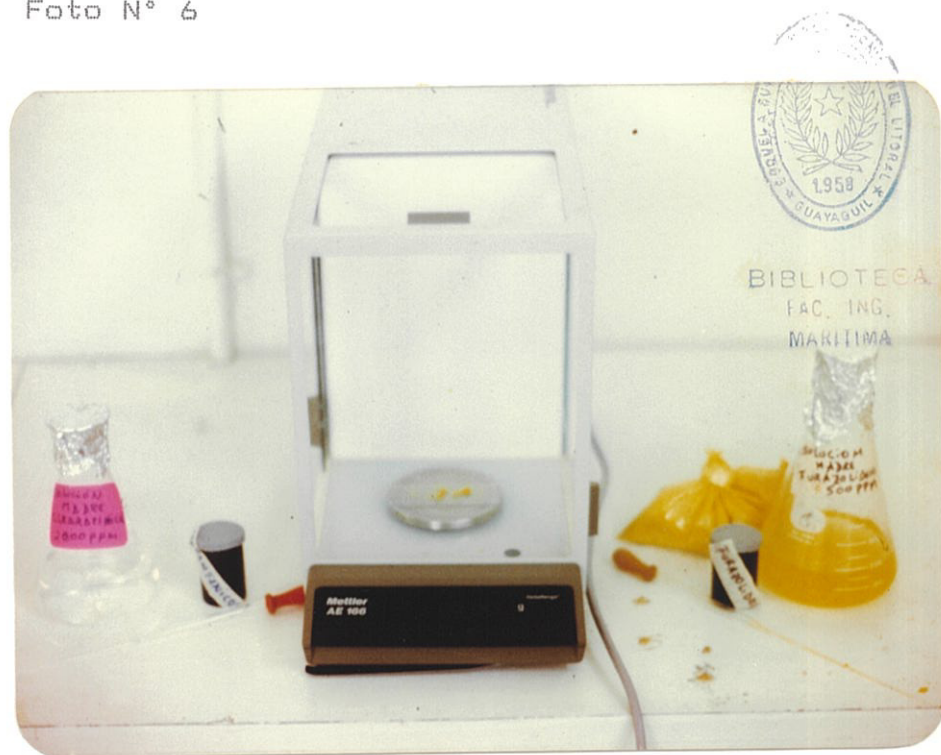


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

82

Las soluciones es preparaban en fiolos de 250 cc , respectivamente etiquetadas se agregaba el antibiótico con la ayuda de tres pipetas, una de 10 cc , otra de 5 cc y una de 1 cc , todas tenian diviciones 1/10

Foto N° 6



Rutina de recambio de agua .- Como, todo el ensayo se trata de dar condiciones similares a la de un laboratorio comercial, el porcentaje de recambio diario utilizados en el experimento obedece a una tabla que esta en función del estadio larval.

Misys 1 —————→ 50 % —————→ 1.5 lts.

Misys 2 —————→ 60 % —————→ 1.8 lts.

Misys 3 —————→ 70 % —————→ 2.1 lts.



GOBIERNO DE CHILE
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA Y PESQUERIAS MARITIMAS

El recambio en si se lo realiza, con una manguera de 3/16 pulgadas, pero previamente se colocaba un filtro de 100 micrones, para evitar que las larvas se salgan, la cantidad de agua que se sacaba se controlaba de dos formas a la vez, una por medio de las marcas que tenia las botellas en su exterior y otra forma era un recipiente marcada con los volúmenes de 1.8 y 2.1 litros donde se colectaba el agua que va saliendo hasta que se llegaba a al marca que correspondia . Inmediatamente se llenava las botellas con agua de larvicultura que estaba temperada y filtrada por dos capuchones uno de 50 micrones y otro de 100 micrones , hasta que se llegava otra vez a los tres litros.

Despues del recambio se procedia con el tratamiento, primero agragndo EDTA, luego se alimentaba y despues el antibiótico .

Rutina de alimentación .- Al igual que el recambio de agua ,la alimentación en el laboratorio ESPOL, y por ende en el experiemnto era llevado por medio de tablas, a partir del estadio de misys 1 se alimentaba solamenta con con Artemia spp, según la siguiente tabla :

Misys 1 = 14 nap de artemia/larva - día
Misys 2 = 25 nap de artemia/larva - día
Misys 3 = 35 nap de artemia/larva - día

Como no se considera mortalidades diarias, la alimentación se lo calcula en base al 100 % de sobrevivencia de las larvas, teniendo un total de:

1° DIA 2940 nap de artemia total .
2° DIA 5250 nap de artemia total .
3° DIA 7350 nap de artemia total .



BIBLIOTECA
I. I. M.
MARITIMA

De este total de nauplios de artemia se dividia en cuatro (4) dosis diarias , es decir se alimenta cada seis horas y comensando despues del recambio diario

Rutina de cosecha .- Una vez que las misys habian pasado al estadio de postlarva uno , que , en lo que respecta al ensayo fue en su totalidad de setenta y dos (72) horas a exepción del ensayo 3 y 4 del cloranfenicol que se requirio de 100 horas más hasta pasar ha postlarva uno. Esto se debe principalmente a las condiciones constante de temperatura en las botellas.

Se procedia a la cosecha, extrayendo las larvas por gravedad, con una manguera de $\frac{1}{4}$ de pulgada, la cual las depositava en un filtro de 100 micrones donde se las colectaba , para luego pasarlas a las tarrinas de 500 cc con agua , luego se procedia a su pesaje , medición , observaciones microscopicas y pruebas de strss de las postlarvas .

Rutina de pesaje y medición .- Una vez que ya se habia cosechado las postlarvas y colectadas en su respectiva tarrina , se procedia a su pesaje y mediciones : Antes de comenzar el pesaje se calibraba la balanza.

Primero se taraba la balanza con un portaobjeto totalmenta limpio y seco, esto consistia que el mecanismo de la balanza automaticamente eliminaba el peso del portaobjeto.

Segundo , con una pipeta pasteur invertida , es decir rota la punta en la cual se coloca el un chupon de caucho se recolecta las larvas y se lo coloca sobre el portaobjeto, teniendo el portaobjeto la peculiaridad de no tener la capa que lo recubre y permite que el agua tenga una mayor tensión superficial y tienda a formar gotas de agua, sino que el agua ocupe casi en su totalidad toda la superficie de la placa . Con otra pipeta pasteur , normal , se retiraba el agua de la placa ; poniendo las veces

que se requeria hasta obtener una cantidad de larvas entre 15 - 25 .

Como tercer paso , con la pipeta pasteur , normal , se retira casi la totalidad del agua en la placa , rapidamente con un papel absrovente se elimina el restante ,que con la pipeta no se pudo retirar , permaneciendo asi el camarón sin causarle gran daño .

Quinto , despues se toma el peso de las larvas y se las cuenta.

Sexto , tomado el peso y el número de larvas , se calcula un promerio por cada tarrina o botella .

Luego del pesado se procede a la toma de las mediciones , las cuales son : 1.- La longitud cefalotoraxico hasta el rostrum (LCR) y 2.- La longitud cefalotoraxica hasta la base del rostrum (sin rostrum) (LCB) .



88

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Foto N° 7 (LCB)

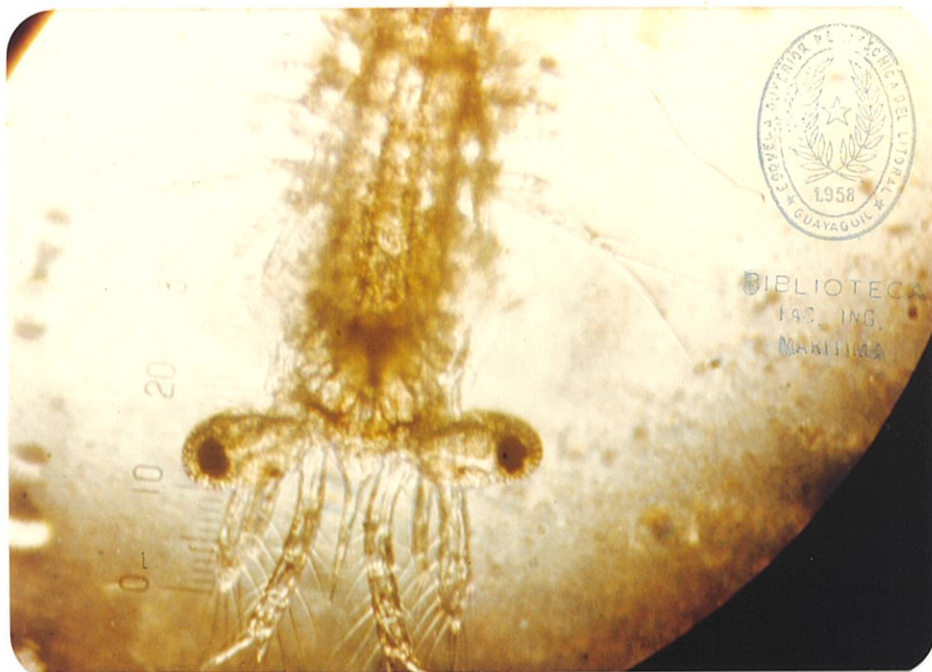


Foto N° 8 (LCR)





BIBLIOTECA
del INIA
MEXICO

No se tomo la longitud total , por ser las larvas de este estudio de tamaño que no podia ser tomado en el minimo aumento (4X de objetivo) del microscopio que se utilizo para el desarrollo de este trabajo , siendo su , metodología la siguiente .

Con la misma pipeta pasteur invertida o de boca ancha , se coloca de uno en uno en un portaobjeto de la misma característica de la que se usa en el pesaje , con la otro pipeta pasteur se retiraba agua , de tal forma que las larvas permaneciera casi inmóviles , así permitiendo que se tomen las dos longitudes para el estudio .

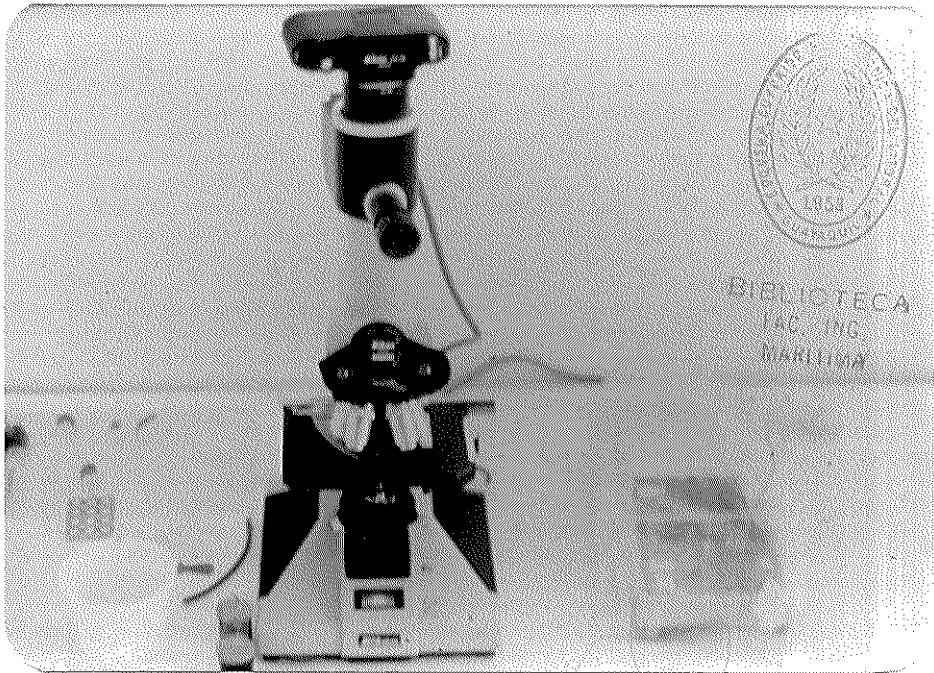
Las longitudes y el peso , son tomados vivos , en el caso de las mediciones y el peso en misys 1 se las devolvía a la tarrina , para ser sembradas luego . El número de larvas medidas era de 8 por tarrina , para luego sacar un promedio de cada batella .



90

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARILVA

Foto N° 9



Para las tomas de las longitudes se usaba el microscopio Nikon, a un aumento de $4\times$ en el objetivo y de $10\times$ en el ocular, en el ocular izquierdo tiene un lente con una escala de 1 al 100 con divisiones mayores de 10 en 10 más resaltado y divisiones $1/10$ en cada division mayor. Previa a la toma de las mediciones se calibraba la escala, con un micrometro, que es un portaobjeto que tiene marcado un centimetro, dividido en 200 partes es decir cada 0.1 cm

tenia 20 divisiones . Siendo para este aumento de objetivo : Cuarenta (40) divisiones de la escala del ocular eran igual a 0.1 cm del micriometro . Cada división de la escala del ocular es igual a 0.0025 cmt .

3.4 PRUEBAS DE STREES

Uno de los objetivos de este estudio es ver la incidencia que tiene los antibióticos estudiados sobre la capacidad de resistencia de las larvas a condiciones abversas , para tratar de determinar uan posible insidencia de los antibióticos sobre las larvas , realizando dos tipos puebas , una la prueba de salinidad que consiste en la disminución brusca de la salinidad a las larvas y la prueba de temperatura que tiene el mismo principio que la anterior salvo que se disminuye la temperatura, obsevando la sobrevivencia en un tiempo determinado. Para asi establecer un patron de resistencia a las condiciones abversas.



BIBLIOTECA
IAC. IRO.
MARITIMA

En la prueba de salinidad que se realizaron en este ensayo, se hizo primeramente una variación de 18 ppt, de 33 ppt a 15 ppt, está fue muy brusca con lo cual no se pudo estimar adecuadamente su verdadera resistencia, usandose finalmente una variación de 10 ppt como stress. En un beaker de 1000 cc, se prepara el agua a la salinidad requerida, en este caso de 23 ppt, en tarrinas de 250 cc, devidamente etiquetadas se caloca las larvas en un número de 10 con muy poca agua (entre 1 - 3 cc); cabe indicar que estas tarrinas estaban etiquetadas con el nombre de cada botella de enasyo; se agraga agua, a la salinidad de stress, rápidamente en cada tarrina, tamandose sobrevivencia a los 15 y 30 minutos de tiempo. Con una pipeta pasteur, se procedia a levantar a las larvas y dejandolas caer nuevamente, esto se repetia varias veces, por cada larva de las tarrinas, determinandose como una larva muerta a aquella que despues de haberle hecho esto no respondia, es

decir se quedaba inmovil.

