ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

"La tilapia y su efecto en la prevalencia del virus de la mancha blanca (WSSV) en poblaciones de camarón"

Tesis de Grado

Previa a la obtención del título de:

MAGISTER EN CIENCIAS

Presentada por:

René Oscar Rodríguez Grimón

Guayaquil – Ecuador

2003

TESIS ELABORADA CON EL SOPORTE DE:

FUNDACIÓN CENAIM-ESPOL

COOPERACIÓN TÉCNICA BELGA

**UNIVERSIDAD DE GANTE
BÉLGICA**

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE LOVAINA – BÉLGICA**

VITA

René Oscar Rodríguez Grimón de nacionalidad cubana, nació el 9 de Junio de 1974 en la ciudad de Cienfuegos; hijo de Fermín R. Rodríguez Moreno y Lourdes A. Grimón Hernández. Graduado como Biólogo en la Facultad de Biología de la Universidad de la Habana en Julio del año 1998. En Septiembre de ese mismo año comenzó su vida profesional en el Centro de Preparación Acuícola "Mampostón" (CPAM) perteneciente al Ministerio de la Industria Pesquera ubicado en la Habana, donde se mantuvo laborando hasta su incorporación en Septiembre del 2001 al Programa de Maestría en Acuicultura Marina organizado por la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar de la Escuela Superior Politécnica del Litoral del Ecuador.

DECLARACIÓN EXPRESA

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

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

René Oscar Rodríguez G.

TRIBUNAL DE TESIS

Eduardo Cervantes Ing.

Presidente del Tribunal

Laurence Massaut, Ph.D.

Director de Tesis

Bonny Bayot

Miembro del Tribunal

Ignacio de Blas, Ph.D.

Miembro del Tribunal

Stanislaus Sonnenholzner, Ph.D.

Miembro del Tribunal

AGRADECIMIENTOS

- A Laurence Massaut (Ph.D.) por la oportunidad de ser incluido en el Programa de Maestría, por la disposición constante durante los dos años, y por la guía y ayuda continua para la consecución de esta tesis.
- Al equipo de investigadores y técnicos de la Fundación CENAIM-ESPOL que se encargarón de impartirnos las diferentes asignaturas.
- Al CSA por la ayuda en el procesamiento de muestras para el estudio de prevalencia de WSSV en camarones.
- Al personal técnico y obrero de la estación experimental ¨Pesglasa¨ del CENAIM por su apoyo durante el trabajo experimental.
- A mis compañeros de estudio Mervin Guevara, Ma. Elena Quevedo, Ma. Elena Socola., Marita Monserrate, Ma. Fernanda Calderón, Yuri Espinosa, Galo Solano, Robin Casalla y William Gualteros, por los momentos compartidos y por formar un excelente grupo.
- A mis padres: Lourdes y Fermín, hermanos Isis y Fermín A., y tios: Ma. Cristina y Fortunato y primos Oixis y Orbel, porque a pesar de la distancia y el tiempo siempre estuvieron presentes.
- A la familia Osorio, por saber llenar un espacio solo reservado para familiares.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABLAS

RESUMEN

Se determinó el efecto de la tilapia roja (*Oreochromis* spp.) sobre los rendimientos en un sistema cerrado de policultivo con *Penaeus vannamei* por un periodo de 89 días de cultivo desde los meses enero hasta abril. Se utilizaron nueve estanques de tierra con área aproximada de 500 m^2 (10 m x 50 m) y profundidad promedio de 0,8 m, ubicados en la estación experimental "Pesglasa", Churute, Ecuador. El experimento consistió en dos tratamientos de policultivo camarón-tilapia con igual densidad de tilapia (1 pez/m^2) y densidades de camarón de 8 y 19 camarones/m^2, y un control (monocultivo con 8 camarones/m^2). El alimento de uso comercial peletizado (28% de proteína) para camarones y estruido (29% de proteína) para tilapia fue suministrado en dos raciones diarias (0800 h y 1600 h). La supervivencia de los camarones en policultivo (89%) no fue diferente ($p=0,18$) a la del monocultivo de igual densidad de camarones (77%). La detección de WSSV en las poblaciones de camarón se limitó a la tercera semana (día 16 en todos los tratamientos) y quinta semana (día 30 solo en control) de cultivo con prevalencia no superior al 14 ± 8%. Las condiciones de temperatura promedio del agua (29,4 – 31,2 ^{o}C) no estuvieron en el rango seguro para la protección de camarones peneidos a WSSV, pero fueron suficientes para que el camarón mostrara buena supervivencia en monocultivo. No pudo evidenciarse un efecto directo de la tilapia sobre la prevalencia de WSSV en las poblaciones de camarón. Los rendimientos en camarones del policultivo (593 kg/ha) comparado con el monocultivo correspondiente (659 kg/ha) no presentaron diferencias significativas ($p=0,10$). La competencia de la tilapia por el alimento suministrado al camarón afectó el crecimiento del crustáceo en los policultivos. Se observó un decremento del 34% en el crecimiento y del 25% en la supervivencia del camarón al aumentar su densidad en los sistemas de policultivo.

La tilapia controló de manera efectiva el crecimiento de macrófitas no deseadas en el agua de los estanques (4% de ocurrencia en el contenido estomacal) y la presencia de grandes representantes del fitoplancton (*Ocillatoria* spp. > 35 µm y *Euglena* spp.).

1. INTRODUCCIÓN

La industria camaronera bajo cualquier nivel de intensificación es percibida como una excelente fuente de retorno económico, atrayendo el interés de muchos inversionistas (Fuchs *et al.*, 1999; Yi y Fitzsimmons, 2002a). Este interés se reflejó en el crecimiento rápido de la producción de camarones peneidos en piscinas durante las tres últimas décadas (FAO, 2003). Sin embargo, en la última década este cultivo se ha visto afectado drásticamente por serios problemas relacionados con brotes de enfermedades (Fuchs *et al.*, 1999; Leung y Tran, 2000) y una disminución de los precios de venta en los mercados internacionales, provocando la desmotivación y abandono de la actividad y consiguientemente extensiones de tierras subutilizadas y pérdidas económicas (Fitzsimmons, 2001; Yi y Fitzsimmons, 2002a; Marriott, 2003).

El síndrome del virus de la mancha blanca (o WSSV por sus siglas en Inglés) es considerado como una de las enfermedades virales de mayor patogenicidad que afecta a los camarones peneidos (Lo *et al.*, 1996; Lindberg y Nylander, 2001). Desde 1999, el WSSV ha afectado los niveles productivos del camarón blanco *Penaeus vannamei* de varios países latinoamericanos incluyendo Ecuador, Panamá y México (Fitzsimmons, 2001). En Ecuador, la producción pasó de un promedio anual de 1.900 lbs/ha en 1998 a menos de 600 lbs/ha en 2000 y 2001 con niveles de supervivencia oscilando entre 0 y 20% (CORPEI, 2001; Sonnenholzner *et al.*, 2002a; Sonnenholzner *et al.*, 2002b). El brote de WSSV en camarones cultivados puede ocurrir dentro de tres semanas después de la siembra (Peng *et al.*, 2001) y alcanzar mortalidades acumulativas de hasta 100% en un periodo de 3 a 10 días (Chou *et al.,* 1998; Peinado *et al*., 2002).

La estimación de prevalencia se utiliza para predecir el éxito de la respectiva población de camarones en cultivo hasta la cosecha (Peng *et al*., 2001). Sin embargo, se ha comprobado que la propagación del virus puede alcanzar niveles altos de prevalencia en la población, sin causar el desarrollo de la enfermedad (Peinado *et al*., 2002). Peng *et al*. (2001) destacan que se obtienen cosechas exitosas aún, si la prevalencia de WSSV en la población de camarones se presenta por debajo del 50% cuando se detecta la enfermedad. En la práctica, se ha determinado que camarones positivos por PCR para WSSV, no necesariamente desarrollan la enfermedad (Sonnenholzner *et al*., 2002b), pero cuando la infección se acompaña de una alteración en las condiciones de cultivo, se registran mortalidades altas (Peng *et al*., 2001; Peinado *et al*., 2002; Sonnenholzner *et al*., 2002b).

En respuesta al problema del WSSV y como alternativa de producción, algunas granjas camaroneras en Ecuador han implementado la producción de tilapia suplementada con camarones sembrados a baja densidad. Los productores han planteado el policultivo dirigido hacia la tilapia como producto primario y al camarón como la especie secundaria. Los límites de siembra no sobrepasan 1,2 tilapia/m^2 y de 5 a 6 post-larvas de camarones/m^2. Con esa densidad de siembra se obtienen después de 120 días, 300 a 450 kg/ha de camarón con peso de 12 a 14 g, lo que representa un promedio de supervivencia en el orden del 50% (Bejerano, 2001).

Torrans y Lowell (1987) clasificaron a la tilapia como "pez sanitario" por su capacidad de mejorar la calidad del agua en estanques de cultivo comercial estableciendo un control sobre el florecimiento de fitoplancton y la acumulación de material orgánico. Resultados de experiencias recientes sugieren que el camarón en policultivo con tilapia manifiesta un rendimiento neto generalmente superior a cuando es cultivado en monocultivo (Wang *et al*., 1998; Akiyana y Anggawati, 1999; Tian *et al*., 2001; Yi y Fitzsimmons, 2002b). Además, según productores de Asia y Ecuador, la tilapia podría comer camarones muertos y/o moribundos durante el policultivo, limitando el canibalismo entre camarones, lo cual reduciría la propagación del WSSV (Alceste y Jory, 2002; Yi y Fitzsimmons, 2002a; C. Shengli y W. Qinying, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao, China, comunicación personal). Todos los granjeros tailandeses encuestados por Yi y Fitzsimmons (2002a) que practican el sistema de policultivo camarón-tilapia han experimentado incrementos en las ganancias en un rango de 3.000 a 5.000 USD/ha/ciclo, comparado con su respectivo sistema de monocultivo. Los ingresos por producción de tilapias pueden además de compensar los gastos operacionales del policultivo brindar un ligero margen de ganancia, permitiendo que los ingresos por cosecha de camarón queden como utilidad neta del cultivo (Bejerano, 2001).

El presente trabajo hizo un estudio del policultivo donde el camarón fue la especie de interés dentro del sistema, y que la tilapia establezca un papel de control sobre la prevalencia del WSSV y estabilizador de buenas condiciones ambientales evitando cambios bruscos en la población de fitoplancton y la acumulación de desechos orgánicos en el estanque. A través de la evaluación del efecto de la tilapia sobre la supervivencia de *P. vannamei* y el comportamiento de las comunidades planctónicas, variables de calidad de agua y suelo durante el cultivo, se espera encontrar una alternativa sostenible en el cultivo del camarón en Ecuador, bajo condiciones de WSSV.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CULTIVO DE CAMARÓN Y WSSV:

El camarón es el producto pesquero más importante del mundo y representa alrededor del 20% del comercio internacional en valor (FAO, 2002). La producción en piscinas de camarones mostró un incremento acelerado desde los años setenta. Las principales especies cultivadas han sido *Penaeus monodon*, *Penaeus chinensis* y *P. vannamei*, quienes al término del año 2000 representaban el 86% de la producción total de camarón cultivado (FAO, 2003). En cuanto a los niveles de producción de las principales especies, después de haber obtenido un crecimiento del 23% en los setenta y de 25% en los ochenta, en la década pasada hubo un modesto crecimiento del 5% (FAO, 2003). Para 1999, entre los mayores productores de camarón de piscina se encontraban Tailandia con el 25% de la producción mundial, China con el 14%, Indonesia con el 12%, Ecuador con el 10%, India con el 9% y Vietnam con el 5% (Globefish, 2003). Esta situación cambió dramáticamente en el 2000 y 2001 debido a la incidencia de WSSV, por lo que Ecuador redujo su participación acuícola en el 2001 al 2% (Marriott, 2003). Sin embargo, por lo general el comportamiento de las producciones camaroneras del Ecuador han mostrado un crecimiento neto, marcado fundamentalmente por variaciones climáticas y de carácter epidémico (Fig. 1; Regueira, 2001).