LA prueba de stress por temperatura consistía en: En un valde son 10 litros de agua se ponía previamente al congelador hasta tener una temperatura de unos -10°C , de igual forma que en la prueba de salinidad, en las tarrinas de 250 cc se colocaban las 10 larvas correspondiente a su respectiva botella (tratamiento), antes de esto se va mezclando agua fría y agua a temperatura ambiente hasta obtener agua a una temperatura de 15°C , que es la temperatura de prueba, inmediatamente de calocar las larvas se agrega agua a la temperatura de 15°C , teniendo la precaución de tener el mismo volumen (de 150 cc) en todas las tarrinas, ya que en esta prueba a diferencia de la prueba de salinidad se requiera que esten al mismo volumen, debido a que la temperatura ambiente influye de gran manera, calentando el agua de las tarrinas, por lo que la tarrina con menor masa de agua es calentada con mayor rapidez que las

de mayor masa, teniendo un factor de error si no se mantiene el mismo volumen. Luego de que se ha agregado el agua a las tarrinas se toma la temperatura constantemente hasta que alcanza la temperatura de 19°C , controlandose también en este tiempo la sobrevivencia de la misma forma que la prueba de salinidad, el tiempo aproximado que dura esta prueba es de 10 - 15 minutos. Las pruebas de temperatura se las tuvo que hacer de esta forma por no constar con un equipo de enfriamiento para mantener la temperatura constante hasta un tiempo standar de 30 minutos, en todos los ensayos. Teniendo tiempos finales variables, dependiendo de la temperatura del ambiente cuando se realizaban las pruebas, estas pruebas se realizaban de 2 - 3 veces .



BIBLIOTECA
IAC, ING.
MARITIMA

CAPITULO No. 4

4.1 ANALISIS DE RESULTADOS.

Una vez que se habian recojidos las resultados, de los diferentes ensayos, en el caso del furazolidona 4 e igual número para el cloranfenicol. Se procedió a agruparlos en cuadros de medias por ensayo, para poder observar mejor los resultados. Se grafica en forma de barra, con sus respectivas dimensiones por cada ensayo. Los datos obtenidos por cada antibiotico son: la supervivencia en porcentajes, los datos de peso en gramos, las longitudes en unidades de microscopio y en centimetro (LCB - LCR) y las pruebas de stress en supervivencia en base a 10 individuos.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARÍTIMA

T A B L A S

Y

G R A F I C O S



INSTITUTO DE ESTADÍSTICA
Y CENSOS DE CHILE
Santiago

TABLA # 1

PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA!		
FURAZOLIDONA		
	(#)	(%)
A1	158	75.24
A2	144	68.57
A3	180	85.57
A4	111	52.86
B1	128	60.95
B2	142	67.62
B3	148	70.48
B4	152	72.38
C1	189	90.00
C2	193	91.90
C3	178	84.76
C4	170	80.95
D1	139	66.19
D2	160	76.19
D3	170	80.95
D4	130	61.90

TABLA # 2

TABLA DEL PESO DE LOS TRATAMIENTOS CON FURAZOLIDONA

P

		FURAZOLIDONA PESO INICIAL L MISYS 1 (gr.)		FURAZOLIDONA PESO FINAL POSTLARVA 1 (gr.)		FURAZOLIDONA INCREMENTO DE PESO (gr.)	
A1	!	2.98E-04	!	5.31E-04	!	2.33E-04	!
A2	!	4.18E-04	!	4.70E-04	!	5.20E-05	!
A3	!	2.58E-04	!	3.33E-04	!	7.50E-05	!
A4	!	3.29E-04	!	4.63E-04	!	1.34E-04	!
B1	!	1.96E-04	!	3.42E-04	!	1.46E-04	!
B2	!	2.39E-04	!	3.53E-04	!	1.14E-04	!
B3	!	2.54E-04	!	3.18E-04	!	6.40E-05	!
B4	!	2.10E-04	!	3.00E-04	!	9.00E-05	!
C1	!	1.92E-04	!	3.10E-04	!	1.18E-04	!
C2	!	1.92E-04	!	3.53E-04	!	1.61E-04	!
C3	!	1.47E-04	!	3.27E-04	!	1.80E-04	!
C4	!	2.07E-04	!	4.05E-04	!	1.98E-04	!
D1	!	2.07E-04	!	3.45E-04	!	1.38E-04	!
D2	!	2.11E-04	!	3.38E-04	!	1.27E-04	!
D3	!	1.95E-04	!	3.63E-04	!	1.68E-04	!
D4	!	2.08E-04	!	3.77E-04	!	1.70E-04	!

TABLA # 3

TABLA DE LONGITUDES CEFALOTORAXICAS CON ROSTRUM (LCR)

(UM = 0,0025 cm.)

	LONGITUD (LCR) INIC MISYS 1 (UM)	LONGITUD (LCR) FI POSTLARVA 1 (UM)	INCREMENTO DE LONGITUD (LCR) (UM)
A1	50.54	57.63	7.09
A2	49.33	55.88	6.55
A3	50.00	52.88	2.88
A4	51.25	54.43	3.18
B1	50.83	51.88	1.05
B2	50.57	52.75	2.18
B3	50.33	51.13	0.80
B4	51.67	53.63	1.96
C1	49.62	53.00	3.38
C2	48.63	53.62	4.99
C3	48.50	52.88	4.38
C4	47.00	55.25	8.25
D1	47.00	53.25	6.25
D2	48.33	52.38	4.05
D3	48.50	53.00	4.50
D4	48.33	55.38	7.05

TABLA # 4

TABLA DE LONGITUDES CEFALOTORAXICAS SIN ROSTRUM (LCB)

(UM = 0,0025 cm.)

	LONGITUD (LCB) INIC MISYS 1 (UM)	LONGITUD (LCB) FINAL POSTLARVA 1 (UM)	INCREMENTO EN LONGITUD (LCB) (UM)
A1	39.31	44.13	4.82
A2	38.78	43.50	4.72
A3	35.62	39.57	3.95
A4	36.57	41.85	5.28
B1	37.43	39.38	1.95
B2	37.86	39.50	1.64
B3	38.00	38.50	0.55
B4	37.56	39.63	2.07
C1	38.00	40.38	2.38
C2	37.88	40.38	2.50
C3	37.63	40.00	2.37
C4	37.13	42.13	5.00
D1	36.38	41.00	4.62
D2	37.25	39.50	2.25
D3	37.38	39.88	2.50
D4	37.75	41.12	3.24

TABLA # 5

PRUEBA DE STRESS (S o/oo) (TIEMPO 30 min)			
	27 ppt	23 ppt	
A1	3	5	
A2	2	4	
A3	6	3	
A4	4	5	
B1	4	4	
B2	3	3	
B3	5	2	
B4	7	4	

TABLA # 6

P

PRUEBA DE STRESS (S o/oo) (TIEMPO 30 min)				
	23 ppt	23 ppt	MEDIA	
C1	8	4	6	
C2	3	3	3	
C3	5	5	5	
C4	8	8	8	
D1	6	6	6	
D2	6	5	5.5	
D3	6	6	6	
D4	8	9	8.5	

TABLA # 7

PRUEBA DE STRESS FURAZOLIDONA (T °C)			
	1o PRUEBA	2o PRUEBA	MEDIA
A1	5	5	5
A2	2	4	3
A3	4	4	4
A4	6	4	5
B1	5	3	4
B2	4	2	3
B3	3	3	3
B4	5	4	4.5

TABLA # 8

PRUEBA DE STRESS FURAZOLIDONA (T °C)				
	1o PRUEBA (15 °C)	2o PRUEBA (17 °C)	3o PRUEBA (17 °C)	MEDIA (2o - 3o)
C1	3	6	6	6
C2	4	6	8	7
C3	5	6	6	6
C4	7	9	6	7.5
D1	7	6	8	7
D2	6	7	6	6.5
D3	7	8	7	7.5
D4	9	9	8	8.5



BIBLIOTECA
IAC INS,
MANAGUA

TABLA # 9

PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA CLORANFENICOL		
	(#)	(%)
A1	172	81.90
A2	190	90.48
A3	194	92.38
A4	138	65.71
B1	180	85.71
B2	203	96.67
B3	180	85.71
B4	164	78.10
C1	86	40.95
C2	106	50.48
C3	122	58.10
C4	95	45.24
D1	92	43.81
D2	131	62.38
D3	148	70.48
D4	69	32.86



TABLA # 10

BIBLIOTECA
CAS. INO.
QUINTANA

TABLA DE PESOS DE LARVAS TRATADAS CON CLORANFENICOL			
	PESO INICIAL MISYS 1 CLORANFENICOL (gr.)	PESO FINAL POSTLARVA 1 CLORANFENICOL (gr.)	INCREMENTO DE PESO CLORANFENICOL (gr.)
A1	2.000E-04	4.042E-04	3.421E-04
A2	2.250E-04	3.778E-04	3.014E-04
A3	2.250E-04	3.783E-04	3.017E-04
A4	2.706E-04	5.115E-05	3.218E-04
B1	2.200E-04	4.300E-04	3.250E-04
B2	1.905E-04	4.227E-04	3.066E-04
B3	2.000E-04	3.880E-04	2.940E-04
B4	2.071E-04	3.810E-04	2.941E-04
C1	2.154E-04	2.643E-04	2.399E-04
C2	2.417E-04	3.380E-04	2.899E-04
C3	2.500E-04	2.706E-04	2.603E-04
C4	3.118E-04	3.375E-04	3.247E-04
D1	3.000E-04	3.353E-04	3.177E-04
D2	2.350E-04	2.550E-04	2.450E-04
D3	2.368E-04	2.050E-04	2.209E-04
D4	2.278E-04	3.000E-04	2.639E-04

TABLA # 11

TABLA DE LONGITUDES CEFALOTORAXICAS HASTA EL ROSTRUM (LCR)
(EN UM = 0.0025 cm.)

	CLORANFENICOL		CLORANFENICOL		CLORANFENICOL
	LONGITUD (LCR) INICIAL		LONGITUD (LCR) FINAL		INCREMENTO (LCR) DE
	MISYS 1		POSTLARVA 1		LONGITUD
	(UM)		(UM)		(UM)
	(MEDIA)	(DS)	(MEDIA)	(DS)	(MEDIA)
A1	48.75	2.31	53.50	2.67	4.75
A2	49.63	1.99	53.25	2.36	3.62
A3	49.13	2.10	53.00	1.77	3.87
A4	49.88	1.81	53.88	1.73	4.00
B1	48.62	1.60	53.87	0.99	5.25
B2	48.50	1.51	53.86	1.31	5.36
B3	48.38	2.06	52.57	1.27	4.19
B4	49.29	1.70	53.63	1.69	4.34
C1	49.75	1.83	51.75	1.98	2.00
C2	50.25	1.91	50.88	2.17	0.63
C3	50.00	1.77	50.25	1.04	0.25
C4	50.25	1.49	52.38	0.92	2.13
D1	51.38	2.13	53.50	1.51	2.12
D2	50.00	1.93	50.50	2.88	0.50
D3	49.88	1.25	50.88	1.12	1.00
D4	49.80	2.19	52.50	2.33	2.70



BIBLIOTECA
IAC. ING.
MAR DEL PLATA

TABLA # 12

TABLA DE LONGITUDES CEFALOTORAXICAS SIN ROSTRUM (LCB)
(EN UM = 0.0025 cm.)

	CLORANFENICOL LONGITUD (LCB) INICIAL MISYS 1 (UM)		CLORANFENICOL LONGITUD (LCB) FINAL POSTLARVA 1 (UM)		CLORANFENICOL INCREMENTO (LCB) (LCB) (UM)
	(MEDIA)	(DS)	(MEDIA)	(DS)	(MEDIA)
A1	37.75	1.39	39.50	1.31	1.75
A2	38.25	1.39	39.62	1.30	1.37
A3	37.50	1.69	38.75	1.03	1.25
A4	38.13	1.36	39.75	0.89	1.62
B1	37.12	0.83	40.25	1.98	3.13
B2	37.12	0.99	39.88	0.64	2.76
B3	36.62	1.60	38.88	1.12	2.26
B4	37.14	1.07	39.75	1.03	2.61
C1	38.12	0.83	38.50	2.67	0.38
C2	37.57	1.12	37.75	1.49	0.18
C3	37.42	0.79	37.62	1.41	0.20
C4	38.62	1.50	39.38	0.92	0.76
D1	39.38	2.13	40.38	2.00	1.00
D2	38.14	1.07	38.29	1.89	0.15
D3	37.75	1.58	38.12	0.99	0.37
D4	38.62	1.85	39.38	1.92	0.76

TABLA # 13

PRUEBA DE STRESS (S o/oo) (TIEMPO 30 min)				
	CLORANFENICOL		(MEDIA)	
	23 ppt	23 ppt		
A1	5	3	4.00	
A2	1	2	1.50	
A3	2	2	2.00	
A4	5	4	4.50	
B1	7	4	5.50	
B2	6	5	5.50	
B3	6	5	5.50	
B4	8	6	7.00	

TABLA # 14

PRUEBA DE STRESS (S o/oo) (TIEMPO 30 min)				
	CLORANFENICOL		MEDIA	
	23 ppt	23 ppt		
C1	5	6	5.50	
C2	6	6	6.00	
C3	5	5	5.00	
C4	6	7	6.50	
D1	6	7	6.50	
D2	5	6	5.50	
D3	5	5	5.00	
D4	6	7	6.50	

TABLA # 15

PRUEBA DE STRESS CLORANFENICOL (T °C)			
	1o PRUEBA	2o PRUEBA	MEDIA
A1	5	3	4
A2	1	2	1.5
A3	2	2	2
A4	5	4	4.5
B1	4	2	3
B2	2	4	3
B3	3	2	2.5
B4	4	4	4

TABLA # 16

PRUEBA DE STRESS CLORANFENICOL (T °C)			
	1o PRUEBA	2o PRUEBA	MEDIA
C1	7	6	6.5
C2	6	7	6.5
C3	6	7	6.5
C4	8	8	8
D1	6	4	5
D2	7	3	5
D3	7	2	4.5
D4	9	5	7

GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBREVIV.

PARA TRATAMIENTOS CON FURAZOLIDONA

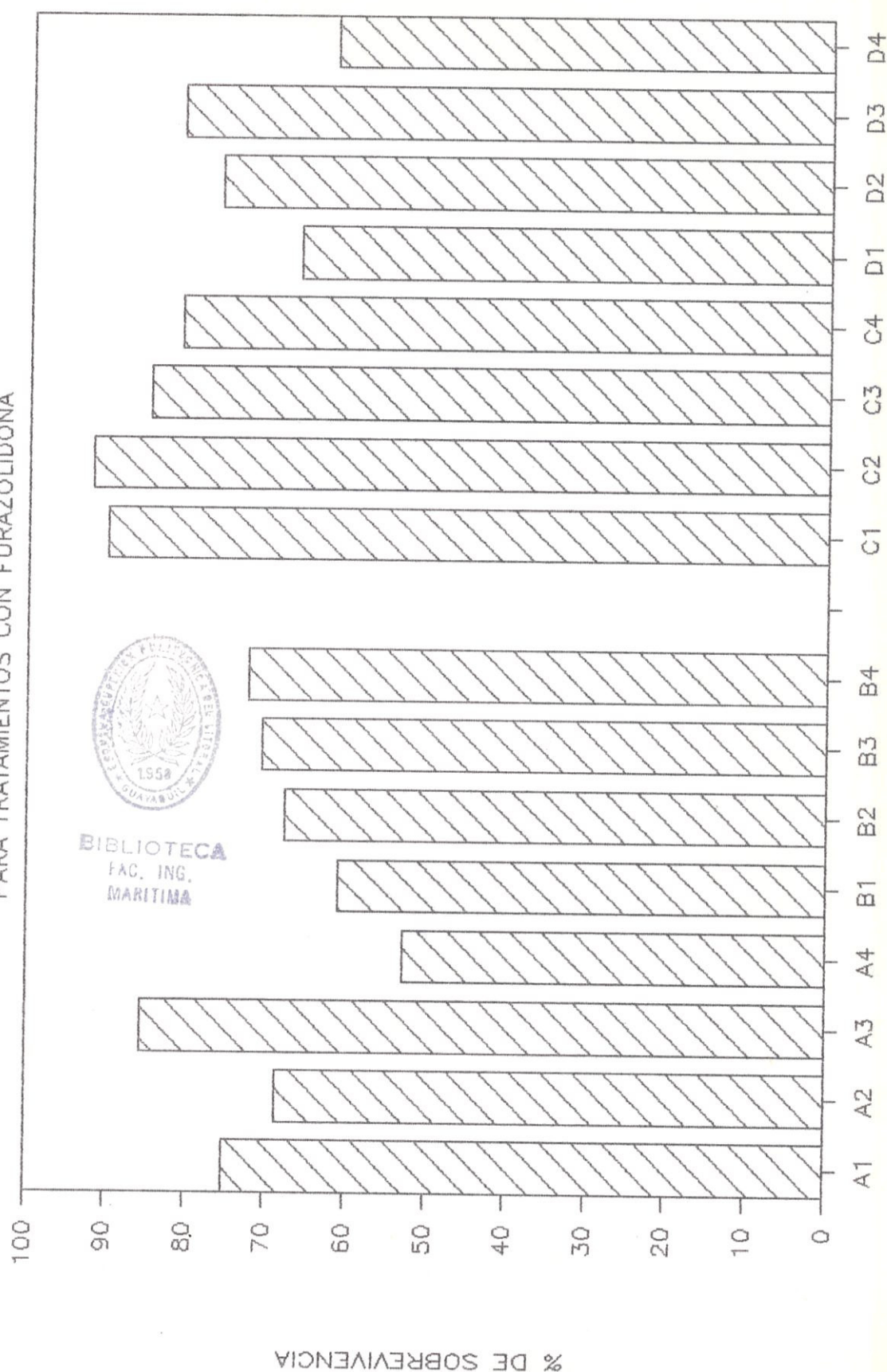


GRAFICO DEL INCREMENTO DE PESO PARA

TRATAMIENTO CON FURAZOLIDONA

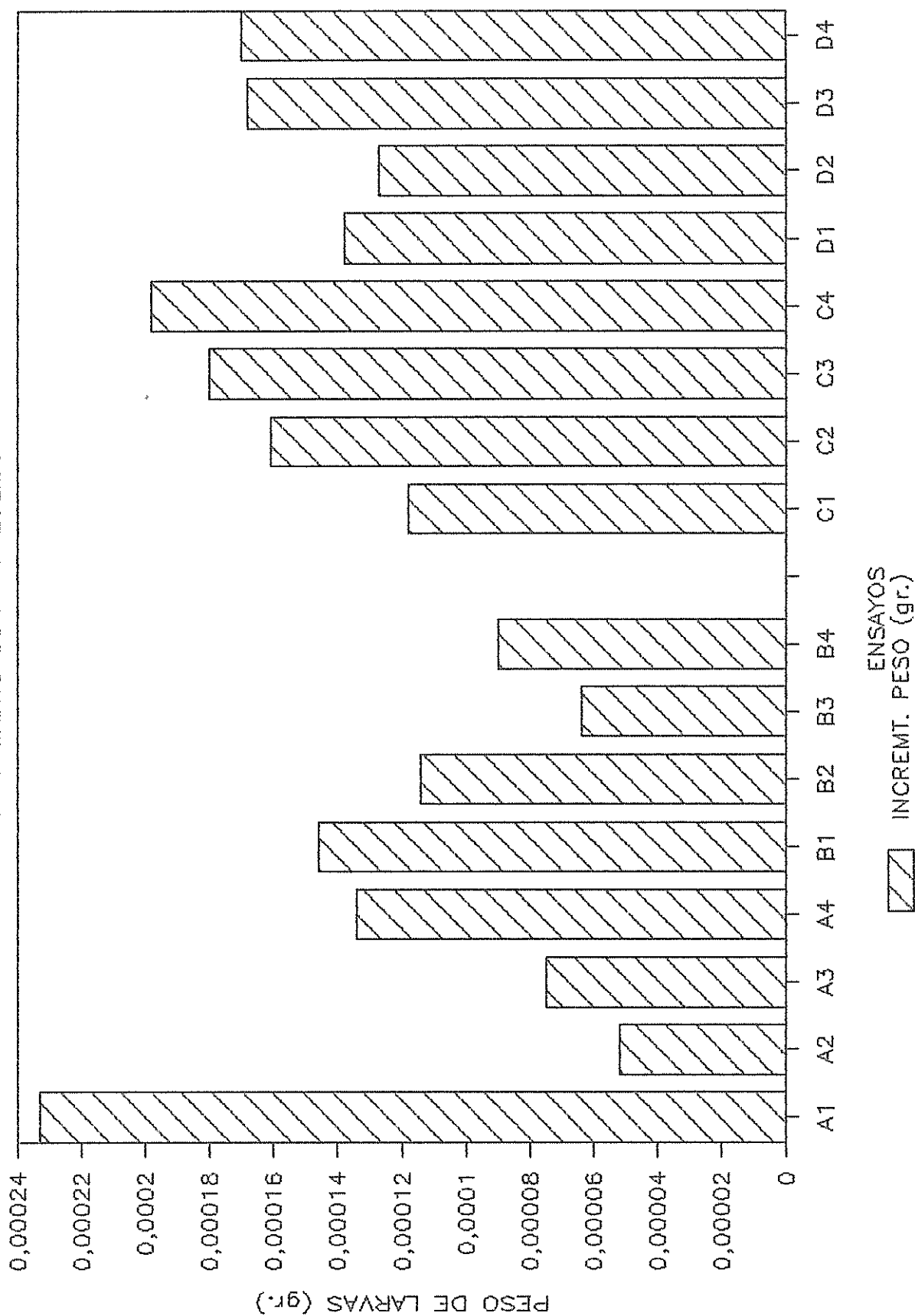
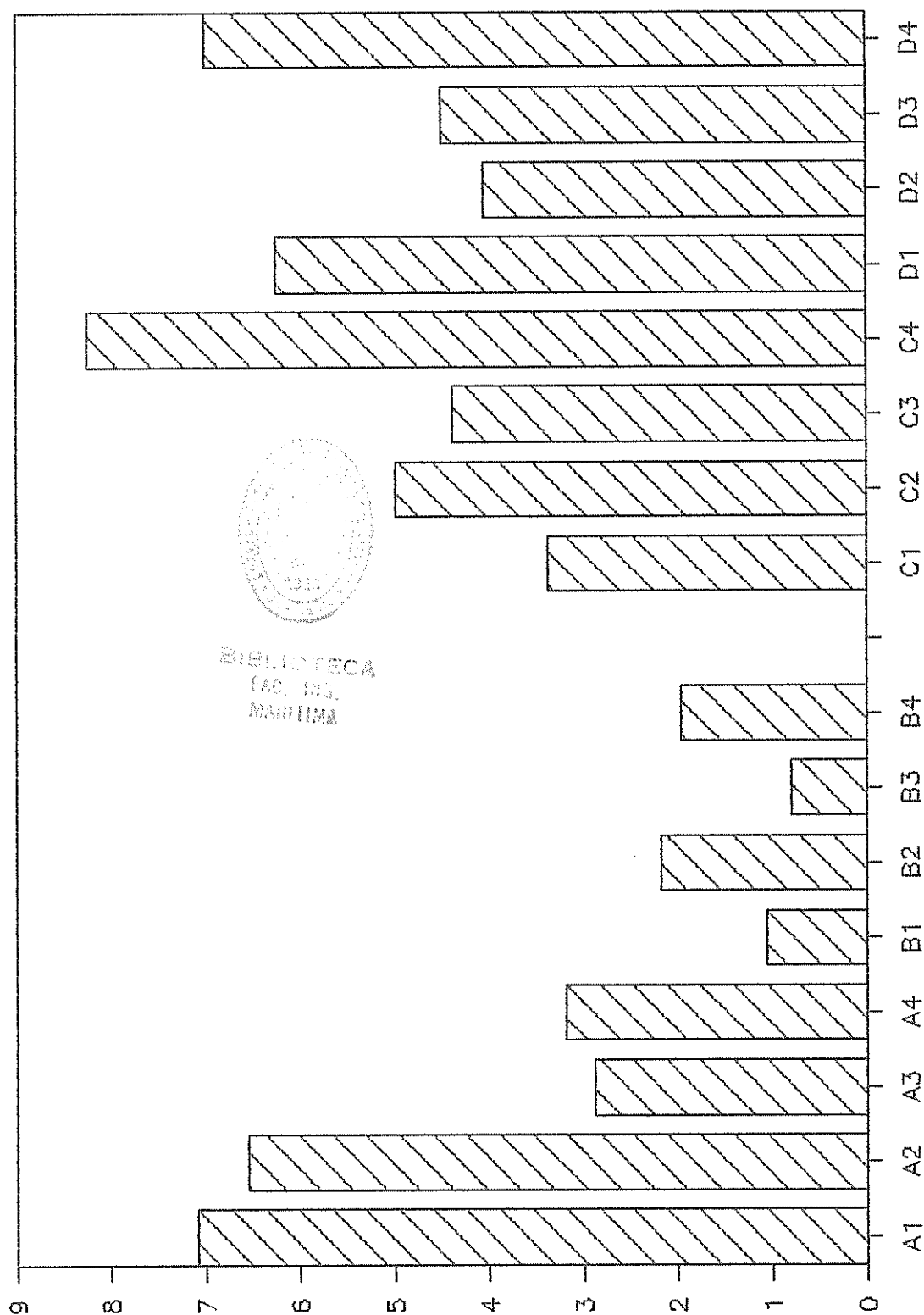


GRAFICO DE INCRT. DE LONG. CEFLT. ROST.

PARA TRATAMIENTO CON FURAZOLIDONA



LONG.(LCR) DE LARVAS (2.5E-3)

INCRT. LONG. CEF.R.