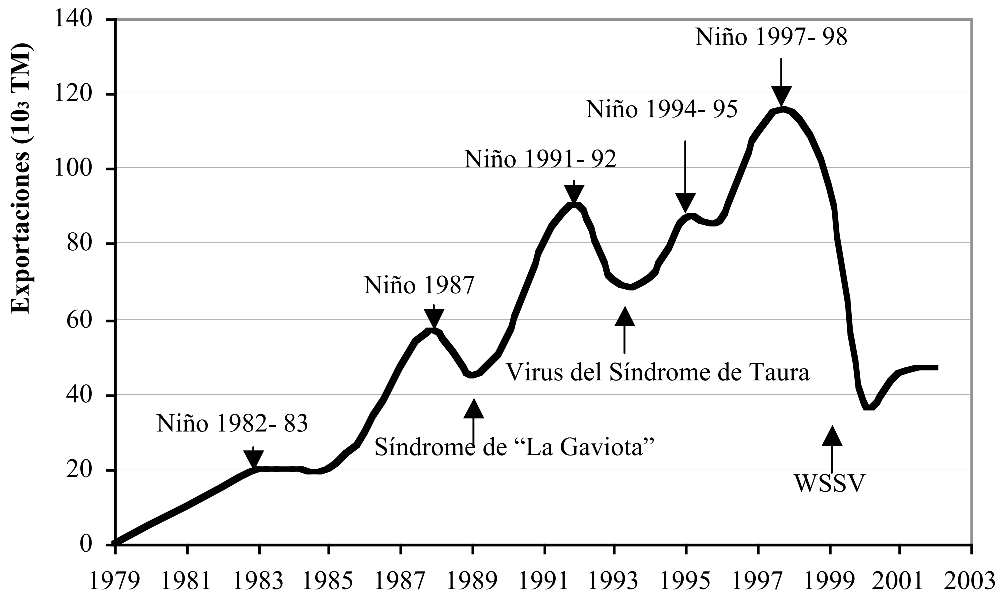


Figura 1. Evolución de la producción camaronera ecuatoriana entre 1979 y 2002, expresada en función del volumen exportado bajo la influencia de variaciones climáticas y enfermedades epidémicas. Adaptado de CNA (2003).

La gran escalada inicial de las producciones fue sustentada por el aumento en la disponibilidad de semilla de laboratorio y el desarrollo de la producción de alimento comercial con alto nivel de proteínas (Fuchs *et al.*, 1999; Leung *et al.*, 2000). Sin embargo, este incremento productivo fue asociado con una variedad de efectos ecológicos negativos dentro y fuera de las piscinas de producción (Boyd y Haws, 1999). La progresiva degradación y deterioro de las condiciones en los estanques y del entorno acuático, consecuentemente atrajo el brote masivo de enfermedades (Lightner y Chen, 2000). Autores (Fuchs *et al.*, 1999; Marriott, 2003) indican que ésta fue la principal razón para el decremento de la producción. En Ecuador, se han sucedido brotes esporádicos de enfermedades infecciosas en las granjas camaroneras como el Síndrome de ¨La Gaviota¨ en 1989 y la aparición del Virus del Síndrome de Taura en 1993-1994 causando pérdidas económicas en el sector productivo, pero ninguno logró la amplitud del impacto de WSSV (Fig. 1). Para Ecuador desde principios de los noventa, las exportaciones generaban ingresos por alrededor del 3,5% del Producto Interno Bruto (PIB), hasta llegar a casi 4,5% en los años 1997, 1998 y 1999 (Marriot, 2003). Luego de la aparición de WSSV, los porcentajes de exportación de camarón con respecto al PIB disminuyeron al 2% en el 2000 y a menos del 1,5% en el 2001 (Marriott, 2003).

El WSSV se detectó por primera vez en Taiwán en 1992 de donde rápidamente se dispersó al resto de Asia, posteriormente al norte y centro de América, y recientemente a Europa y Australia (Peinado *et al*., 2002). La presencia del WSSV en Latinoamérica fue reportada por primera vez a inicios de 1999 en Honduras, y en mayo del mismo año fue confirmada mediante la prueba de reacción de polimerización en cadena (PCR) en una amplia área geográfica del Ecuador, a pesar de que no parecía estar asociada con una mortalidad severa en esta época (Jory y Dixon, 1999; Calderón *et al*., 1999).

El WSSV es considerado como una de las enfermedades virales de mayor patogenicidad que afectan a los camarones peneidos (Lo *et al*., 1996; Lindberg y Nylander, 2001). Más de 40 especies de crustáceos han sido diagnosticadas con WSSV (Jory y Dixon, 1999), y dentro de los camarones peneidos de interés comercial encontramos a: *P. chinensis*, *Penaeus indicus*, *Penaeus japonicus*, *Penaeus merguiensis*, *P. monodon*, *Penaeus penicillatus*, *Penaeus setiferus*, *Penaeus stylirostris* y *P. vannamei* (Aguirre y Ascencio, 2000). El virus se trasmite a camarones en cultivo mediante agua contaminada o por ingestión de alimento infectado

(Wu *et al*., 2001). Existe evidencia de transmisión entre camarones sanos y camarones infectados por efecto de cohabitación en una misma piscina (Flegel, 1997; Flegel *et al*., 1998). Estudios en Ecuador han demostrado que la ingestión por canibalismo de animales severamente infectados exacerba el problema (Chou *et al*., 1998; Maldonado, 2003). Además, la presencia del ADN de WSSV en las gónadas, principalmente en el tejido conectivo de camarones y cangrejos, sugiere fuertemente que la enfermedad puede tener transmisión vertical (Lo *et al*., 1997).

El brote de WSSV en camarones cultivados puede ocurrir dentro de tres semanas después de la siembra (Peng *et al*., 2001). Observaciones en Ecuador indican que entre 3 y 6 semanas después de la siembra aparecen camarones infectados en piscinas de producción (Motesdeoca *et al*., 2002). Los animales infectados presentan una coloración rosada causada por la distensión de cromatóforos en la cutícula y/o la hemolinfa rosada (provocada por una inadecuada actividad fenolóxidasa (PO) plasmática) (Montesdeoca *et al*., 2002), son letárgicos y bajan su consumo de alimento (Aguirre y Ascencio, 2000). Se pueden observar camarones moribundos en la superficie y en las orillas de la piscina que eventualmente mueren en el fondo. Mortalidades altas (hasta un 100%) ocurren en un periodo de 3 a 10 días después de las primeras observaciones de la presencia de la enfermedad (Chou *et al.,* 1998; Aguirre y Ascencio, 2000; Peinado *et al*., 2002).

2.2. ALTERNATIVAS DE PRODUCCIÓN BAJO CONDICIONES DE WSSV:

La solución a problemas de enfermedades se basa en prevención y cura (Leung y Tran, 2000). Dos estrategias en esencia pueden ser tomadas para incrementar la sostenibilidad de la industria camaronera y a su vez reducir los problemas asociados con enfermedades. Una estrategia más conservativa con enfoque ecológico y la otra que ponga en uso lo último en cuanto a desarrollo de la biotecnología con el objeto de aumentar al máximo las salidas productivas y económicas. El acercamiento "ecológico" implica que los cultivos sean hechos a baja densidad y que los esfuerzos de la industria estén a tono con procesos y funciones del ecosistema. La alternativa "tecnológica" tiende a conducir el desarrollo hacia sistemas de cultivo intensivos, los cuales se aíslan completamente del ambiente y consideran tratamiento de los desechos, desinfección del entorno de los estanques y uso de animales genéticamente seleccionados para resistencia a enfermedades (Kautsky *et al*., 2000). Calderón (2002) analizando el futuro de la industria camaronera ecuatoriana en plena crisis de WSSV, recomendó que los sistemas de producción a implementar deben permitir un mayor control sobre variables climáticas y medio ambientales que afectan la tasa de crecimiento y supervivencia de los animales en cultivo.

Lightner y Chen (2000) en un documento difundido por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) enmarcan medidas sanitarias de prevención y control especificas para el WSSV y recomiendan: monitorear por medio de PCR los reproductores, sembrar únicamente post-larvas libres de WSSV (previamente examinadas por medio de PCR), limpieza y desinfección adecuada de las piscinas antes de ser sembradas, eliminación o cribado de portadores potenciales de WSSV en el agua de recambio, evitar el intercambio de aparejos y equipo de mantenimiento entre las piscinas (por ejemplo: redes, cubetas, lanchas, etc.), evitar el uso de alimento fresco de origen acuático que podría ser contaminado por WSSV, y eliminar los camarones moribundos o muertos en cuanto aparezcan y se confirme la presencia de WSSV. Estas medidas fueron discutidas en Abril de 1999 en Panamá durante el seminario internacional “Prevention Techniques for White Spot and Yellowhead Viruses” y adaptadas para hacer recomendaciones a los productores latinoamericanos (Jory y Dixon, 1999).

Después de las primeras apariciones de mortalidades altas por WSSV, los productores ecuatorianos reaccionaron con pánico, cosechando masivamente sus piscinas. Debido a que las opciones de tratamientos para WSSV no existían, se hizo énfasis en la prevención y se trató de seguir las recomendaciones difundidas por la OIE. Se probó cualquier tratamiento o técnica de manejo que desde el punto de vista del sentido común ofreciera una posibilidad de atenuar el impacto causado por el virus (Calderón, 2002). Una de estas medidas fue de disminuir el recambio de agua o cultivar los camarones en sistema cerrado. Sin embargo, eliminar el recambio de agua no es totalmente efectivo en reducir el riesgo para WSSV (Lindberg y Nylander, 2001), probablemente porque desde un inicio el agua de abasto está cargada con vectores y la contaminación de las larvas sembradas no es siempre verificada. En sistemas de cultivo cerrado puede esperarse un posible aumento de salinidad del agua producto de la evaporación, acumulación de metabolitos, mayor carga orgánica y altos niveles de plancton (Samocha y Lawrence, 1997), que a la vez constituyen una de las fuentes más importantes de impacto de los efluentes acuícolas sobre las aguas costeras (Boyd y Tucker, 1998).

Revisando información histórica en Ecuador se observó que las producciones siempre han sido superiores durante el verano del hemisferio sur o entre los meses de enero y abril

(Regueira, 2001). Además, se observó que las pérdidas causadas por WSSV son reducidas durante estos periodos cálidos (Fig. 2; Vidal *et al*., 2001; Sonnenholzner *et al*., 2002b). En Ecuador la temperatura del agua en piscinas de cultivo puede alcanzar valores entre los 28 y 31^{o}C en época cálida. Experimentaciones de laboratorio indican que la supervivencia de camarones desafiados con el WSSV es superior cuando se mantiene una temperatura del agua encima de 31,5^{o}C (Vidal *et al*., 2001; Sonnenholzner *et al*., 2002b). El virus es capaz de infectar animales a cualquier temperatura pero la respuesta inmunitaria del camarón al virus para una temperatura de 33°C es mayor que para temperaturas más bajas. A 33°C, incluso cargas virales muy altas son inofensivas para los animales y actúan como inmunoestimulante (Motesdeoca *et al*., 2002). Basado en estas experiencias, se consideró la tecnología de invernaderos debido a su principio físico de retención de calor y la factibilidad de construcción sobre infraestructuras ya existentes (Calderón y Sonnenholzner, 2002; Sonnenholzner *et al*., 2002c; Calderón y Sonnenholzner, 2003).

Estudios preliminares realizados por el CENAIM indican que los rendimientos bajo invernadero muestran una dependencia directa con la densidad de siembra y pueden alcanzar niveles de hasta 6.000 kg/ha/ciclo para una densidad de siembra de 80 post-larvas/m^2 (Calderón y Sonnenholzner, 2003). Considerando que la alternativa de cultivar en invernaderos requiere inversiones altas, se propuso también un sistema de cultivo mixto, con precría bajo invernadero y engorde en piscinas no cubiertas. Los rendimientos en piscinas abiertas luego de permanecer bajo invernadero en una fase de precría de 45 a 50 días dependen de la época del año y dan rendimiento promedio de 1.450 kg/ha para la época calida y de 300 kg/ha para la época fría (Calderón y Sonnenholzner, 2003). Estos resultados alentadores permitieron la aplicación de la tecnología de invernadero en Ecuador donde se estima que 200 ha ya fueron adaptadas a este tipo de cultivo (J. Calderón, Fundación CENAIM-ESPOL, Ecuador, comunicación personal).

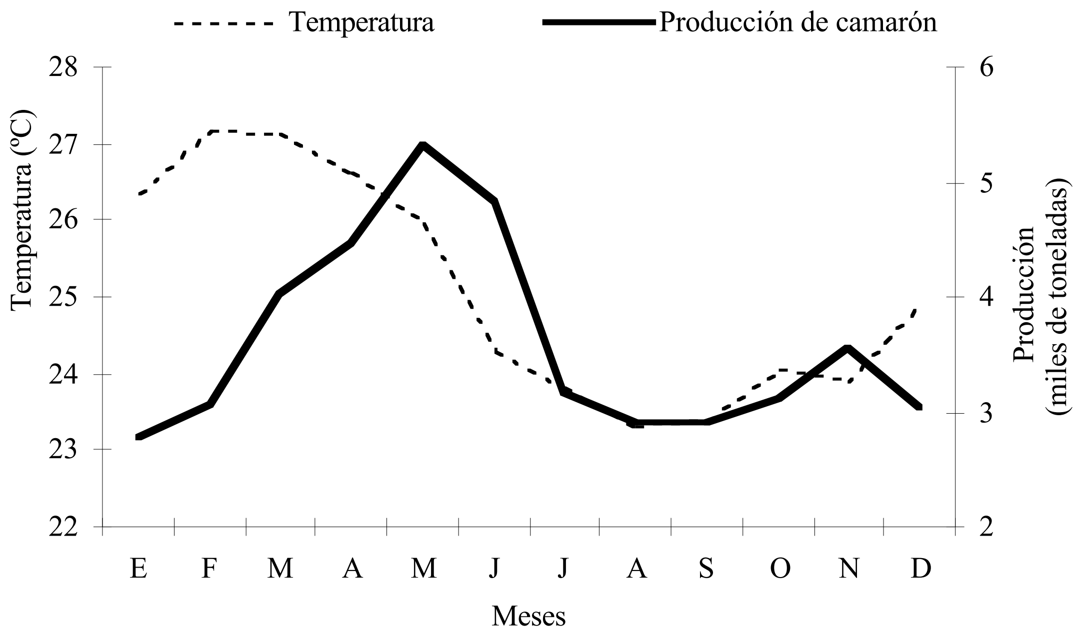


Figura 2. Curvas normales climatológicas de temperatura (^{o}C) en el Océano Pacífico frente a la costa ecuatoriana y producción de camarón para el periodo post-WSSV. Adaptado de Chavarría (2003).

El sistema inmune del camarón es muy manejable y responde favorablemente a la inmunoestimulación (Motesdeoca *et al.*, 2002). La utilización de bacterias probióticas y de la inmunoestimulación como formas naturales de defensa de los camarones, son dos métodos preventivos prometedores ante las perdidas causadas por agentes patógenos (Gullian y Rodríguez, 2002). Bacterias probióticas son bacterias amigables empleadas para desplazar por competición a otras bacterias patógenas (Moriarty, 1999; Kautsky *et al.*, 2000; Lindberg y Nylander, 2001). Mientras, los inmunoestimulantes tienen la capacidad de inducir un incremento en los mecanismos de defensa celular de los crustáceos y hacen al camarón más resistente a infecciones de tipo viral y bacterial (Vargas y Yepiz, 2000). Dentro de los inmunoestimulantes más utilizados se encuentran los glucanos, moléculas en la pared celular de algunas bacterias (peptido-glucanos), levaduras y hongos. Investigaciones en el área de los glucanos reportaron una mayor resistencia a enfermedades en *P. monodon* (Chang *et al*., 2003) y mayor respuesta inmunitaria en *P. vannamei* (Otero, 2001). Además, resultados en investigaciones de campo realizadas por el CENAIM indican que la inmunoestimulación tanto en precría como en engorde podrían asegurar mejores resultados ante la presencia de un brote de WSSV (Rodríguez *et al*., 2003).

El impacto del WSSV despertó también el interés entre los productores ecuatorianos para el desarrollo de programas de mejoramiento genético dirigidos a la producción de animales resistentes o tolerantes. Laboratorios de maduración en Ecuador están levantando como reproductores animales supervivientes a episodios de WSSV, otros empezaron programas de selección masal y muy pocos se han involucrado en programas de selección familiar (Calderón, 2002). El CENAIM evaluó en laboratorio un grupo de 25 familias de *P. vannamei* provenientes de padres sobrevivientes a fuertes eventos de WSSV en piscinas comerciales, con el fin de determinar la existencia de variabilidad en resistencia a WSSV y la posibilidad de selección familiar (Pérez *et al*., 2002). Se encontró variabilidad en la susceptibilidad de las familias al WSSV (familias con supervivencias máximas del 15% y otras del 0%), ratificando la utilidad de la selección genética a nivel familiar para el WSSV (Pérez *et al*., 2002). Combinando estos resultados con un estudio de la respuesta inmunitaria de familias resistentes al WSSV, se recomendó como alternativa de producción, sembrar familias resistentes y estudiar la utilidad de los inmunoestimulantes para incrementar las supervivencias de estas familias (Maldonado, 2003).

Finalmente, productores asiáticos y ecuatorianos observan que camarones cultivados durante eventos de WSSV en piscinas sembradas con la tilapia, logran niveles de supervivencia más altos que los camarones de monocultivo (Yi y Fitzsimmons, 2002a; Yi y Fitzsimmons, 2002b). El policultivo corresponde a un tipo de integración de especies acuáticas recurrido por la industria en el pasado para reducir y mitigar los impactos ecológicos negativos asociados con la utilización de recursos y desechos de producción. Pero, reportes en Asia indican que el policultivo aplicado a cultivos de camarón semi-intensivos y extensivos, tiene también un efecto protector contra la ocurrencia de enfermedades (Leung *et al*., 2000). Los estanques camaroneros abandonados podrían ser rehabilitados para la producción de camarón mediante la integración del cultivo con otras especies (Lindberg y Nylander, 2001), y si estas especies seleccionadas para el policultivo con el camarón tienen un valor comercial o le brindan al camarón alimento, el sistema de policultivo puede contribuir al manejo económico de la camaronicultura (Yokoyama *et al*., 2002).

2.3. POLICULTIVOS CAMARÓN-TILAPIA:

El policultivo se establece por una combinación de especies que ocupan diferentes nichos alimenticios para incrementar la producción total sin el correspondiente aumento de alimento suplementario. Los camarones pueden ser cultivados con varias especies filtradoras de moluscos y peces, pero de acuerdo a los reportes, el sistema camarón-pez es el más exitoso

(C. Shengli y W. Qinying, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao, China, comunicación personal). La tilapia pertenece a la familia Cichlidae que abarca más de 100 especies ampliamente distribuidas en áreas tropicales de África, América y Asia. La tilapia de variedad roja (*Oreochromis* spp.) tiene buen crecimiento en aguas marinas y tolera amplio rango de salinidad, lo que la ubica como una especie que puede ser cultivada en piscinas camaroneras (Watanabe *et al*., 1990; Wang *et al*., 2000). Además, la tilapia presenta buena resistencia a bajas concentraciones de oxígeno disuelto en el agua, tiene gran resistencia a enfermedades, crece rápidamente y se adapta muy bien a dietas artificiales (CORPEI, 2001).

La tilapia de variedad roja se convirtió en la punta de lanza para el desarrollo vertiginoso de la acuicultura comercial a partir de la década de los ochenta en países sudamericanos como Colombia (introducida en 1982), Venezuela (introducida en 1989) y Ecuador (introducida en 1993) (Castillo, 2003). Ecuador, a diferencia de Colombia y Venezuela, ya era un país acuicultor líder mundial en la producción del camarón blanco (*P. vannamei*). Pero a causa de la aparición de enfermedades como el Síndrome de “La Gaviota” en 1989 y el Síndrome de Taura en 1994, miles de hectáreas quedaron abandonadas lo que facilitó la introducción de la tilapia roja como una alternativa de producción en éstas áreas, complementándose luego con el policultivo tilapia-camarón a partir de 1995 (CORPEI, 2001; Castillo, 2003).

En los últimos cinco años el cultivo de tilapia ha tenido un crecimiento acelerado en el mercado acuícola internacional. La tilapia es el segundo grupo de peces más producido por la acuicultura mundial, con una contribución de aproximadamente el 20% del volumen total de peces (Castillo, 2003). Ecuador entre los países latinoamericanos ha obtenido una posición importante como productor y exportador de tilapia hacia los Estados Unidos (Castillo, 2003; CNA, 2003; Fitzsimmons, 2003). Las provincias de Guayas y El Oro han sido consideradas las regiones más apropiadas para su cultivo, que con el tiempo se ha extendido a las costas de las provincias de Manabí y Esmeraldas, y la región de la jungla ecuatoriana. Desde 1993 hasta el 2002, la producción anual de tilapia exportada desde Ecuador hacia los Estados Unidos aumentó considerablemente de 988 a 692.000 TM, con buenas posibilidades de crecimiento (CNA, 2003).

Ecuador actualmente está adicionando el cultivo de tilapia a las líneas tradicionales de producción de camarón, no con la intención de sustituir la producción del crustáceo, sino como una alternativa factible que alivia las pérdidas causadas por WSSV (Alceste y Jory, 2002; Yi y Fitzsimmons, 2002a). Según los productores, la tilapia puede comer camarones muertos y/o moribundos, y de esta manera limitar el canibalismo entre camarones lo cual reduce la carga viral y sirve como control para la enfermedad (Alceste y Jory, 2002; Yi y Fitzsimmons, 2002a; C. Shengli y W. Qinying, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao, China, comunicación personal). Los camaroneros en Ecuador han planteado el policultivo dirigido hacia la tilapia como producto primario y al camarón como la especie secundaria. Al momento de ver la cosecha del camarón, con la única resta de los costos de la semilla, el resto queda como utilidad neta; además del porcentaje de ganancia por la producción de tilapia. En Ecuador, los límites de siembra en policultivo no sobrepasan 1,2 tilapias/m^2 y de 5 a 7 post-larvas de camarones/m^2. Con esa densidad de siembra se obtienen después de 120 días, de 300 a 450 kg/ha de camarón con peso de 12 a 14 g, lo que representa un promedio de supervivencia en el orden del 50% (Bejerano, 2001). Resultados de 15 ciclos de policultivo realizados en una camaronera ubicada en el Golfo de Guayaquil muestran un crecimiento semanal para camarones de 0,7 ± 0,1 g y como promedios una supervivencia de 23% y peso de 16 g para cultivos de 24 semanas.