GRAFICO DE INCRT. DE LONG. CEFLT. BASR. PARA TRATAMIENTOS CON FURAZOLIDONA

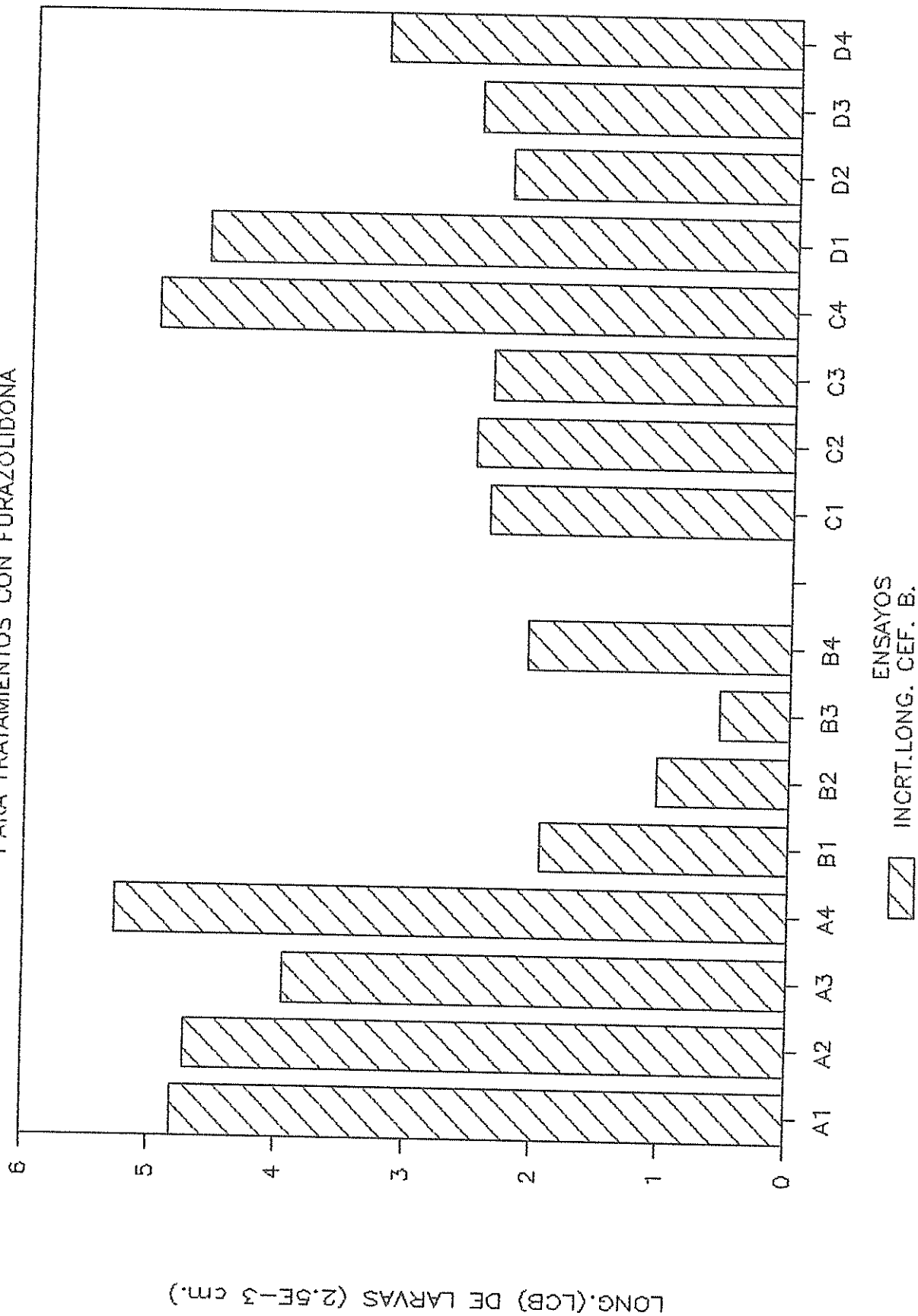


GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBV. EN

STRESS DE 50/00 PARA FURAZOLIDONA

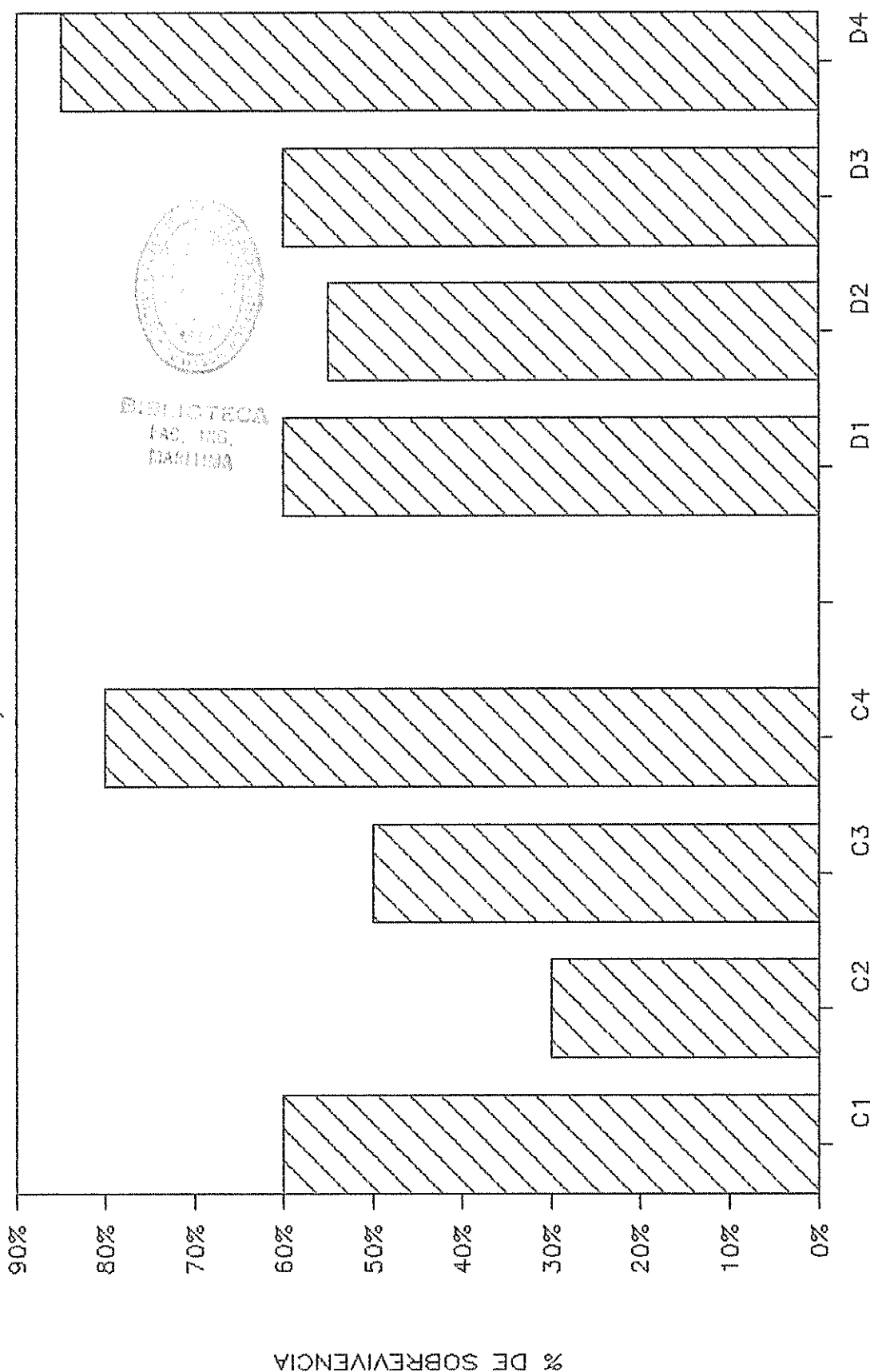


GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBV. EN

STRESS DE So/oo PARA FURAZOLIDONA

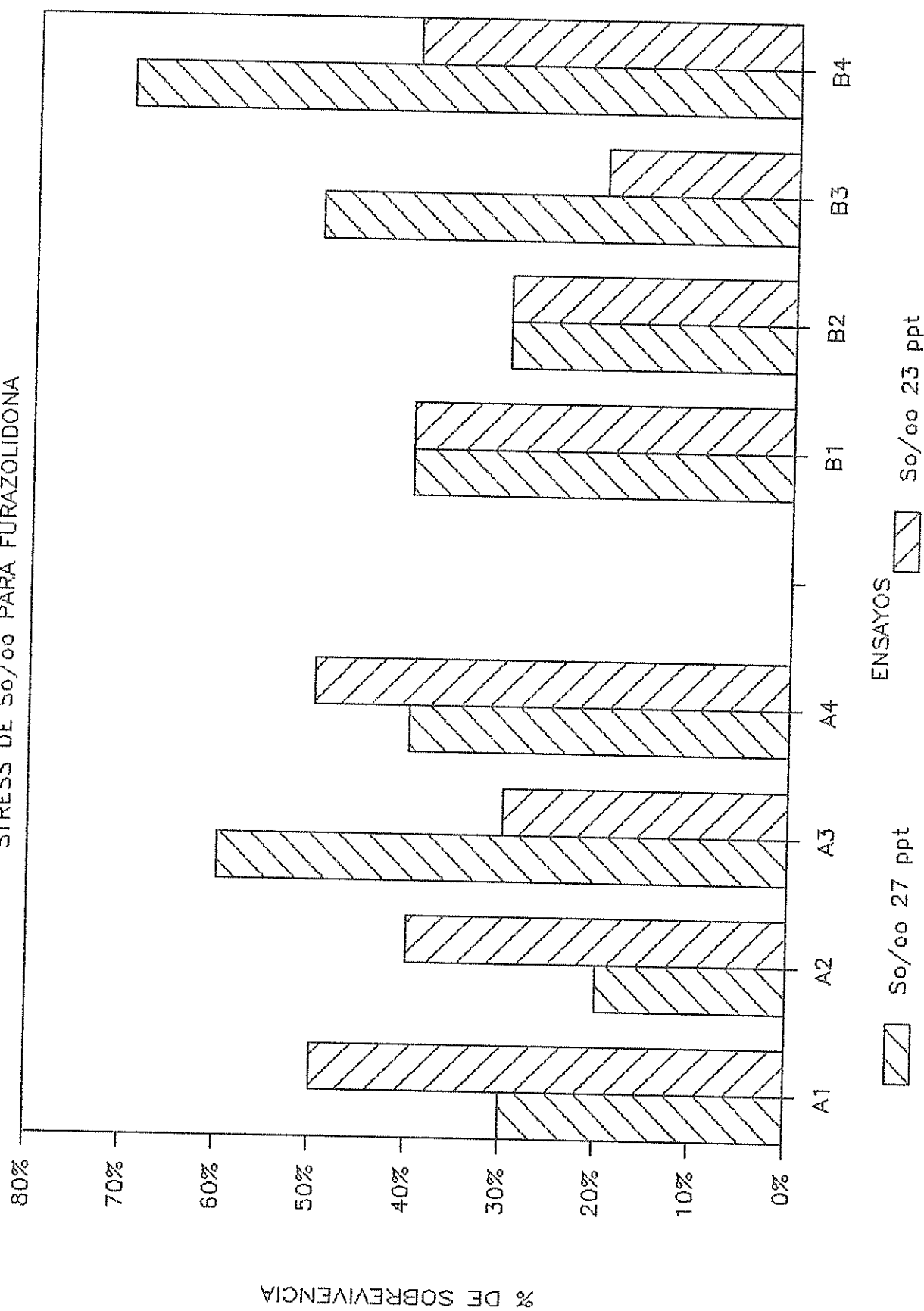
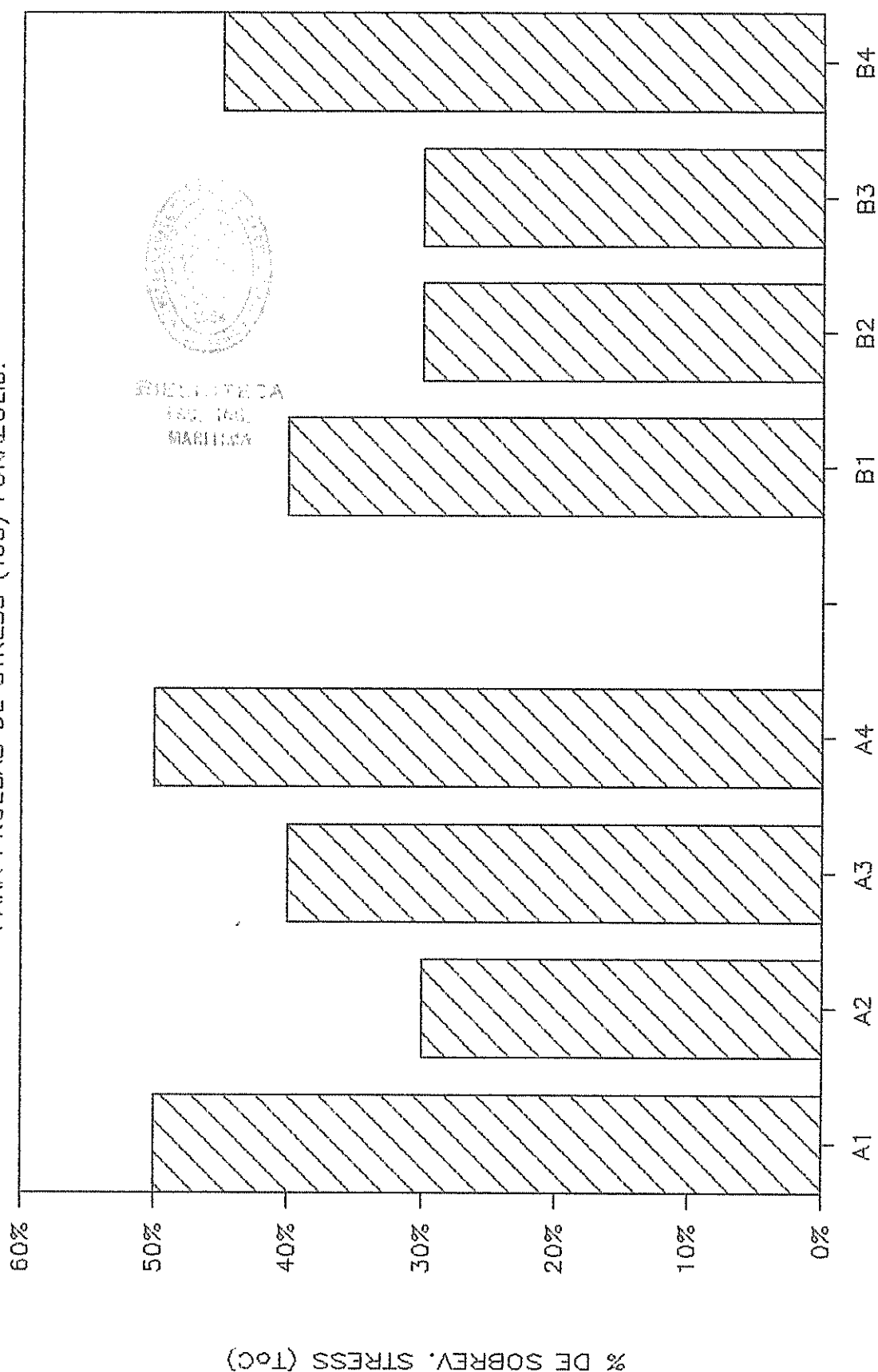


GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBREVIV.