Experiencias como la obtenida por Akiyana y Anggawati (1999), Tian *et al.* (2001) y Yi y Fitzsimmons (2002b) sugieren que el camarón en policultivo manifiesta un rendimiento neto generalmente superior a cuando es cultivado solo, demostrando que animales en policultivo hacen un mejor uso de los materiales que entran al sistema. Yi y Fitzsimmons (2002a) realizaron un amplio reporte de varios ciclos de policultivo camarón-tilapia practicados Tailandia durante los meses de marzo a junio del 2002, donde recomiendan sembrar de 0,1 – 0,5 tilapias de 50-100 g por m^2 junto con camarones de 3-6 g a una densidad de 20–30 animales/m^2. Se obtiene un 70% de supervivencia de camarones por ciclo y las ganancias incrementan significativamente comparado con el respectivo sistema tradicional de monocultivo en estos países (Yi y Fitzsimmons, 2002a; Yi y Fitzsimmons, 2002b).

2.4. LA TILAPIA Y SU EFECTO SOBRE EL ECOSISTEMA DE PRODUCCIÓN:

La tilapia es un pez planctívoro que se alimenta por filtración del agua reteniendo partículas en función de su tamaño (Drenner *et al.*, 1987). En condiciones naturales se alimenta principalmente de fitoplancton, zooplancton y partículas de materia orgánica en suspensión en la columna de agua. Varios estudios han demostrado que la tilapia tiene un efecto benéfico sobre la ecología de los sistemas de producción acuícola, reduciendo los niveles de acumulación de materia orgánica en sedimentos debido principalmente al control que hace sobre la abundancia del fitoplancton (Leventer, 1981; Drenner *et al.*, 1987). En sistema de policultivo tilapia-camarón, además de filtrar partículas en suspensión, la tilapia consume el alimento suplementario, mientras los camarones que pasan la mayor parte del tiempo en el fondo del estanque captan una pequeña porción de alimento suplementario no consumido por los peces, bacterias y el detritus producto de la sedimentación de materia orgánica, algas muertas y las heces de tilapia (Rakoy y McGinty, 1989; Fitzsimmons, 2001; Quispe, 2002). Akiyama y Anggawati (1999) reportaron que la tilapia roja contribuye a un mejor desarrollo de los camarones por el hecho de mejorar y estabilizar la calidad del agua mediante el forrajeo y la limpieza del fondo del estanque y por tener un tipo efecto probiótico en el entorno del estanque

Las bacterias de tipo ¨Gram negativas¨ como *Vibrio* spp. y A*eromonas* spp. son parte de la flora autóctona de los organismos marinos y de sus ecosistemas, representando una fuente constante de posible infección para camarón cultivado en aguas de un amplio rango de salinidades (Aguirre y Ascencio, 2000), mientras que en el agua de baja salinidad usada para el cultivo de peces dulceacuicolas generalmente predominan las bacterias "Gram positivas" (Jun *et al*., 2000). Por lo cual, el uso del agua proveniente de cultivos de tilapia podría reducir la prevalencia de infecciones bacterianas en estanques camaroneros (Yi y Fitzsimmons, 2002a) y mejorar el balance entre las comunidades microbianas.

Para el caso de las enfermedades de tipo viral, la tilapia ofrece varias ventajas. El canibalismo es una de las principales rutas para la transmisión del WSSV entre camarones de una misma población (Chou *et al*., 1998; Soto y Lotz, 2001; Wu *et al*., 2001). La tilapia, que no parece ser susceptible ni portador de enfermedades virales al camarón, puede tener la capacidad de eliminar camarón moribundo o muertos y de este modo limitar la transmisión viral (Yi y Fitzsimmons, 2002a). La tilapia además remueve pequeños crustáceos que representan vectores potenciales del WSSV (Wang *et al*., 1998; Yi y Fitzsimmons, 2002a).

Finalmente, la integración de los cultivos con otros organismos es un camino para reducir problemas de degradación ambiental y contaminación, sin la necesidad de hacer inversiones financieras ni gastos de energía (McVey *et al*., 2002). En los sistemas de policultivo los desechos de la acuicultura son asimilados por toda la red trófica del sistema, constituida por las especies principales del policultivo y la biota natural del estanque (Tian *et al*., 2001; Yokoyama *et al*., 2002). Según los resultados de Tian *et al*. (2001) donde investigan la calidad del agua en un sistema de policultivo cerrado entre el camarón peneido Chino, la tilapia roja de Taiwán y el molusco constricted tagelus. Ellos encuentran que el nivel de bacterias y de materia orgánica en el agua de los policultivos es notablemente reducida en comparación con el monocultivo. Además, los niveles de nitrógeno y fósforo medidos en el sedimento del policultivo resultaron ser 39,8% y 51,3% menor que el sedimento del monocultivo, respectivamente. Concluyendo de que las tilapias son usadas para mejorar la calidad del agua en estanques camaroneros.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL:

El cultivo experimental fue realizado en la estación "Pesglasa" ubicada en la localidad de "El Mango", Churute, Provincia del Guayas, Ecuador. Se utilizaron nueve estanques de tierra con área aproximada de 500 m^2 (10 m x 50 m) y profundidad promedio de 0,8 m. El 16 de enero del 2003 se llenaron todas las piscinas con agua de procedencia del Golfo de Guayaquil y salinidad de 11 g/L, filtrada por malla de 400 µm. El volumen de agua inicial fue de un 70% del total, y paulatinamente en el transcurso de una semana posterior a la siembra se llegó hasta el volumen total permisible para cada piscina. Durante el periodo de cultivo se adicionó agua solamente para reemplazar las pérdidas por evaporación y/o filtración. No hubo aireación. Todas las piscinas fueron fertilizadas una vez antes de la siembra con urea (equivalente a 10 kg N/ha) y superfosfato triple (equivalente a 1 kg P/ha).

El experimento fue compuesto de tres tratamientos (con tres réplicas por tratamiento); dos de policultivo camarón-tilapia con una misma densidad de tilapia (1 pez/m^2), mientras que los camarones fueron sembrados a 8 camarones/m^2 (Policultivo baja densidad) y 19 camarones/m^2 (Policultivo alta densidad). Un monocultivo de 8 camarones/m^2 sirvió como control. Los camarones (*P. vannamei*) negativos a WSSV por análisis de PCR, fueron sembrados el 21 de enero del 2003 en estadio PL25. El 29 de enero del 2003 se sembraron las tilapias (*Oreochromis* spp., variedad "roja", con un estimado de 95% de machos) con peso promedio de 185-195 g. Un resumen del diseño experimental se encuentra en la Tabla 1.

Tabla 1: Diseño experimental. Los valores se expresan en promedio ± una desviación estándar.

Variable de siembra	Control	Policultivo baja densidad	Policultivo alta densidad
Camarón (PL 25*)			
Densidad (camarones/m^2)	7,7 ± 0,2	7,6 ± 0,1	18,8 ± 0,2
Tilapia			
Densidad (peces/m^2)	-	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0
Peso promedio (g)	-	188,3 ± 5,8	190,9 ± 5,2

*El peso de las postlarvas de camarón fue de aproximadamente 14 mg/postlarva.

Los camarones en los tres tratamientos fueron alimentados con granulado comercial de 35% de proteína hasta alcanzar 1 g, y después con alimento peletizado de 28% de proteína hasta la cosecha. Durante el transcurso del experimento se suministró una dosis diaria con ajuste semanal que descendió paulatinamente del 15 al 3% de la biomasa estimada de camarón. Se comprobó el consumo de alimento para camarones mediante el uso de testigos de alimentación ubicados en la compuerta de salida (Molina *et al.*, 2002). Se suministró a las tilapias alimento estruido de uso comercial con 29% de proteína a razón de 2,5 a 1,7% diario de la biomasa estimada con ajuste cada dos semanas. Los horarios de alimentación para ambas especies fueron a las 0800 y 1600 horas.

La tilapia fue la primera especie del policultivo en ser cosechada mediante arrastres con chinchorro, donde se logró remover el 90% de la población en cada piscina. El restante fue cosechado posteriormente junto con los camarones. Se cosecharon todas las piscinas entre el 17 y 21 de abril del 2003 y se evaluaron el peso promedio y la supervivencia para cada especie en cultivo. La duración final del cultivo fue de 89 días para camarones y 77 días para tilapias.

3.2. MUESTRAS Y ANÁLISIS:

Cada día a las 0600 y 1800 horas se midió la temperatura del agua y la concentración del oxígeno disuelto (medidor de campo YSI 55, Ohio, USA).

Para el estudio de prevalencia de WSSV en la población de camarón se colectaron 67 animales (sin reemplazo) de cada piscina los días 16, 23, 30, 37, 51, 72 y 89 post-siembra, e igual cantidad de animales provenientes de la población total el día de siembra antes de distribuir los camarones entre las piscinas. Se analizaron camarones por individual, mediante la detección por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando el método descrito por Lo *et al*. (1996). Este fue el tamaño de muestra necesario para determinar la prevalencia en una población con una confianza del 95% y un error del 12%, cuando se estima una prevalencia inicial del 50% (des Clers, 1994).

En cada piscina se colectaron semanalmente muestras representativas de la columna de agua al nivel de la compuerta de salida, que fueron transportadas a menos de 4°C y analizadas en el laboratorio. El total de sólidos suspendidos (TSS) fue medido por gravimetría (APHA *et al*., 1998). Para la estimación de biomasa de fitoplancton por la determinación de clorofila *a*, entre 50 y 1.000 mL de agua fueron filtrada a través de un filtro Whatman GF/C y la concentración fue medida por colorimetría después de la extracción con una solución de acetona:metanol (5:1) a temperatura de 65°C (Pechar, 1987). Se tomó 50 mL de agua que se preservó con 600 µL de lugol para determinación y conteo de fitoplancton con una cámara de Sedgewick Rafter y microscopio de luz a una magnificación de 200 X (APHA *et al*., 1998). Se clasificó el fitoplancton hasta el nivel de género para cianobacterias, algas verdes y dinoflagelados, mientras las diatomeas fueron agrupadas en ¨Pennales¨ o ¨Centrales¨ (Cocke, 1967; Jímenez, 1983; Lopretto y Tell, 1995). Se filtró 8 L de agua con malla de 30 µm y se concentró en un volumen de 25 mL preservado con 25 mL de una solución de formalina al 13% para determinación y conteo de zooplancton con cámara de Sedgewick Rafter y microscopio de luz a una magnificación de 100 X (APHA *et al*., 1998). Se clasificó el zooplancton hasta el nivel de género para los rotíferos y tintínidos, mientras los copépodos fueron agrupados en nauplios o adultos (Jiménez, 1983; Lopretto y Tell, 1995).

Quincenalmente se recogieron 5 tilapias de cada piscina de policultivo para análisis del contenido estomacal (en total fueron 150 estómagos analizados). Las muestras fueron preparadas de acuerdo al procedimiento seguido por Jiménez y Nepita (2000) y analizadas según la ocurrencia de elementos alimentarios en estómagos (Hyslop, 1980). Una vez colectados los peces, se procedió a la apertura del estómago, vaciado y lavado con agua destilada. Las muestras fueron fijadas en formol al 10%. La observación se hizo con ayuda de cámara Sedgewick Rafter y microscopio de luz a una magnificación de 100 X. Se clasificó el contenido estomacal en las siguientes categorías: alimento balanceado, detritus, fitoplancton, macrófitas, zooplancton y otros.

Al inicio y final del experimento se recogió una muestra de suelo (6 cm de profundidad en las cuatro esquinas y el centro de la piscina) de cada piscina para estimación del porcentaje de materia orgánica por ignición (APHA *et al*., 1998), porcentaje de carbono orgánico por método Walkley-Black (Boyd, 1995) y estimación del pH (Boyd, 1995).

Al final del cultivo se monitoreó los niveles de bacterias totales y de *Vibrio* spp. en agua y suelo, para lo cual se extrajeron muestras por triplicado en cada piscina . La estimación de la concentración de bacterias totales se realizó mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), crecidas en un medio de agar marino (APHA, 1998). Para la estimación de *Vibrio* spp se empleó el medio de agar Tiosulfato Citrato Bilis Sucrosa (Colwell, 1984).

3.3. ANÁLISIS DE DATOS:

Los datos de supervivencia para camarones y tilapias fueron corregidos por los muestreos de PCR y análisis de contenido estomacal, donde fueron removidos un 12% y 5% de la población originalmente sembrada, respectivamente. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Supervivencia final} = \frac{A + (B \times C)}{D} \times 100$$

Donde:

A = Número de animales estimado a la cosecha

B = Número total de animales removidos por muestreos de PCR (camarones) o análisis de contenido estomacal (tilapias)

C = Supervivencia promedio por el tratamiento estimada a la cosecha (sin corrección)

D = Número total de animales sembrados

Para cumplir con normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianza (prueba de Levene) los datos del total de sólidos suspendidos (TSS), clorofila *a*, fitoplancton, bacterias totales, *Vibrios* spp. y las variables económicas de gastos e ingresos de camarones fueron transformados con (log x); mientras los pesos en camarones se transformaron con ($\sqrt{x}$). Las diferencias entre los tratamientos fueron analizadas usando ANOVA de una vía y la prueba de Scheffé para las comparaciones múltiples de las medias. Para la comparación de los datos promedios de concentración de oxígeno disuelto y temperatura en el agua (mañana-tarde), se aplicó una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis. Para el análisis de comportamiento a través del tiempo de los TSS, la concentración de clorofila *a* y los conteos de fitoplancton y zooplancton, se usó ANOVA con medidas repetidas y la prueba de Tukey para contrastar medias, permitiendo mayor posibilidad de evidenciar verdaderas diferencias entre éstas variables que normalmente muestran una alta variabilidad de comportamiento dentro de un mismo tratamiento. Para determinar la influencia de la biomasa de fitoplancton en los valores del TSS y de la densidad de zooplancton, se realizó un análisis de regresión lineal simple entre la concentración de clorofila *a* versus. TSS y zooplancton para las 11 semanas de muestreo. En todos los casos se aceptó un nivel de significancia (α) de 0,05. Se utilizó el programa estadístico STATISTICA® 4.1 (1994-2000, StatSoft, Oklahoma, EE.UU.). Para facilidades de interpretación, los datos son presentados sin transformación como media ± desviación estándar.

4. RESULTADOS

4.1. EFECTO DE LA TILAPIA EN EL RENDIMIENTO DE CAMARONES:

La Tabla 2 muestra los resultados de producción de camarón y tilapia para los diferentes tratamientos. El rendimiento de camarón en el monocultivo varió entre 561 y 804 kg/ha con promedio de 659 kg/ha, siendo significativamente diferente (p=0,10) al policultivo de baja densidad con producción promedio de 593 kg/ha (585 – 603 kg/ha) y de alta densidad con 776 kg/ha (704 – 850 kg/ha). Para la misma densidad de siembra, la ganancia de peso (crecimiento semanal y peso promedio a la cosecha) de camarones fue significativamente mayor en el monocultivo que los cultivados con tilapia, sugiriendo que su crecimiento fue afectado por el tipo de sistema de policultivo. Además, dentro del sistema policultivo el aumento de la densidad de camarones cultivados afectó significativamente la ganancia de peso, e incluso se limitó el manejo del ajuste de la ración alimenticia semanal a causa de la interferencia de la tilapia en los muestreos de biomasa para camarones. La supervivencia de camarones en el policultivo con 89% no fue significativamente mayor (p=0,18) que la obtenida en el monocultivo de igual densidad de camarones con 77%. Dentro de los policultivos la mayor supervivencia se encontró en donde menor era la densidad de camarones sembrados, evidenciando una relación inversa entre la supervivencia de camarones y la densidad de cultivo. La conversión alimenticia (FCA) para camarones se mantuvo en promedio por debajo de 1,0 sin mostrar diferencias entre tratamientos.

Tabla 2: Datos de cosecha de camarón y tilapia para cada tratamiento. Los datos presentados en una misma fila con diferentes letras son significativamente diferentes (ANOVA de una vía y comparación múltiple de medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo Baja densidad	Policultivo Alta densidad
Camarón			
Rendimiento (kg/ha)	659 ± 128[a]	593 ± 9[a]	776 ± 73[a]
Peso promedio (g)	12,4 ± 1,5[c]	9,7 ± 0,2[b]	6,4 ± 0,1[a]
Crecimiento (g/semana)	1,0 ± 0,1[c]	0,8 ± 0,0[b]	0,5 ± 0,0[a]
Supervivencia (%)	77 ± 9[ab]	89 ± 3[b]	67 ± 7[a]
Densidad (camarones/m^2)	5,3 ± 0,6[a]	6,1 ± 0,2[a]	12,1 ± 1,3[b]
FCA	0,9 ± 0,2[a]	0,8 ± 0,1[a]	1,0 ± 0,0[a]
Tilapia			
Rendimiento (kg/ha)	-	3.959 ± 244[a]	3.975 ± 165[a]
Peso promedio (g)	-	461,7 ± 42,0[a]	484,0 ± 31,6[a]
Crecimiento (g/semana)	-	24,8 ± 4,0[a]	26,6 ± 3,3[a]
Supervivencia (%)	-	91 ± 8[a]	88 ± 4[a]
Densidad (peces/m^2)	-	0,9 ± 0,1[a]	0,9 ± 0,0[a]
FCA	-	1,7 ± 0,2[a]	1,7 ± 0,2[a]
Alevines de tilapia			
Biomasa total (kg)	-	13 ± 2[b]	5 ± 1[a]
Peso promedio (g)	-	4,6 ± 1,1[a]	4,7 ± 1,9[a]
Densidad (peces/m^2)	-	5,7 ± 1,4[a]	2,3 ± 0,9[b]

Las producciones de tilapia en policultivo oscilaron entre 3.680 – 4.137 y 3.784 – 4.080 kg/ha para los tratamientos de baja y alta densidad de camarones, respectivamente. No existió diferencias entre los dos tratamientos de policultivo para las variables de supervivencias, peso promedio a la cosecha, crecimiento semanal, densidad a la cosecha y conversión alimenticia de las tilapias. Se comenzaron a observar alevines a partir de la tercera semana después de la siembra de tilapia en todos los tratamientos. La mayor densidad de alevines y por consiguiente, mayor biomasa cosechada fue para el tratamiento de policultivo a baja densidad de camarones ($p=0,02$).

4.2. CARACTERÍSTICAS AMBIENTALES:

La salinidad del agua durante el periodo de cultivo descendio de 11 a 4 g/L. La temperatura promedio del agua en los estanques en la mañana (0600) fue de 29,4^{o}C, mientras que en la tarde (1800) fue de 31,2^{o}C, expresando una diferencia altamente significativa ($p<0,01$) (Tabla 3). Los valores extremos inferior y superior fueron 26,4 – 31,1^{o}C y 26,5 – 33,9^{o}C para la mañana y la tarde, respectivamente. Sólo durante la segunda semana, tanto la temperatura en la mañana como en la tarde alcanzaron descensos significativos ($p<0,01$) en comparación con su comportamiento promedio en el periodo estudiado (pico de 26,6^{o}C el día 11 de cultivo) (Fig. 3).

Tabla 3: Datos de temperatura y concentración de oxígeno disuelto en el agua durante el periodo experimental. Los datos presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice, son significativamente diferentes (ANOVA de una vía y comparación múltiple de medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo Baja densidad	Policultivo Alta densidad
Temperatura (°C)			
0600 h.	$29,3 \pm 0,9^{a}$	$29,4 \pm 1,0^{a}$	$29,4 \pm 1,0^{a}$
1800 h.	$31,2 \pm 1,5^{a}$	$31,2 \pm 1,5^{a}$	$31,2 \pm 1,5^{a}$
Oxígeno disuelto (mg/L)			
0600 h.	$5,2 \pm 1,4^{b}$	$2,9 \pm 1,2^{a}$	$3,2 \pm 1,5^{a}$
1800 h.	$9,7 \pm 1,9^{b}$	$8,8 \pm 1,9^{a}$	$9,2 \pm 2,0^{ab}$

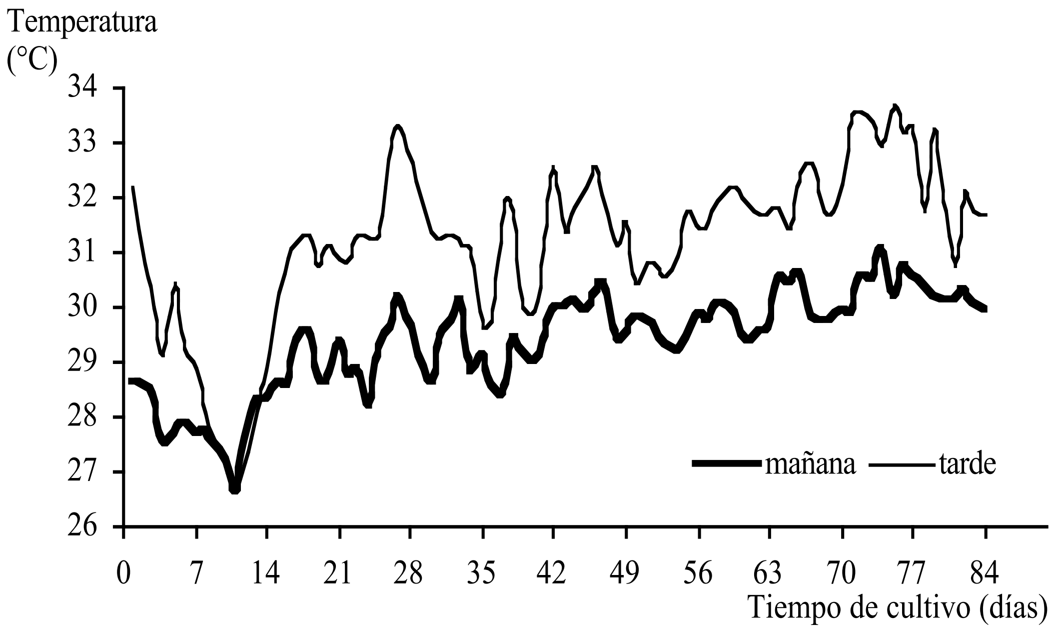


Figura 3: Comportamiento promedio de la temperatura del agua en los estanques de cultivo (mañana = 0600 h y tarde = 1800 h).

El promedio de la concentración de oxígeno disuelto del agua en la mañana (Tabla 3) fue significativamente menor (p<0,01) en los tratamientos de policultivo en donde la biomasa total en cultivo era mayor. El rango de concentración de oxígeno disuelto durante el día para el tratamiento control fluctuó entre 1,9 y 14,7 mg/L, mientras que para los policultivos de baja y alta densidad, los rangos fueron 1,0 – 14,8 mg/L y 1,0 – 15,0 mg/L, respectivamente. La diferencia diaria de concentración de oxígeno disuelto en el agua entre mañana y tarde fue diferente para todos los tratamientos (p<0,01) (Tabla 3).

4.3. PREVALENCIA DE WSSV:

Sólo se detectó infección con prevalencia baja de WSSV a la tercera semana de cultivo (día 16 de cultivo) para todos los tratamientos con 11 ± 7% para el control, 4 ± 5% para el policultivo de baja densidad y 14% ± 8% para el policultivo de alta densidad. Durante la quinta semana solo fue detectada infección a WSSV (1 ± 3%) en camarones pertenecientes al tratamiento control (Fig. 4). Para ninguno de los eventos de infección a WSSV hubo diferencias significativas entre los tratamientos. El mayor valor de prevalencia presentado por la población de un estanque no superó el 33%, y para ningún caso se observó mortalidad de camarones. Coincidentemente, la semana previa a la primera detección de WSSV, se sucedieron los menores registros de temperatura en el agua, por debajo del umbral de 27°C en la mañana y tarde, hasta llegar a los 26,6°C como promedio (Fig. 3).