PARA PRUEBAS DE STRESS (ToC) FURAZOLID.



ENSAYOS
% DE SOBREV. STS ToC

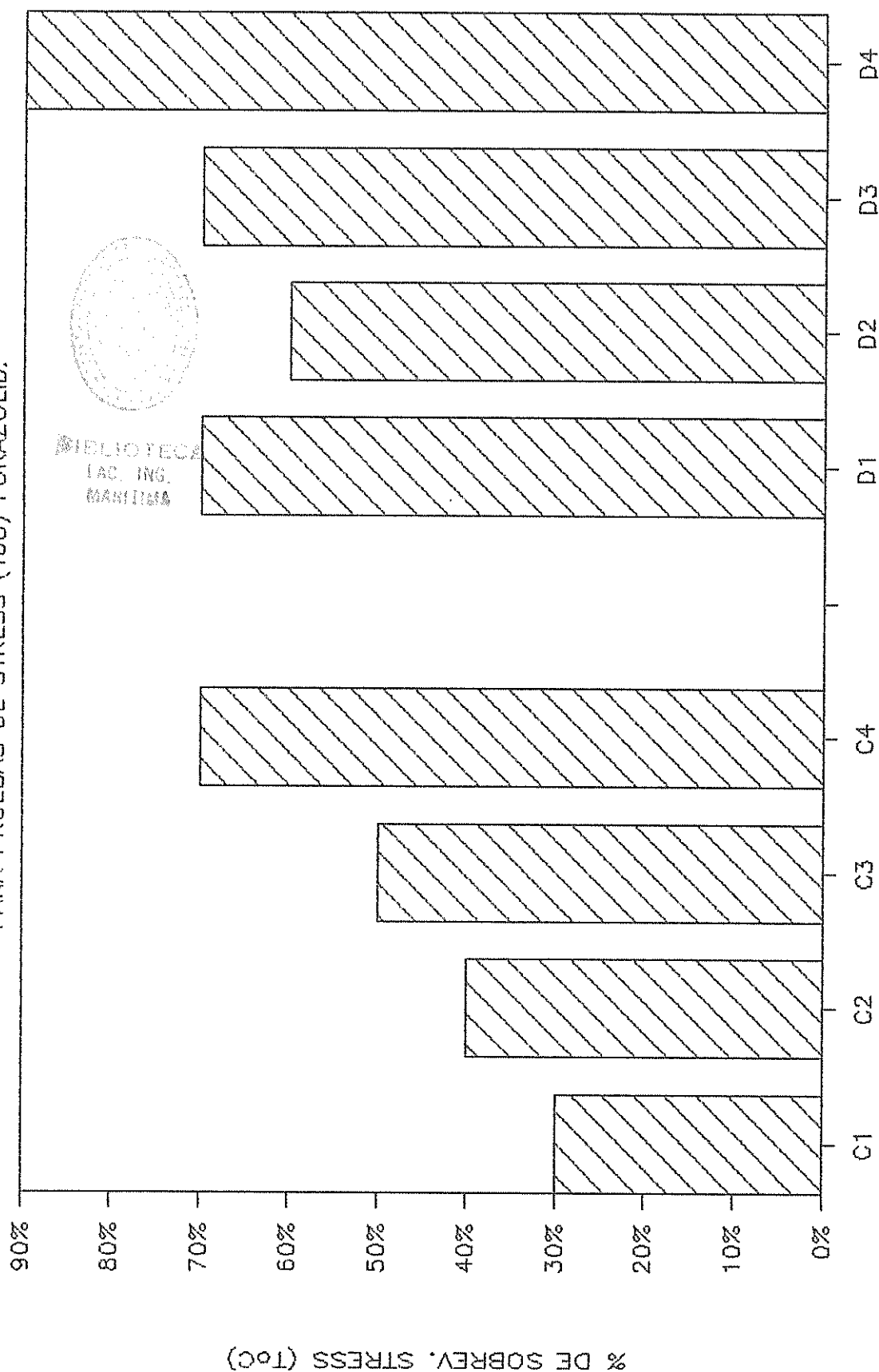
GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBREVIV.

PARA PRUEBAS DE STRESS (T₀C) FURAZOLID.



GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBREVIV.

PARA PRUEBAS DE STRESS (ToC) FURAZOLID.



ENSAYOS C - D (2)
% DE SOBREV. STS ToC

GRAFICO COMPARATIVO DEL % DE SOBREV. DE

LARVAS TRATADAS CON CLORANFENICOL

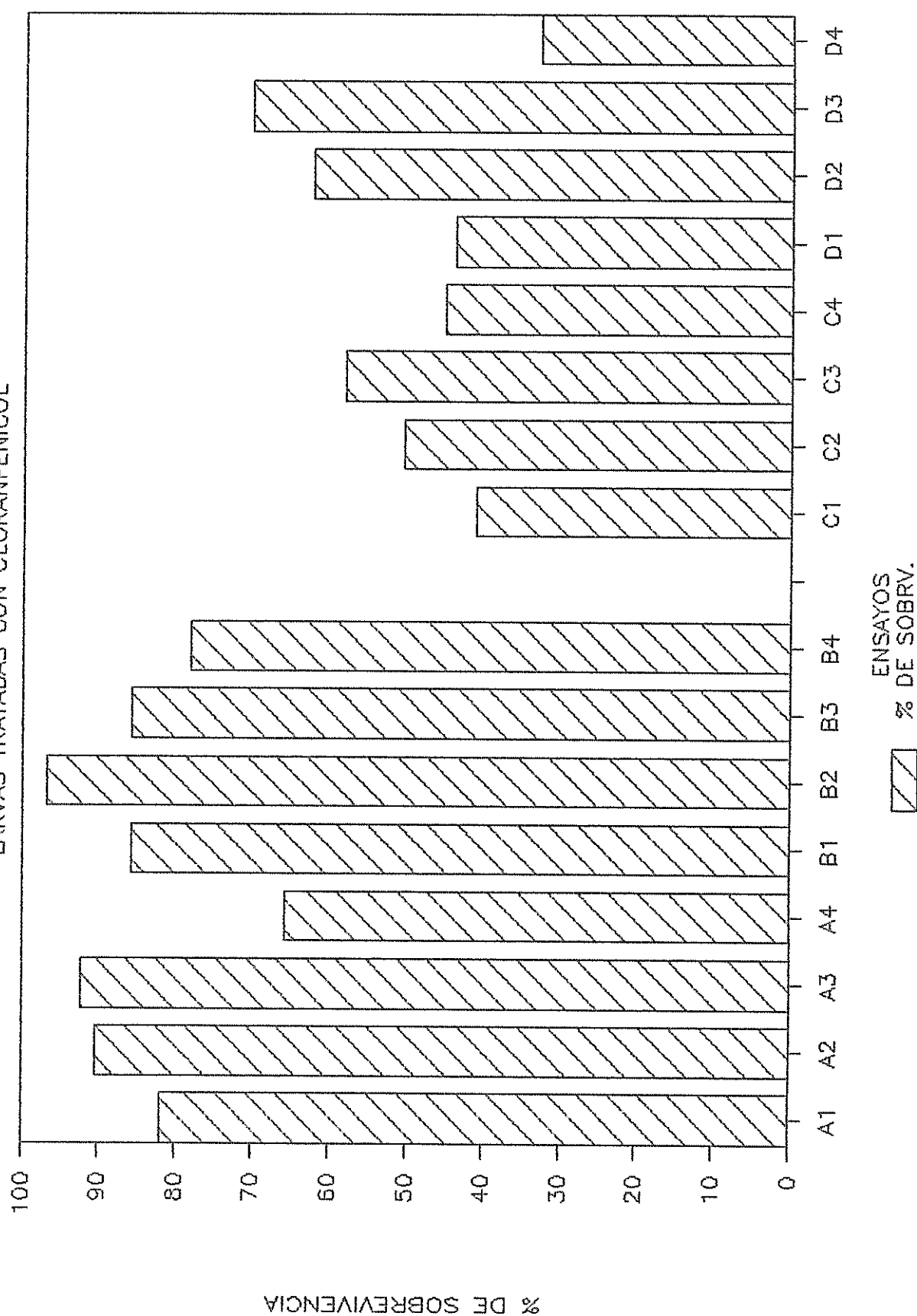
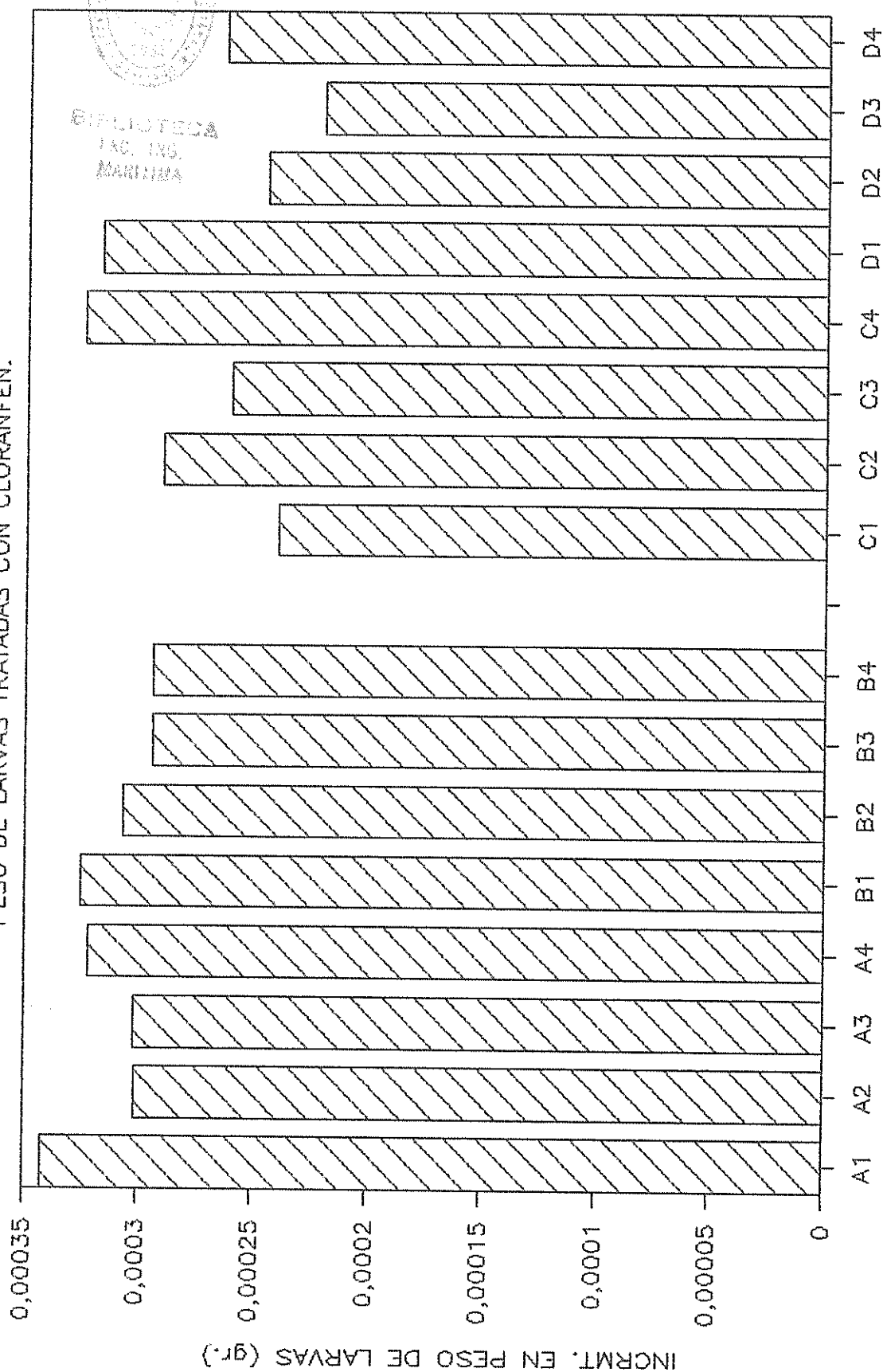


GRAFICO COMPARATIVO DEL INCREMENTO DE

PESO DE LARVAS TRATADAS CON CLORANFEN.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

ENSAYOS
PESO (gr.)