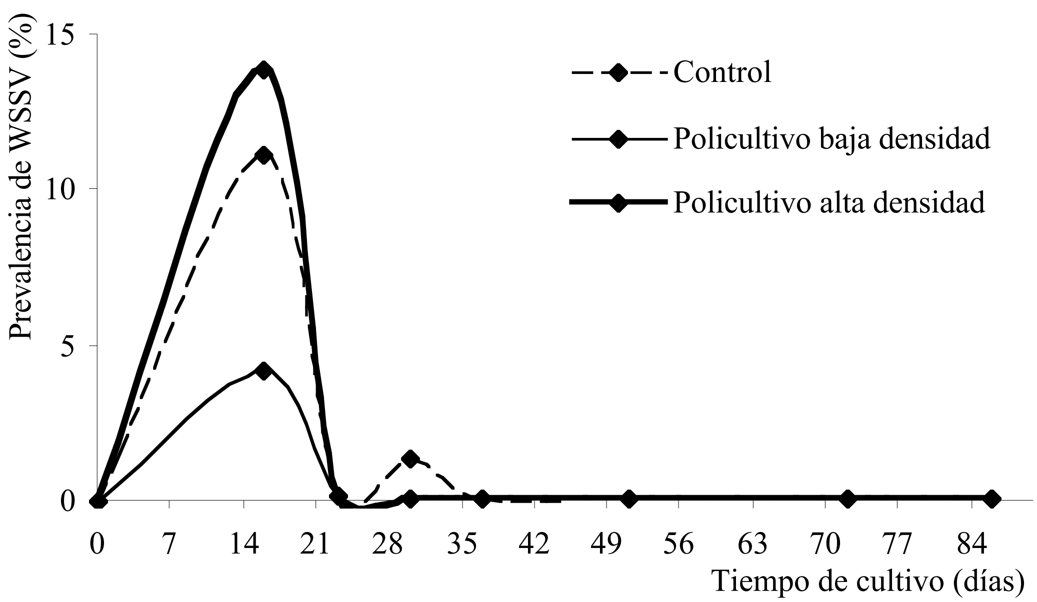


Figura 4: Comportamiento promedio de la prevalencia de WSSV en camarones, para los diferentes tratamientos.

4.4. COMPOSICIÓN Y VARIACIÓN TEMPORAL DEL PLANCTON:

Los resultados promedios de la concentración total de sólidos suspendidos (TSS), clorofila *a* y densidades de fitoplancton y zooplancton para los diferentes tratamientos durante el periodo de estudio, se muestran en la Tabla 4. Se obtuvo menor concentración de TSS en el agua del monocultivo, concentración intermedia en el sistema de policultivo de baja densidad y mayor concentración en el sistema de policultivo de alta densidad ($p<0,01$). Los comportamientos de clorofila *a* y densidad de fitoplancton siguieron el mismo patrón. Sin embargo, se encontró diferencia significativa solamente entre el monocultivo y los dos tratamientos de policultivo ($p<0,01$). En el monocultivo la densidad de zooplancton promedio fue significativamente menor comparada con el policultivo de igual densidad de camarones ($p=0,01$), mientras que el policultivo de alta densidad de camarones no mostró diferencias con los otros dos tratamientos. Las altas desviaciones estándares observadas para todos estos parámetros, demuestran la existencia de alta variabilidad dentro de un mismo tratamiento durante el ciclo de cultivo.

Tabla 4: Datos promedios para concentración total de sólidos suspendidos (TSS), clorofila *a*, densidades de fitoplancton y zooplancton para los diferentes tratamientos. Los datos presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice son significativamente diferentes (ANOVA de una vía y comparación múltiple de medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo baja densidad	Policultivo alta densidad
TSS (mg/L)	23 ± 5^{a}	51 ± 19^{b}	73 ± 44^{c}
Clorofila *a* (µg/L)	4 ± 5^{a}	73 ± 46^{b}	91 ± 78^{b}
Fitoplancton (10^3 org./mL)	17 ± 2^{a}	246 ± 147^{b}	262 ± 211^{b}
Zooplancton (org/L)	376 ± 417^{a}	894 ± 691^{b}	561 ± 439^{ab}

El comportamiento semanal de TSS (Fig. 5a) permaneció sin variación entre los tratamientos control y policultivo de baja densidad, mientras que para el policultivo de alta densidad se observó un incremento paulatino hasta llegar a ser significativo ($p=0,01$) en las dos últimas semanas comparado con el comportamiento anterior. Un análisis del promedio mensual de esta variable evidenció que los niveles en el tercer y último mes para el policultivo con densidad alta de camarones alcanzó el mayor valor (108 ± 48 mg/L) en comparación a los demás tratamientos (62 ± 20 mg/L para el policultivo a baja densidad y 20 ± 5 mg/L para el monocultivo).

La biomasa de fitoplancton estimada por la concentración de clorofila *a* en el agua (Fig. 5b), en cuanto a comportamiento se presentó valores significativamente menores ($p<0,01$) en el monocultivo comparado con los tratamientos de policultivo a partir de la segunda semana después de haber sembrado las tilapias. Observando el comportamiento individual de cada tratamiento, la concentración de clorofila *a* en el control permaneció baja durante todo el periodo de cultivo, mientras que dentro de los tratamientos de policultivo incrementó hasta ser significativa a partir de 5^{ta} semana para el policultivo de baja densidad ($p=0,04$) y 4^{ta} semana para el policultivo de alta densidad ($p<0,01$).

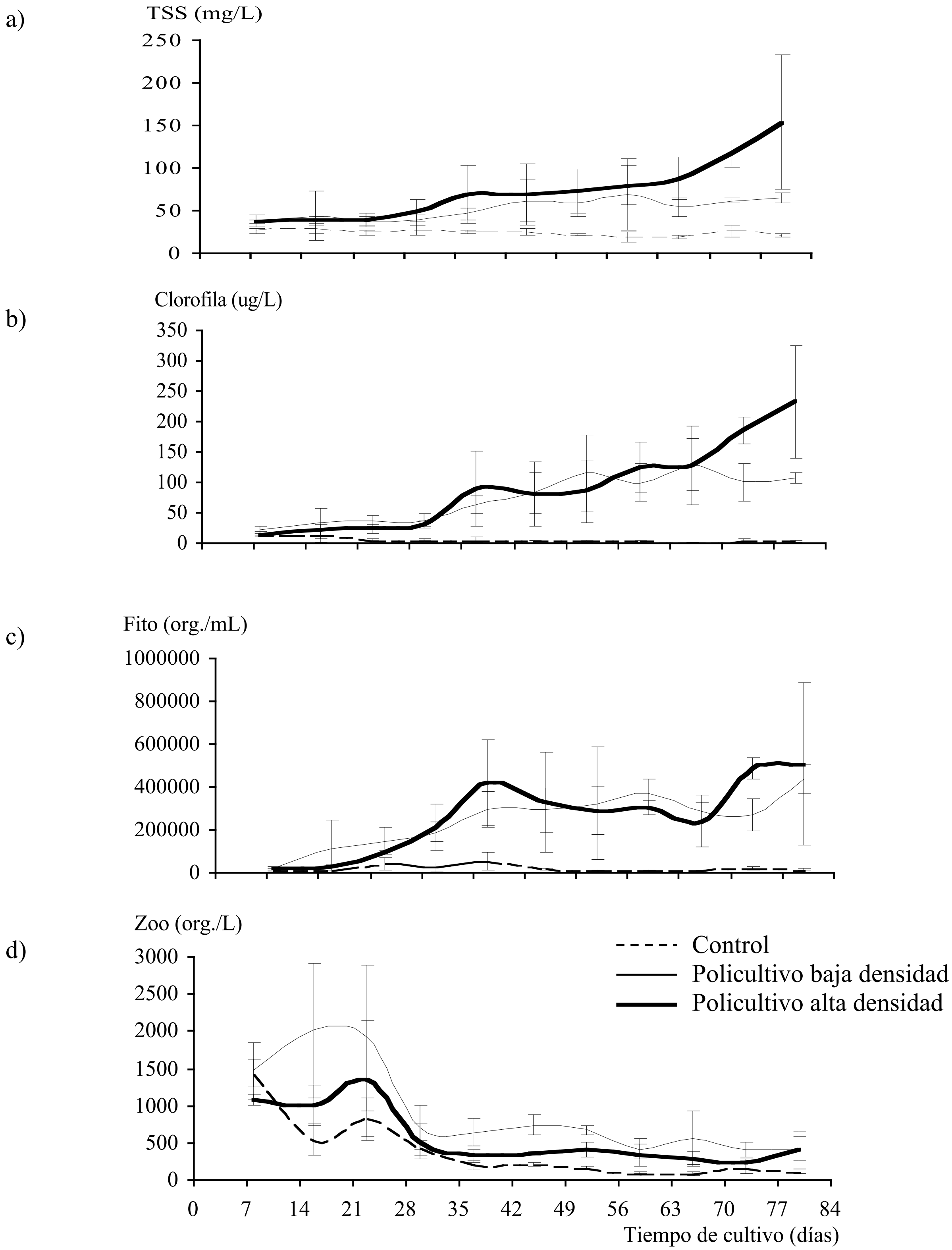


Figura 5: Comportamiento para total de sólidos suspendidos (a), Clorofila *a* (b), densidad de fitoplancton (c) y densidad de zooplancton (d) para los diferentes tratamientos.

El análisis de regresión realizado entre la clorofila *a* y TSS mostró un coeficiente de determinación (R^2) de 69, 80 y 93% para el control, policultivo de baja y policultivo de alta densidad, respectivamente. Estos valores reflejan la fuerte asociación que existe entre estas dos variables y evidencia que el fitoplancton fue la mayor fuente de sólidos suspendidos en el agua del policultiuvo, especialmente donde existió mayor densidad de camarones. Las condiciones de baja profundidad de las piscinas (0,8 m) favoreció la aparición de algas macrófitas pertenecientes al género *Ruppia* en todas las piscinas de monocultivo a partir de la cuarta semana y hasta la cosecha (Fig. 6b).

a

b

Figura 6: Estanques utilizados en el experimento: (a) estanque de policultivo después de cosecha, (b) estanque de monocultivo invadido por algas macrófitas.

En concordancia con los resultados de clorofila *a*, la densidad de fitoplancton total (Fig. 5c) fue menor ($p<0,01$) en el monocultivo, comparada con los policultivos de baja y alta densidad de camarones a partir de la primera y segunda semana después de haber sembrado las tilapias, respectivamente. El análisis de comportamiento por tratamiento indicó que, mientras la densidad de fitoplancton en el control permanecía constante, para los policultivos la evolución fue en aumento siendo significativa desde la segunda semana monitoreada ($p<0,01$).

Un total de cuatro grupos de fitoplancton fueron identificados: algas verdes, cianobacterias, diatomeas y euglenas. Las cianobacterias fueron las más representativas contribuyendo con un 95% del conteo total de fitoplancton durante las 11 semanas de muestreo (Fig. 7). A excepción de *Anabaenopsis* y *Oscillatoria* (algas filamentosas), las dimensiones de los géneros encontrados fueron principalmente pequeñas colonias u organismos unicelulares como *Aphanotece*, *Chroococcus*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Synechococcus* y *Synechocystis*; este último género fue el más abundante con una ocurrencia del 80%. Se hizo distinción por tamaño del filamento (<35 µm y >35 µm) para el conteo del género *Oscillatoria*, y aunque no se presentaron diferencias entre uno y otro grupo dentro del monocultivo, para los policultivos los filamentos menores a 35 µm dominaron ($p<0,01$) en el agua. La comparación entre tratamientos no mostró diferencias para filamentos <35 µm ($p>0,07$), pero si en los >35 µm presentándose en mayor cantidad dentro del monocultivo en comparación a los tratamientos de policultivo ($p<0,01$). Las diatomeas fueron identificadas por géneros pertenecientes al grupo de las pennales con representantes pequeños de *Nitzschia*, y al grupo ¨Centrales¨ con representantes incluidos en el género *Coscinodiscus*. Las algas verdes nunca llegaron a representar más de 10% del conteo total para ninguno de los tratamientos y fueron representadas por organismos unicelulares de pequeño tamaño (< 10µm). *Euglena* spp. se encontró en muy poca cantidad, nunca superó el 2% respecto al total del conteo de fitoplancton y no presentó diferencias entre tratamientos.

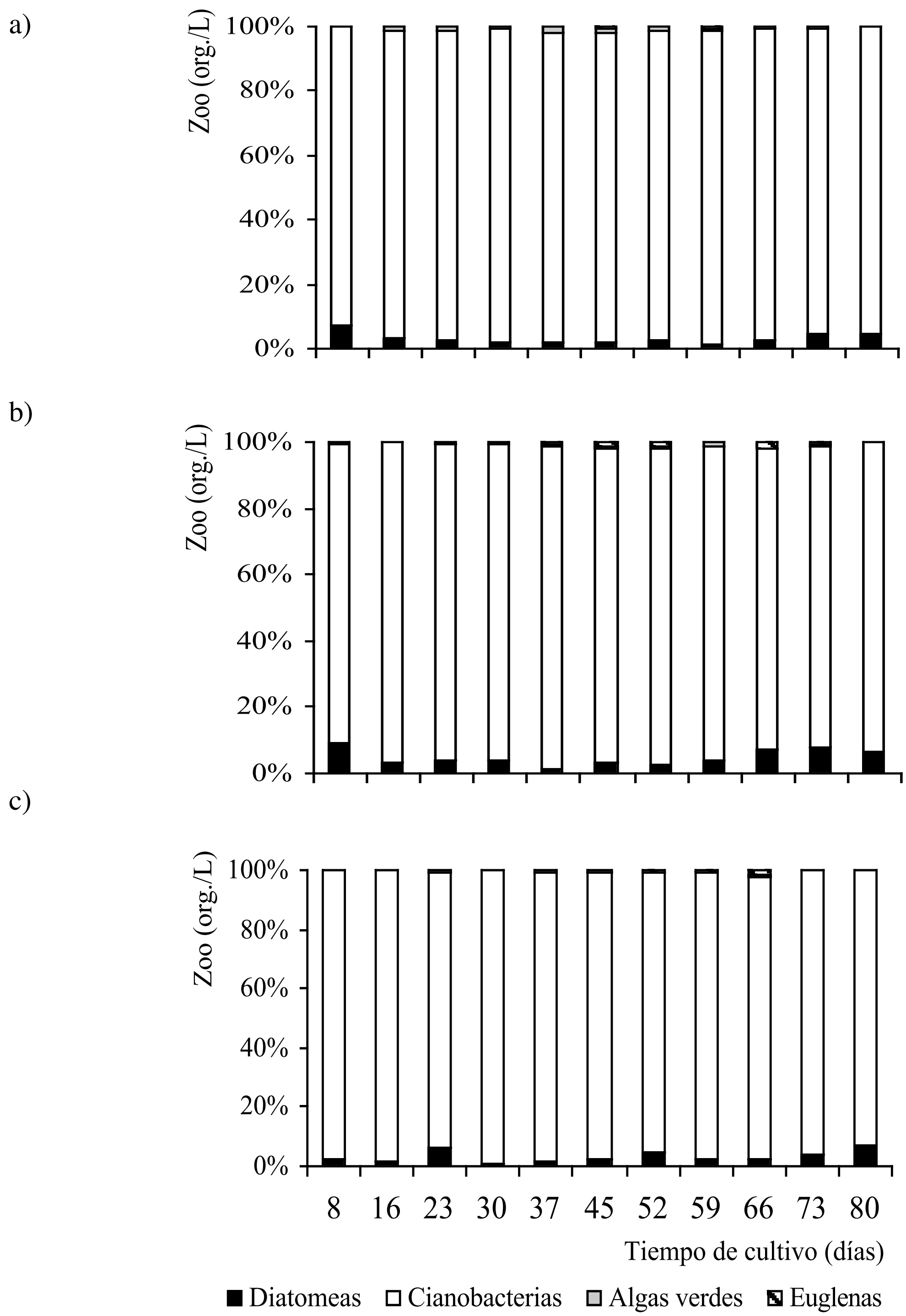


Figura 7: Porcentajes del conteo total para cada grupo de fitoplancton durante el periodo de cultivo. Control (a); Policultivo baja densidad (b); Policultivo alta densidad (c).

Las mayores densidades de zooplancton para todos los tratamientos ocurrieron durante las primeras semanas de cultivo (Fig. 5d). El comportamiento global por tratamiento después de la cuarta semana indicó similitud. Un total de cuatro grupos fueron identificados: Cnidarios (hidropólipo); Copépodos; Rotíferos (de los géneros *Brachionus*, *Colurella* y *Lecane*); y Tintínidos (del género *Tintinnopsis*). En el monocultivo durante los dos primeros meses predominaron los copépodos (nauplios 58% más adultos 42%), mientras que en el tercer mes los rotíferos fueron los dominantes (45%) (Fig. 8a). Para el policultivo de baja densidad hubo un predominio de los rotíferos durante los tres meses (Fig. 8b), equivalente al policultivo de alta densidad con excepción del segundo mes en donde dominaron los copépodos (77% de nauplios y 23% de adultos) (Fig. 8c). Dentro del grupo de los rotíferos siempre fue dominante el género *Brachionus* con 33%, 57% y 48% en los tratamientos monocultivo, policultivo de baja y alta densidad, respectivamente. Los tintínidos conjuntamente con los hidropólipos resultaron ser los grupos menos representativos del zooplancton identificado, mostrando densidades promedio durante el cultivo que no alcanzaron más allá que el 5% y el 9%, respectivamente de los conteos totales.

El análisis de regresión realizado entre la concentración de clorofila *a* y la densidad de zooplancton durante las 11 semanas de muestreo mostró un R^2 de 79% para el control, con una relación directa positiva, mientras que para los tratamientos de policultivo se mostraba una relación negativa entre la estimación de biomasa de fitoplancton y la densidad de zooplancton con R^2 de 67% y 78% en los policultivos de baja y alta densidad, respectivamente (Fig. 9). Este resultado indica que en ninguno de los casos la biomasa de fitoplancton por si sola pudo explicar el comportamiento que presentó la densidad del zooplancton, y que durante el policultivo un aumento en la biomasa de fitoplancton no produce un consecuente aumento en la densidad de zooplancton evidenciando el efecto ¨top-down¨ por parte de la tilapia.

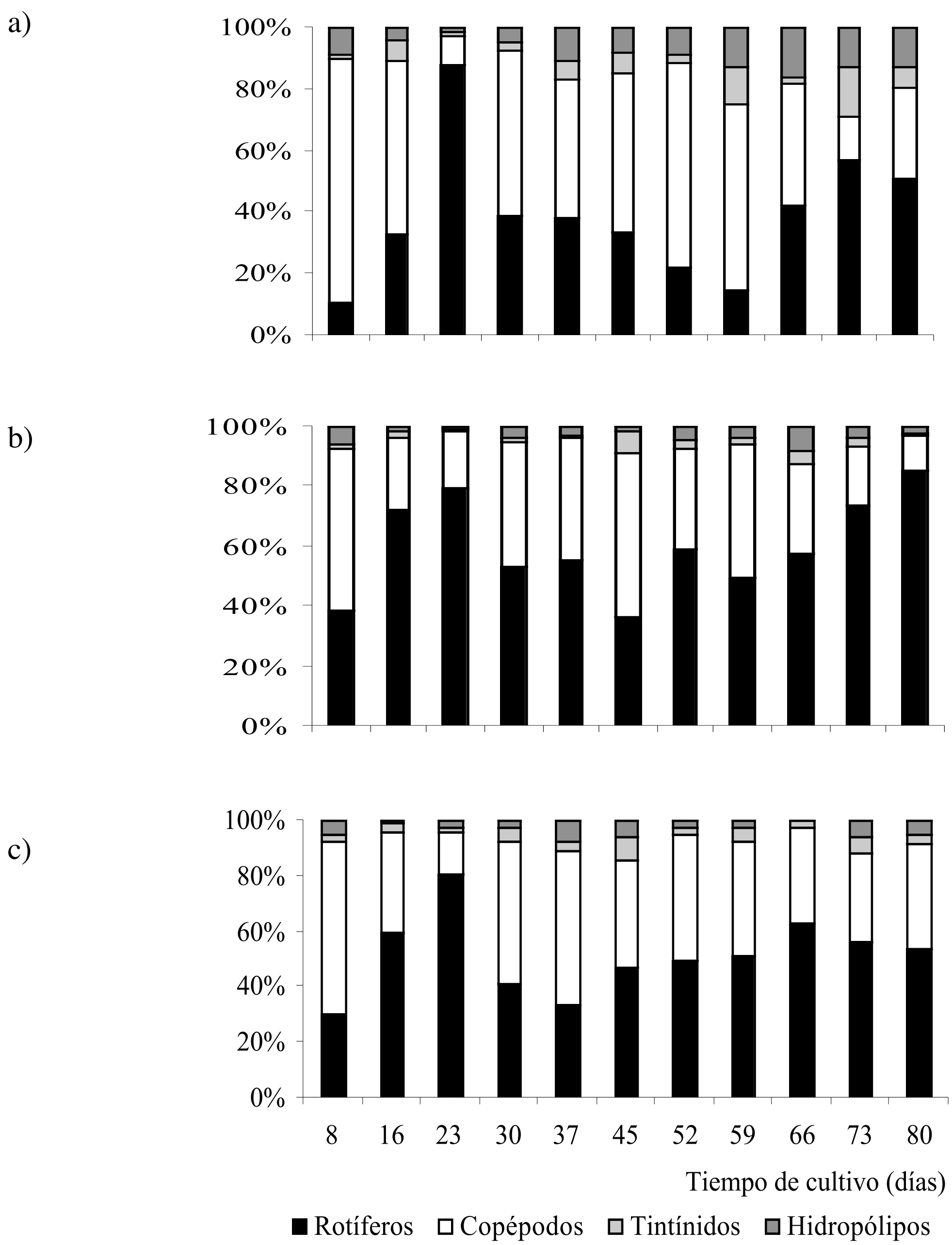


Figura 8: Porcentaje del conteo total para cada grupo de zooplancton durante el periodo de cultivo. Control (a); Policultivo baja densidad (b); Policultivo alta densidad (c).

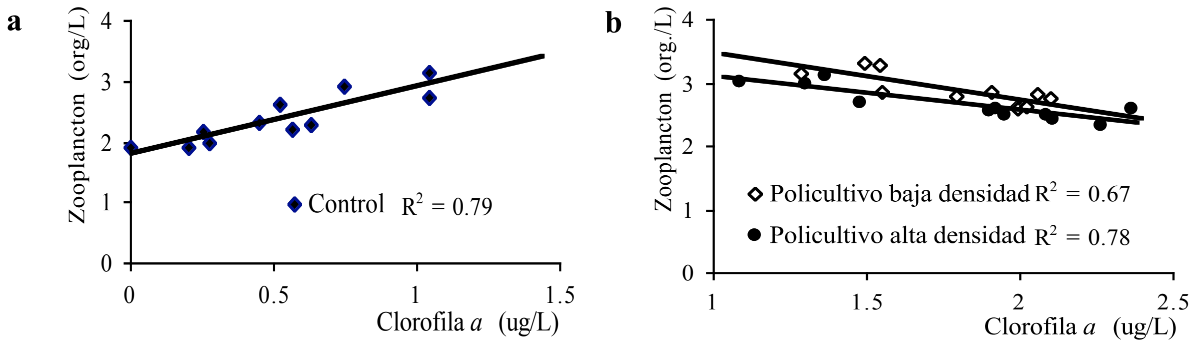


Figura 9: Regresión lineal simple entre la concentración de clorofila *a* y la densidad de zooplancton en el agua para los diferentes tratamientos: (a) monocultivo, (b) policultivos. Los datos para ambas variables presentan transformación (Log *x*).