GRAFICO COMPARATIVO DEL INCREMT. EN LCR DE LARVAS TRATADAS CON CLORANFENICOL

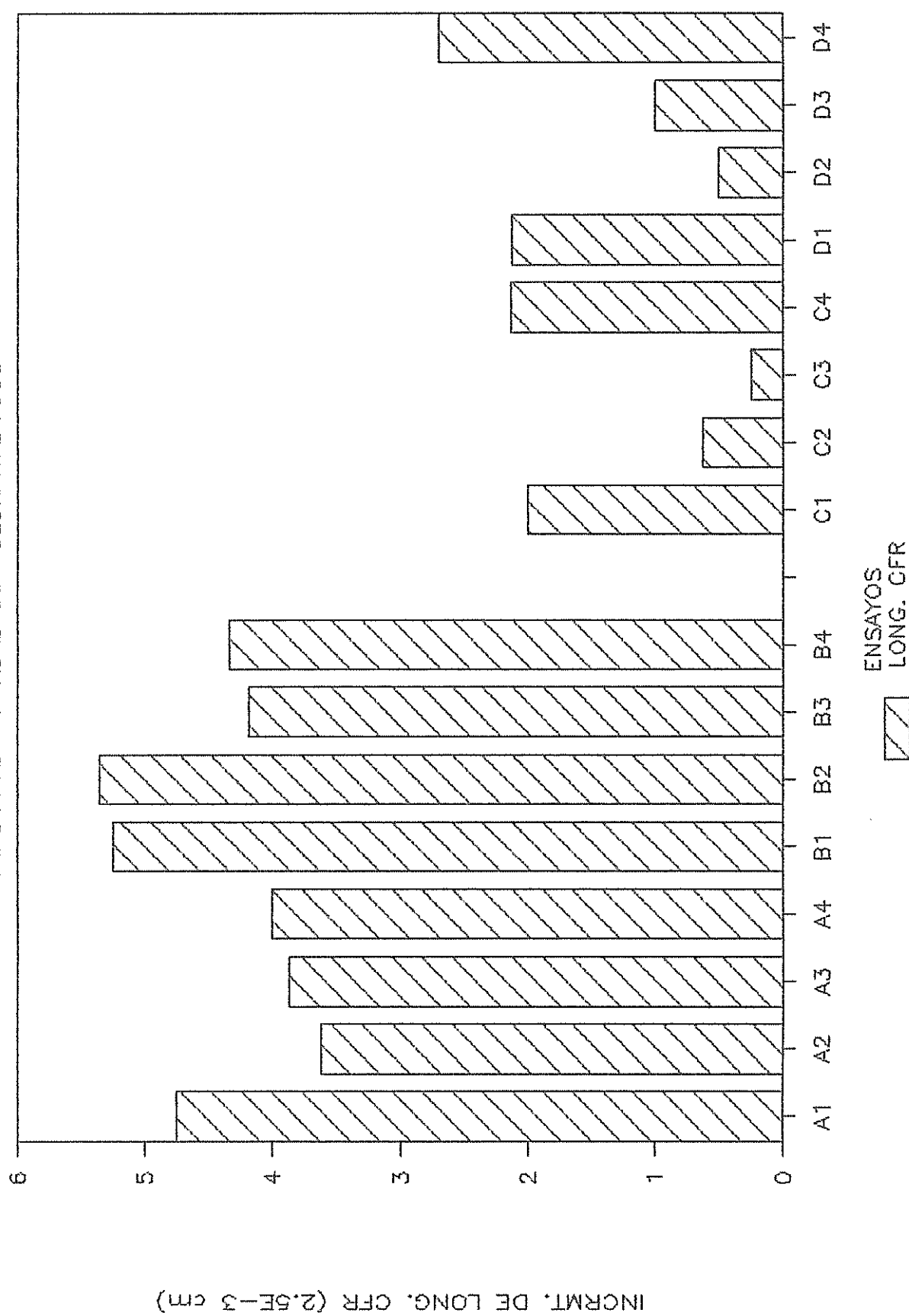


GRAFICO COMPARATIVO DEL INCREMENT. EN LCB

DE LARVAS TRATADAS CON CLORANFENICOL

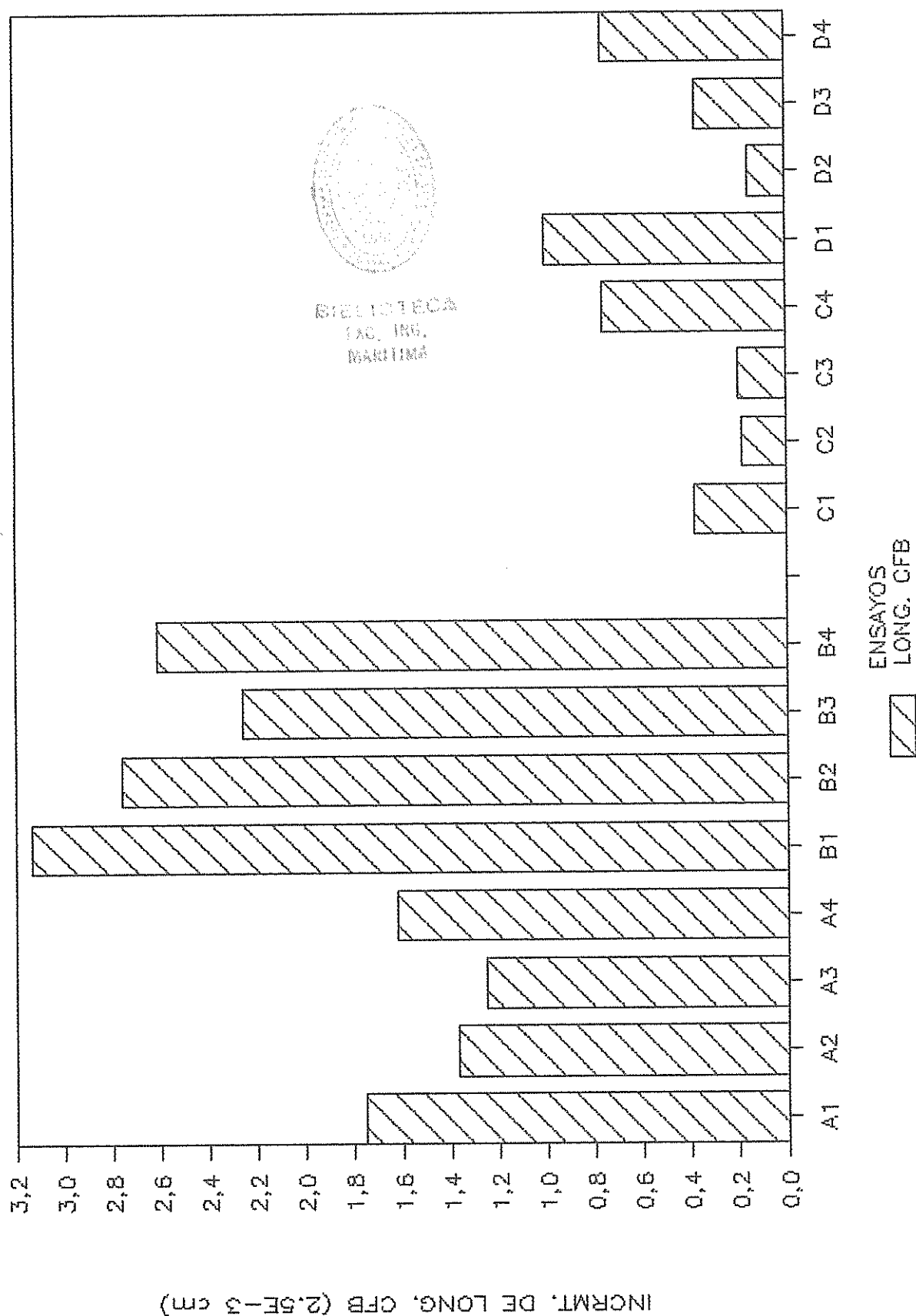


GRAFICO COMPARATIVO DE LA SOBREVIVENCIA

A STRESS POR SALINIDAD

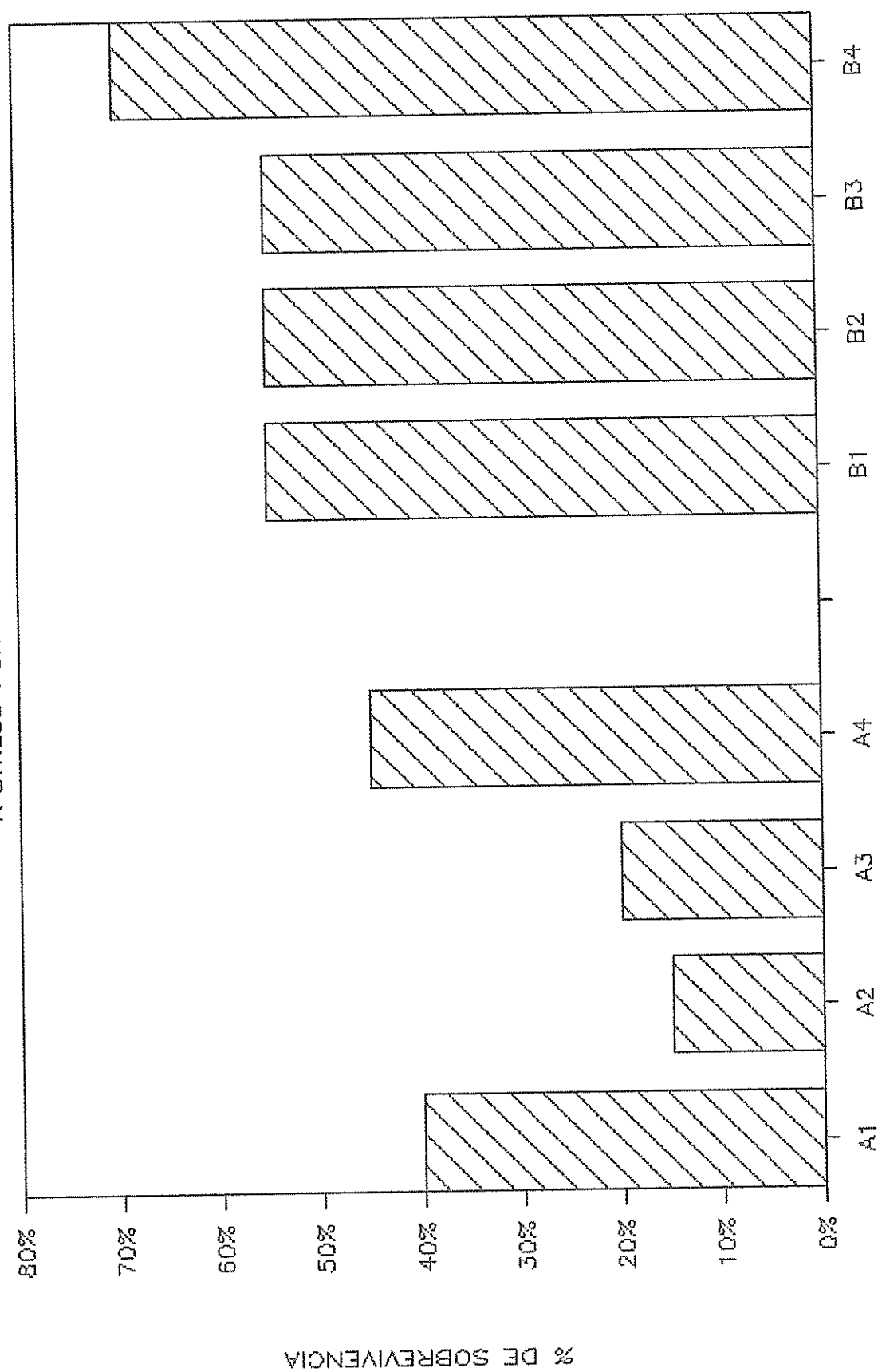
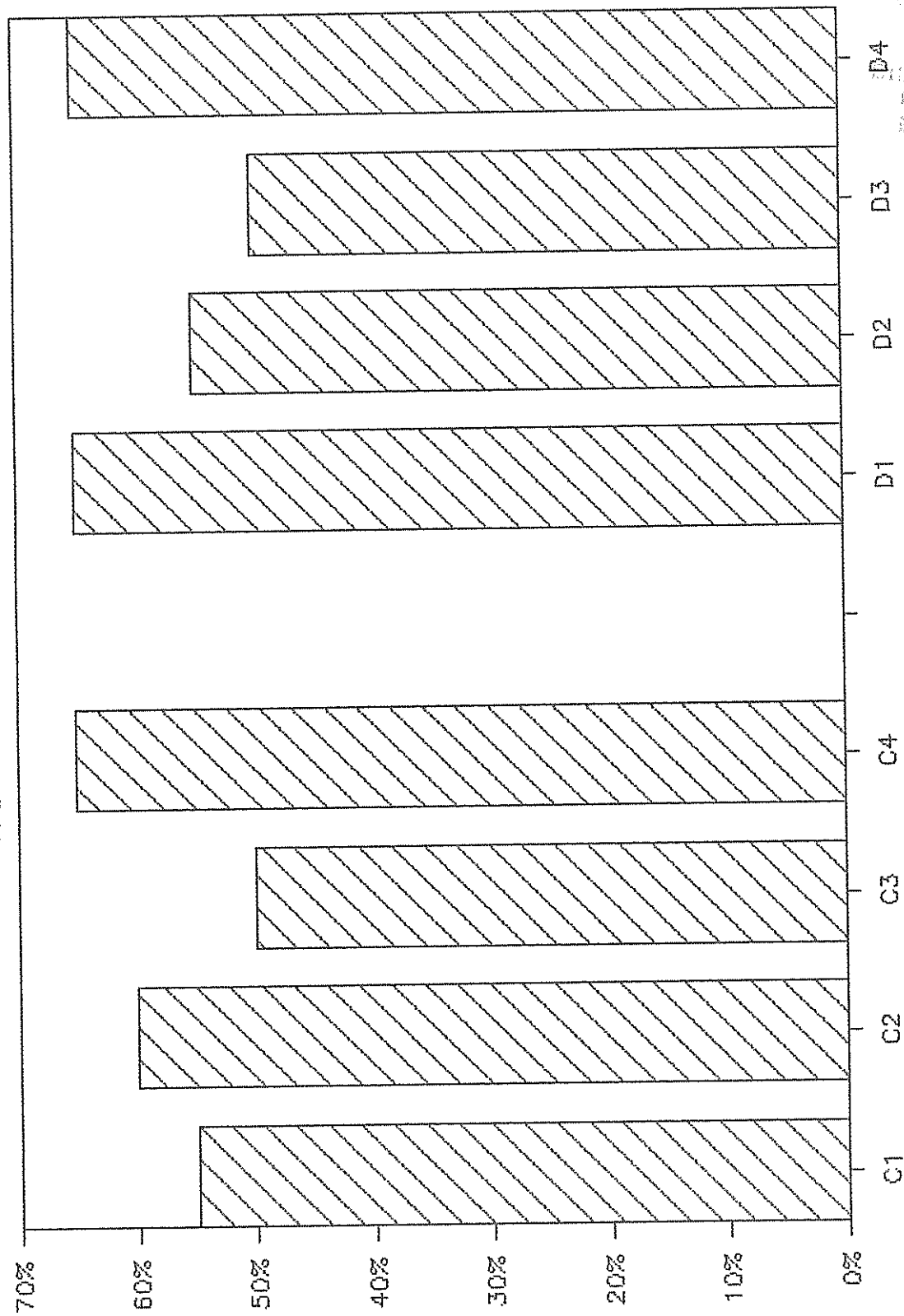


GRAFICO COMPARATIVO DE LA SOBREVIVENCIA

A STRESS POR SALINIDAD



ENSAYOS
% DE SOBREV. 23 ppt

D4

D3

D2

D1

C4

C3

C2

C1

GRAFICO COMPARATIVO DE LA SOBREVIVIC. A

STRESS POR TEMP. TRATADAS CON CLORANF.

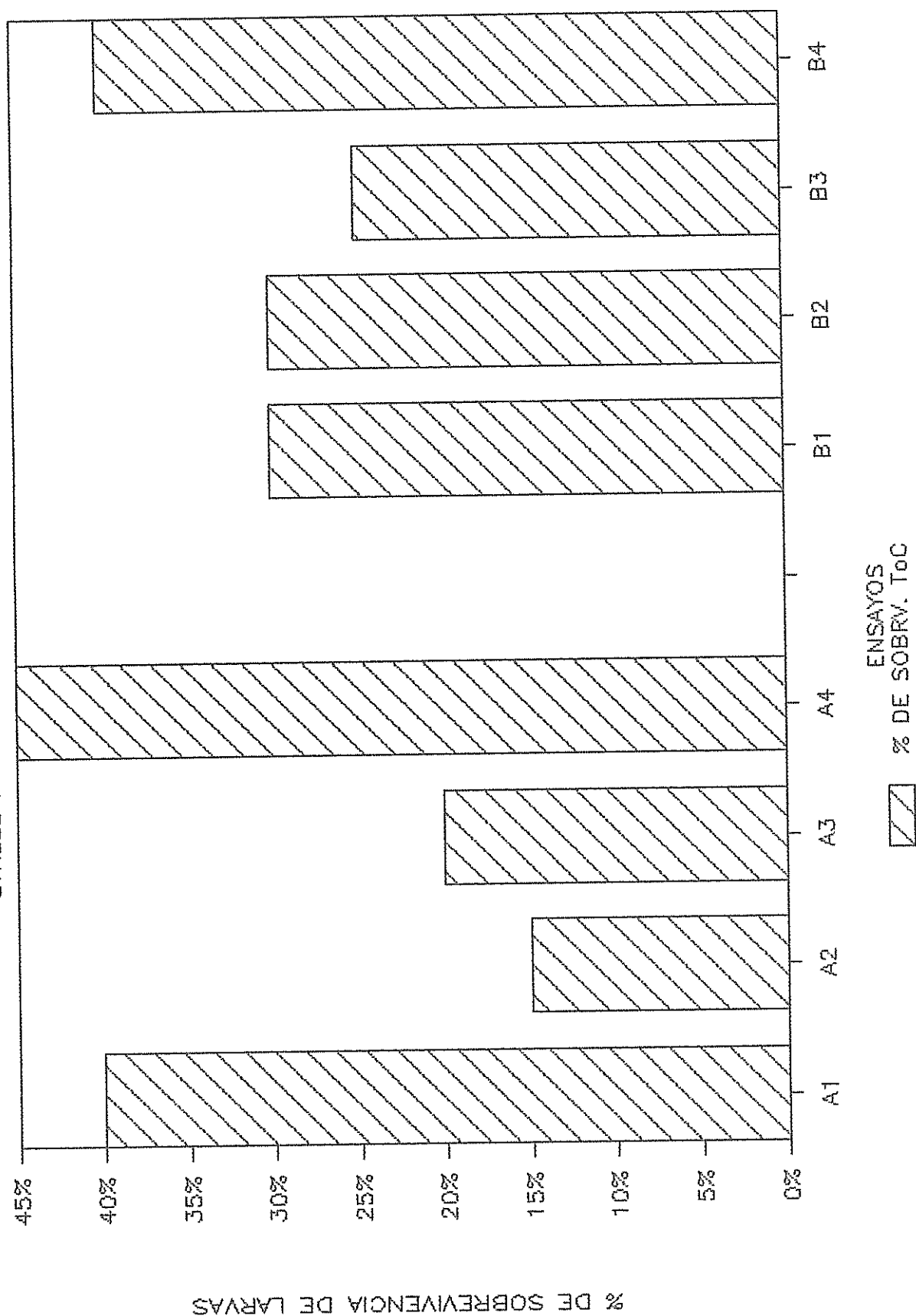
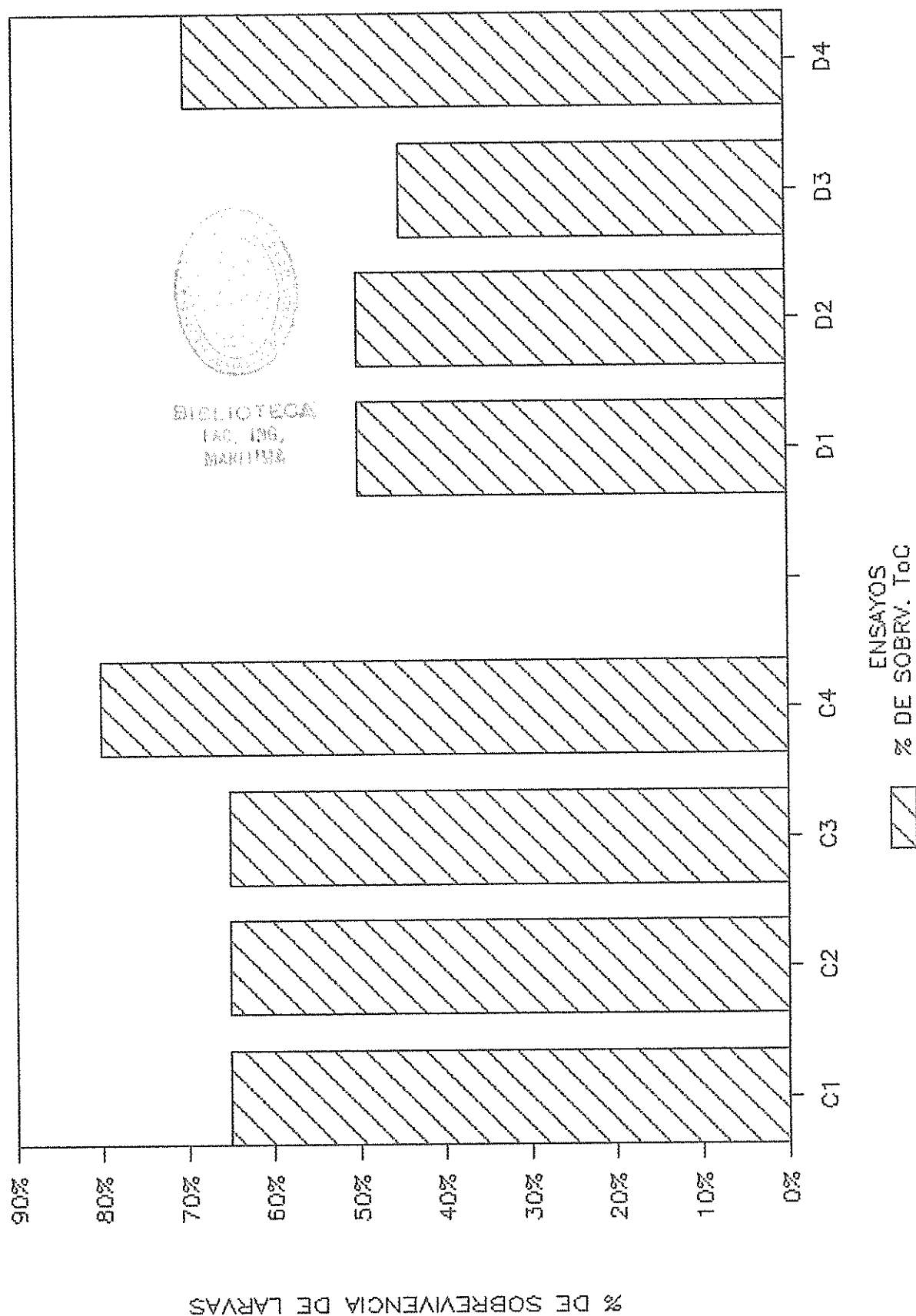


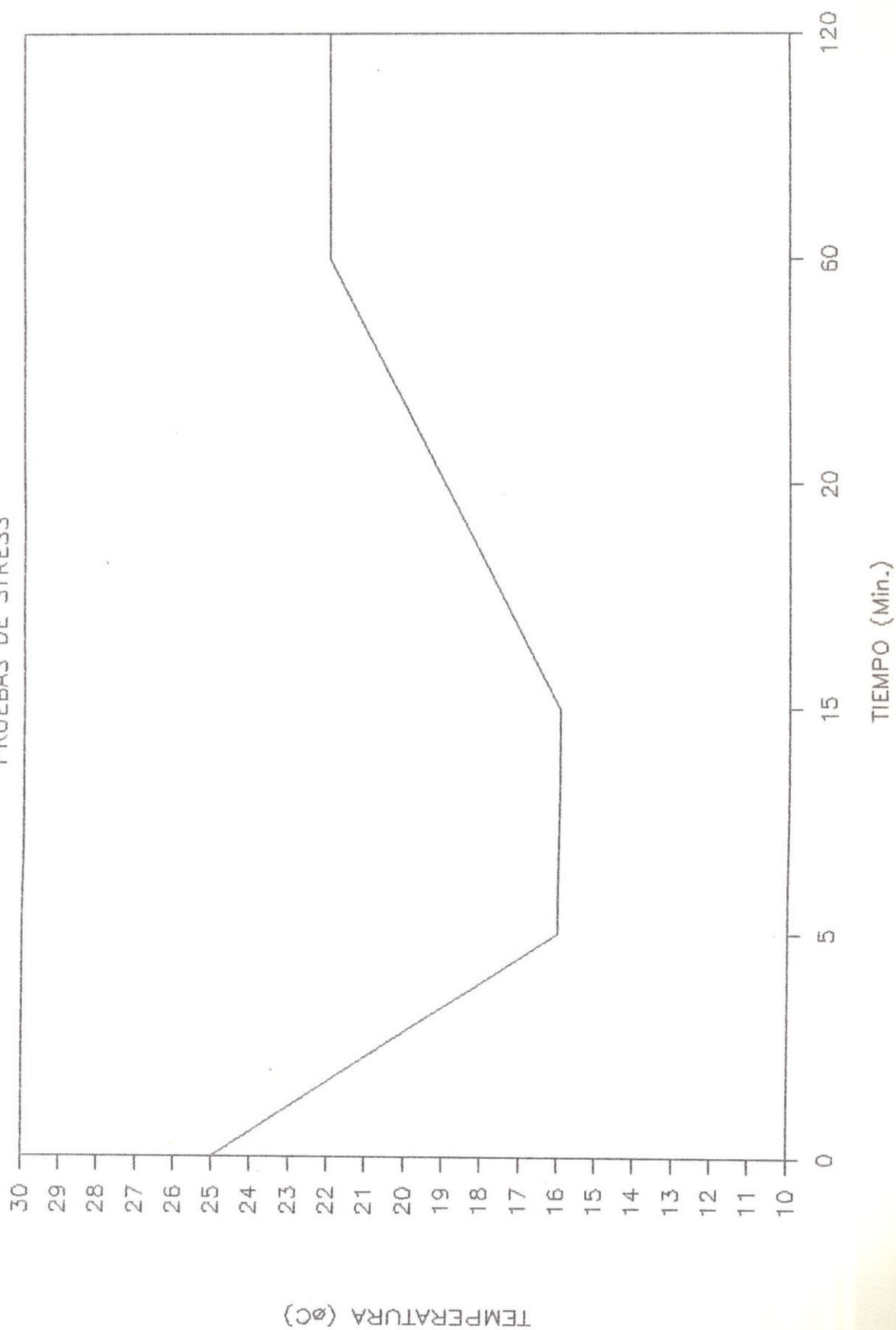
GRAFICO COMPARATIVO DE LA SOBREVIVENCIA DE LAS LARVAS

STRESS POR TEMP. TRATADAS CON CLORANIF.



CURVA DE VARIACION DE TEMPERATURA EN

PRUEBAS DE STRESS



4.2 .- ANALISIS ESTADISTICO

Para la evaluación estadística de los datos obtenidos en esta investigación, se utilizó tres (3) tests estadísticos estos son el test de Student y el test de la T de Wilcoxon.

Usando estos dos tests se procedió al análisis de los datos, agrupandolos en Sobrevivencia, Longitud cefalotoraxica rostral (LCR), Longitud cefalotoraxica sin rostrum (LCB), Stress por Temperatura y Stress por Salinidad, para los dos antibioticos.

SOBREVIVENCIA.

FURA	tc	te	C	α
A1 - A4	1.44	0.96	A	0,10
A2 - A4				
A3 - A4				

CLORA	tc	te	C	α
A1 - A4	1.44	0.48	A	0,10
A2 - A4	1.44	1.31	R	0,10
A3 - A4	1.44	1.66	R	0,10

BIBLIOTECA
FAC. CIU.
MARITIMA

PESO.

FURA	tc	te	C	α
A1 - A4	1.44	0.96	A	0,10
A2 - A4	1.44		A	0,10
A3 - A4	1.44		A	0,10

CLORA	tc	te	C	α
A1 - A4	1.44	0.20	A	0,10
A2 - A4	1.44	0,77	A	0,10
A3 - A4	1.44	1.38	A	0,10

LONGITUD CEFALOTORAXICA ROSTRAL

FURA	Uc	C	α	gl
A1 - A4	9.0	A	0,05	6
A2 - A4	9.0	A	0,05	6
A3 - A4	11.0	A	0,05	6

CLORA	tc	te	C	α	gl
A1 - A4	1.44	0.20	A	0,10	6
A2 - A4	1.44	0,60	A	0,10	6
A3 - A4	1.44	0,85	A	0,10	6

LONGITUD CEFALOTORAXICA SIN ROSTRUM

FURA	tc	te	C	α	A1 A1
A1 - A4	1.44	0.68	A	0,10	6
A2 - A4	1.44	1.30	A	0,10	6
A3 - A4	1.44	1.53	R	0,10	6
CLORA	tc	te	C	α	gl
A1 - A4	1.44	0.18	A	0,10	6
A2 - A4	1.44	0,37	A	0,10	6
A3 - A4	1.44	0,99	A	0,10	6

STRESS SALINIDAD

FURA	tc	te	C	α	gl
A1 - A4	1.37	1,47	R	0,10	10
A2 - A4	2,76	3,10	R	0,01	10
A3 - A4	2,28	2,38	R	0,025	10
CLORA	tc	te	C	α	gl
A1 - A4	1.34	1.13	A	0,10	14
A2 - A4	1.76	1.71	R	0,05	14
A3 - A4	2.14	2.52	R	0,025	14

STRESS TEMPERATURA

FURA	t_c	t_e	C	α	g1
A1 - A4	1.33	1.61	R	$\emptyset, 10$	18
A2 - A4	1.73	2.00	R	$\emptyset, 05$	18
A3 - A4	1.33	1.67	R	$\emptyset, 10$	18

CLORA	t_c	t_e	C	α	g1
A1 - A4	1.34	1.22	A	$\emptyset, 10$	14
A2 - A4	1.34	1.98	R	$\emptyset, 10$	14
A3 - A4	1.34	1.70	R	$\emptyset, 10$	14



SIBLIOTECA
I.T.E.S.O.
MARTINEZ

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se realizó un estudio con el objeto de determinar si existe una influencia de los antibióticos sobre las larvas de P. vannamei, en el que se trató a las larvas con dos diferentes antibióticos, Cloranfenicol y Furazolidona, durante los tres estadios de misys, realizando el bioensayo a una densidad de 70 larvas de P. vannamei por litro.

Los dos antibióticos fueron suministrados en tres concentraciones; la concentración mínima o tratamiento uno (T1) fue 0.5 ppm para el Furazolidona y de 1.0 ppm para el Cloranfenicol. La concentración media o tratamiento dos (T2) fue de 0.75 ppm para el Furazolidona y de 5.5 ppm para el cloranfenicol. La concentración máxima o Tratamiento tres (T3), fue de 1.0 ppm para el Furazolidona y de 10.0 ppm para el Cloranfenicol.

A la par de estos tratamientos se llevaba un tratamiento denominado control (C) sin antibiótico para efecto de referencia. Una vez tomados y evaluados estadísticamente los datos se concluye lo siguiente :

1.- SOBREVIVENCIA

1.1.- En lo que se refiere a la sobrevivencia con el uso del Furazolidona, el tratamiento tres (T3) fue significativamente mejor que los otros dos tratamientos (T1 y T2) y el control (C) ($P = 0.1$); siendo $C < T1 < T2 < T3$; $C = 66,5\%$ $T1 = 73,1\%$, $T2 = 76,1\%$, $T3 = 82,6\%$.

Con el uso del cloranfenicol se encontró que : el tratamiento tres (T3) fue significativamente mayor que las otras dos concentraciones (T1 y T2) y que el control (C) ($P = 0.10$); mientras entre tratamiento T1-T2 y el control no se encontró diferencia significativa ($P = 0.10$).

Considerando las medias resultó que $C < T1 < T2 < T3$ $C = 55.5\%$, $T1 = 63,75\%$, $T2 = 72,3\%$, $T3 = 76,7\%$.

Concluyendo que en lo que a la sobrevivencia se refiere, las concentraciones mayores de los antibióticos utilizados son las de mayor sobrevivencia, siendo directamente proporcional a la concentración del antibiótico.

BIBLIOTECA
ING. MARITIMO

2.- PESO

2.1.- El peso de las larvas, en lo que respecta a su incremento no fue afectado significativamente ($P = 0.1$) (t de student).

Concluyendo que la presencia del antibiótico no fue significativamente responsable para un incremento o decremento del peso de los estadios larvales tratados en los ensayos ya que estadísticamente entre si son iguales.

3.- LONGITUD

3.1.- Otra variable que se consideró para determinar los efectos de los antibióticos y sus concentraciones sobre las larvas; es la Longitud Total (LCR); en el caso de los dos antibióticos fue igual. No existe una diferencia significativa entre las concentraciones y el control. Teniendo que la presencia o ausencia de los antibióticos y sus concentraciones no afecta el desarrollo de las larvas en lo que a LCR se refiere ($P = 0.1$).

3.2.- Al igual que la longitud total, se tomó la longitud cefalotorácica sin rostrum (LSR), teniendo los resultados siguientes, para el furazolidona se encontró que el tratamiento tres es significativamente menor que el control ($P = 0.1$). En cambio para los tratamientos uno y dos (T1 y T2), no existió una diferencia significativa con respecto al control. Siendo no afectada la LCR con la presencia del antibiótico sino con la concentración alta usada en este caso de 1 ppm.

El cloranfenicol afectó a la longitud cefalotorácica sin rostrum (LCB), de manera diferente, no existiendo una diferencia significativa entre el control y los tratamientos ($P = 0.1$).

Concluyendo que la presencia de concentraciones de cloranfenicol no afecta significativamente a la LCB.

4. PRUEBAS DE STRESS

SALINIDAD

4.1.- La vigorosidad o resistencia de las las larvas tratadas con el Furazolidona en sus tres concentraciones, fue afectada significativamente, para las pruebas de stress con salinidad, produciendo una variación brusca de 34 ppt a 15 ppt.

Se encontró que el control en la sobrevivencia fue significativamente mayor con respecto a los tres tratamientos del antibiótico ($P = 0.05$) y que el tratamiento T1, fue significativamente mayor que los otros dos tratamientos

($P = 0.025$); concluyéndose que el furazolidona afecta significativamente a la resistencia a cambios bruscos de salinidad, teniendo el tratamiento T1, una mayor resistencia al stres por salinidad entre los tres tratamientos ($P = 0.05$) y tomando el control como el 100% se obtiene T1 = 82.2%, el T2 = 60.8% y el T3 = 62.7%.

4.2.- La misma prueba de stress por salinidad se efectuó a las larvas tratadas con el cloranfenicol, demostrando un comportamiento muy similar que el del furazolidona. El control fue el de mayor resistencia comparado con los tres tratamientos ($P = 0.05$). En lo que respecta entre los tratamientos, se encontró que el tratamiento de menor concentración (T1), la sobrevivencia fue significativamente mayor que los otros dos tratamientos (T2 y T3) ($P = 0.05$).

Concluyendose que la presencia del cloranfenicol afecta en forma negativa a la resistencia de las larvas a cambios brusco de salinidad, incrementándose su efecto negativo conforme aumenta la concentración. Observando que entre los tres tratamientos con cloranfenicol el T1 fue el de mayor resistencia.

Tomando como referencia el control $C = 100\%$, se obtuvo que los valores de referencia al stress fuerón $T1 = 85.7\%$, $T2 = 77.5\%$;
 $T3 = 71.4\%$



TEMPERATURA

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARÍTIMA

4.3.- Otra prueba para determinar la proporción en que afecta los antibióticos a la resistencia o vigorosidad de las larvas, es la prueba de stress por temperatura, esto es al producir una variación brusca de la temperatura (de 28°C a 16°C).

En el caso de los tratamientos con furazolidona se encontró que: El control C fue significativamente mas resistente a la baja de temperatura que los tres tratamientos ($P = 0.05$) y que entre los tratamientos no existió variación alguna, siendo el T1 igual al T2 Y T3 ($P = 0.1$);

Concluyéndose que la presencia del furazolidona afecta de manera significativa a las larvas en su capacidad de resistir las variaciones bruscas de temperatura sin importar la cantidad del antibiótico o su concentración. Por lo que el furazolidona no actua en forma proporcional a su concentración si no solo a su presencia. Tomando el control como el 100% se tiene que el T1 = 86.3%, T2 = 76.5% y T3 = 80.4%.

4.4.- Las pruebas de stress por temperatura, en el caso del cloranfenicol, demostraron que la capacidad de resistencia de las larvas a la variación brusca de temperatura fue afectada en forma negativa; por lo que el control tuvo una mayor resistencia que los tres tratamientos ($P = 0.1$) (t Student) y de ($P = 0.025$) (Wilcoxon). Entre los tratamientos no hubo una diferencia significativa, siendo $T_1 = T_2 = T_3$. ($P = 0.1$).

Concluyéndose que la presencia del cloranfenicol afecta de manera significativa a la resistencia de las larvas a los cambios bruscos de temperatura, sin que su dosificación del cloranfenicol tenga incidencia en una menor o mayor resistencia.

Tomándose al control como el 100% , se tiene $T_1 = 78.7\%$, $T_2 = 68.1\%$ y $T_3 = 65.9\%$.

Por lo estipulado anteriormente en las diferentes mediciones y pruebas que se hizo a las larvas. Se concluye que las larvas tratadas con los dos antibióticos son de menor calidad considerando el factor stress que las larvas que no fueron tratadas (controles).

5.- Los ensayos con los nauplios utilizados provenían del departamento de maduración de la ESPOL, para lo cual se conto con los datos de desove. Teniendo un promedio de nauplios por hembra de 76667 en el ensayo con del furazolidona y de 60000 en el ensayo con el cloranfenicol. Es importante considerar la calidad del nauplio para ensayos como los anteriormente realizados.

En resumen podemos señalar en base a los resultados obtenidos en las pruebas de stress lo siguiente:

5.1 Que se determinó una mayor supervivencia a las pruebas de stress de salinidad a las larvas tratadas con antibióticos comparándolas con las pruebas de temperatura, mientras que el stress causado por temperatura nos dá una mayor mortalidad.

5.2 Por último el promedio de desoves no es estadísticamente diferente, aunque no se tiene datos suficientes para análisis estadístico. Se considera que no existe una influencia en los datos obtenidos en las diferentes mediciones y pruebas obtenidas por calidad de los nauplios, ya que los nauplios y sus réplicas provenían de una misma fuente, para el 50% de los biensayos realizados.

RECOMENDACIONES

1.- En esta tesis no se realizó ningún tipo de estudio microbiológico, recomendando que se realice una mayor investigación de este tema de tesis, pero en conjunto o en paralelo a una investigación microbiológica tanto de la larva como del medio.

2.- La importancia que tiene las pruebas de stress para la determinación de la calidad de las larvas de laboratorio, permite sugerir que se continúe con esta metodología y sistemas para establecer un patrón común.

3.- Estudios relacionados con la influencia de los antibióticos en el Hepatopáncreas del camarón también se recomienda realizar.

4.- Este estudio demuestra en forma parcial el uso y más que nada el abuso de los antibióticos, en este caso el Furazolidona y el Cloranfenicol, afecta a las larvas, dato que se reconfirma con las pruebas de stress. Es importante que los laboratorios deberían implementar un mejor uso o eliminación de los antibióticos a través de pruebas microbiológicas, tales como antibiogramas y controles mínimos inhibitorios (MIC).

Mantener el criterio de no usar antibiótico hasta que sea realmente necesaria su aplicación. En todo caso estudiar la calidad de agua en los sistemas y un mejor manejo del mismo.



BIBLIOTECA
FAC. MED.
MARITIMA

BIBLIOGRAFIA.

- Austin B., Morgan D. Comparasion of antimicrobial agents for control of vibriosis in marine fish, Elsivier Scientific Publishing Company, Amsterdan, 1981. Aquaculture, 26:1-12
- Bowen J., berr J., Fish Hatchery Management., U.S. Goverment Print Office, 1982, 266 - 284 p.
- Clegg F., Estadistica Facil, Editorial Critica, 1984.
- Corliss, J. Accumulation and Depletion of Oxytetracycline in Juvenile white shrimp (*Penaeus setiferus*). Aquaculture, 1974, 16:1-6 p.
- Curso de Patologia II, Recopilación y Traducción Bibliográfica sobre Enfermedades y Tratamientos de Camarón Marino. Espol, 1987.
- Delves - Brogton, S. Preliminary Investigations into the sultability of a new Chemotherapeutic, Furanace, for the treatment of infectigus Prawn Diseases. Aquaculture, 3 (1974), 111 - 183 p.

- Haber A., Runyon R., Estadística General, Fondo Educativo Interamericano S. A., 1973.

- Hank s, k. Toxicity of some chemical therapeutics to the comercial shirmp, *Penaeus Californiensis*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam Aquaculture, 1975, 293 - 294 p.



- Herwing N., Handbook of Drugs and Chemical used in the treatment of fish diseases, Charles Thomas Publisher, Illinois, 1979.

BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

- Johnson J., Handbook of shrimp diseases, Texas AM Research and Extension Center Copus Christi, Texas, 1978.

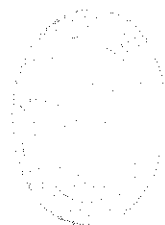
- Kleutzmann, H. The effects of Chloramphenicol and Oxytetracycline on Haematopoiesis in the European del (Anguilla Anguillus), Aquaculture, 1977, 10: 323 - 334 p.

- Lawrence A., Mavey S., Huner S., Penaid Shrimp Culture.

- Litler Ma., Farmacologia. "Libreria El Ateneo" 1983. 592 - 1653 p.

- Merck Index, 2040 4.

- Morales C., Acuacultura Marina Animal, 19.
- Pearse L., Pullin R., Conroy D., McGregor D., Observations on the use of Furanace for the control of vibrio disease in marine flatfish, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1973, 295 -301 p.
- Roberts R., Patologia de los Peces, Ediciones Mundi-Prensa, 1981.
- Tackaert, W., Abelin P., Dhert Ph. and Sorgeloos, P., 1989. Stress resistance in postlarval Penaeid shrimp reared under different feeding procedures. Los Angeles, USA, Feb. 1989.
- Treace G., Larval Rearing Technology, Texas Agricultural Extension Service 442 Igle Burg Center Texas A&M University, 1985.
- Sokal R., Rohlf F., Biometria, H. Blutle Ediciones, 1979.
- Sniesko S., Aselroo M., Diseases of Fishes, T.F.H. Publications Inc. Box 427 Nertune, N.J. 07753. 20- 93 p.



BIBLIOTECA
EX. ING.
MARITIMA