4.5. CONTENIDO ESTOMACAL DE LAS TILAPIAS:

De 150 ejemplares capturados, con pesos entre 165 y 450 g, el 94% fueron machos. Se identificaron 5 elementos alimentarios en los estómagos de las tilapias, cuyos porcentajes durante los dos últimos meses de cultivo se presentan graficados en la Fig. 10. Un 20 % del total de estómagos analizados, presentó solamente alimento balanceado. El alimento balanceado fue el elemento alimentario más importante dentro de la dieta representado en promedio un 54%. En la categoría fitoplancton se observaron que dentro de las unicelulares fue predominante *Euglena* spp., especialmente en los dos últimos muestreos (días 56 y 70) cuando la tilapia tenía como promedio un peso de 362 g, coincidiendo con la mayor abundancia del grupo de fitoplancton en el agua de los estanques. En menor grado se encontraron diatomeas, algas verdes y cianobacterias filamentosas. La categoría detritus incluyó material orgánico no identificado y una pequeña proporción de sedimento; mientras que en la categoría macrófitas se clasificaron a las algas vasculares y maleza.

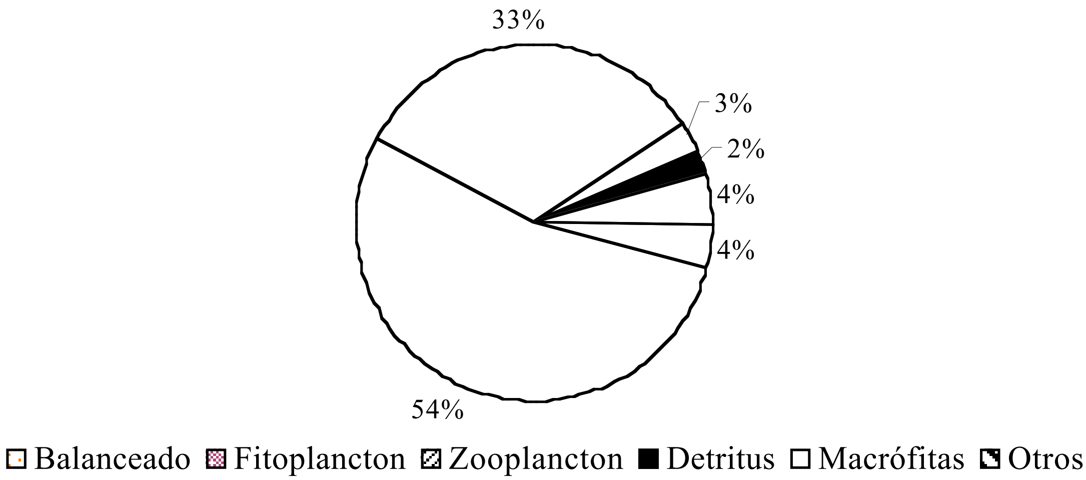


Figura 10: Porcentaje promedio de elementos alimentarios en el contenido estomacal de tilapias (n=150 ejemplares) cultivadas en policultivo con camarones.

4.6. CALIDAD DE SUELO:

Los resultados de porcentajes de carbono orgánico y materia orgánica en los suelos de las piscinas medidos al inicio y final del cultivo, indican una tendencia hacia la disminución de material orgánico durante el periodo experimental (Tabla 5). Esta disminución fue significativa ($p=0,04$) para el porcentaje de carbono orgánico dentro del policultivo de baja densidad. El registro de pH al finalizar el cultivo aumentó significativamente respecto al inicio en los tratamientos control y policultivo de alta densidad ($p<0,01$), mientras que para el policultivo de baja densidad las condiciones permanecían invariantes.

Tabla 5: Datos de calidad de suelo al inicio y final del periodo experimental. Los datos presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice y los datos en una misma columna con diferente cantidad de (*) son significativamente diferentes (ANOVA de una vía con comparación múltiple de medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo baja densidad	Policultivo alta densidad
Materia orgánica (%)			
Inicio del cultivo	$4,4 \pm 1,2^{a,*}$	$3,8 \pm 0,7^{a,*}$	$4,1 \pm 1,1^{a,*}$
Final del cultivo	$3,0 \pm 0,4^{a,*}$	$3,3 \pm 0,7^{a,*}$	$3,4 \pm 0,3^{a,*}$
Carbono orgánico (%)			
Inicio del cultivo	$0,9 \pm 0,3^{a,*}$	$0,9 \pm 0,0^{a,**}$	$0,8 \pm 0,2^{a,*}$
Final del cultivo	$0,7 \pm 0,2^{a,*}$	$0,6 \pm 0,1^{a,*}$	$0,7 \pm 0,1^{a,*}$
pH			
Inicio del cultivo	$7,1 \pm 0,2^{b,*}$	$7,2 \pm 0,1^{b,*}$	$6,9 \pm 0,1^{a,*}$
Final del cultivo	$7,4 \pm 0,1^{b,**}$	$7,3 \pm 0,1^{ab,*}$	$7,2 \pm 0,0^{a,**}$

4.7. POBLACIÓN BACTERIANA AL FINAL DEL CULTIVO:

Los análisis de bacterias totales y *Vibrio* spp. presentes en el agua y suelo al finalizar el cultivo se muestran en la Tabla 6. El policultivo de alta densidad tuvo una concentración menor de bacterias totales presentes en el agua comparado con el policultivo de baja densidad ($p=0{,}03$) y con el monocultivo ($p=0{,}01$). Las proporciones de *Vibrio* spp. Respecto al total de bacterias en agua y suelo no fueron diferentes dentro ni entre tratamientos.

Tabla 6: Concentraciones al final del cultivo de bacterias totales y *Vibrio* spp. en agua y suelo para cada tratamiento. Los valores presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice son significativamente diferentes (ANOVA de una vía con comparación múltiple de medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo baja densidad	Policultivo alta densidad
Agua			
Bacterias totales (10^4 UFC/mL)	33 ± 28^a	19 ± 13^a	2 ± 0^b
Vibrio spp. (UFC/mL)	180 ± 118^a	95 ± 49^a	128 ± 106^a
Suelo			
Bacterias totales (10^4 UFC/g)	925 ± 353^a	958 ± 880^a	1.340 ± 750^a
Vibrio spp. (UFC/g)	533 ± 208^a	356 ± 288^a	667 ± 351^a

5. DISCUSIÓN

5.1. EFECTO DE LA TILAPIA EN EL RENDIMIENTO DE CAMARONES:

A pesar de la detección temprana de camarones infectados con WSSV en todas las réplicas de los diferentes tratamientos (prevalencia ≤ 33% a la tercera semana de cultivo) con el mayor valor promedio de prevalencia en 14 ± 12% (policultivo alta densidad), no se evidenciaron eventos de mortalidades importantes y se obtuvieron supervivencias promedios entre 66 y 89% con rendimientos que superaron los 590 kg/ha (Fig. 4; Tabla 2). Peng *et al*. (2001) reportaron 27 estanques de cultivo de *P. monodon* (PL 10) a densidad de 40 camarones/m^2, donde estudiaron la detección inicial de WSSV en la población de camarones, y su efecto en el éxito de la cosecha al cabo de 174 días. Este reporte mostró que mientras las mayores proporciones de cosechas exitosas son obtenidas en poblaciones libres de WSSV, también pueden obtenerse cosechas exitosas en poblaciones infectadas cuando la prevalencia en la detección inicial no supera el 50%. Sugiriendo que la detección inicial de WSSV es relativamente ligera y que bajo condiciones apropiadas las poblaciones de camarones pueden tener un cultivo exitoso hasta la cosecha. El acelerado crecimiento promedio de la tilapia roja obtenido en el estudio 24,8 – 26,6 g/semana se presentó entre los rangos del crecimiento mostrado por la tilapia nilótica sembrada a densidades de 0,5 y 0,25 peces/m^2 en policultivo con camarón a densidad constante (30 camarones/m^2) durante 75 días de cultivo en el experimento realizado por Yi y Fitzsimmons (2002b).

La temperatura del agua promedio durante el cultivo estuvo en los rangos óptimos para el desarrollo de camarones y tilapias. Sólo durante la segunda semana de cultivo, la temperatura descendió hasta valores críticos reportados como detonantes de mortalidad por WSSV en *P. vannamei*, según los ensayos de desafío a diferentes temperaturas realizados a nivel de laboratorio (Vidal *et al*., 2001; Sonnenholzner *et al*., 2002b). Esta caída de temperatura precedió al pico de prevalencia a WSSV en las poblaciones de camarón, una semana después en los tres sistemas de cultivo (monocultivo, policultivo baja densidad y policultivo alta densidad). La detección simultánea de camarones infectados por WSSV en poblaciones de camarón para todos los tratamientos, sugiere la posibilidad de que la condición de mayor influencia que propició la infección es externa, seguramente la temperatura. El incremento de la temperatura durante los siguientes días hasta la cosecha con promedio de 29,7 ^{o}C y 31,7^{o}C en la mañana y tarde, respectivamente; pudo ayudar al camarón a controlar la infección y mejorar su aptitud inmunológica ante un posible episodio de re-infección (Sonnenholzner *et al*., 2002b). La no ocurrencia de re-infección con WSSV (Fig. 4), pudiera explicarse por las altas temperaturas que permanecieron hasta el final del cultivo; a pesar de no alcanzar de manera sostenida el límite considerado protector que evita la infección de WSSV en camarones (31,5^{o}C) propuesto por Vidal *et al*. (2001) y Sonnenholzner *et al*. (2002b). La baja probabilidad de canibalismo que pudo existir durante el cultivo al no observar camarones muertos también puede explicar la ausencia del evento de re-infección. Basado en los resultados del contenido estomacal de tilapias y la alta supervivencia de camarones en el policultivo, no podemos afirmar que los camarones hayan sido presa de las tilapias. Tampoco existen evidencias en la literatura de tilapias mayores a 200 g se alimenten de camarones en sistemas de policultivo (Wang *et al*., 1998; Tian *et al*., 2001; Yi y Fitzsimmons, 2002a).

Las producciones de camarones no mostraron diferencias significativas entre los sistemas de monocultivo (695 kg/ha) y policultivo (593 kg/ha para sistema de baja densidad y 776 kg/ha para sistema de alta densidad; Tabla 2). Estos resultados no ratifican lo reportado en la literatura, quienes plantean que el camarón en policultivo con tilapia manifiesta un incremento productivo, atribuido fundamentalmente al mejoramiento de la supervivencia (Rouse *et al*., 1987; García y Alston, 2000; Tian *et al*., 2001; Yi y Fitzsimmons, 2002b). El no haber obtenido los rendimientos esperados tiene la explicación en la disminución significativa del peso a la cosecha de los camarones en policultivo (9,7 y 6,4 g contra 12,4 g en monocultivo) y a que el monocultivo de camarón presentó una supervivencia excepcionalmente alta y muy diferente a los resultados reportados por la industria ecuatoriana actual (Sonnenholzner *et al*., 2002a; 2002b). Sin embargo, no se puede afirmar que la tilapia halla limitado la producción camaronera, pues los resultados productivos de los camarones en policultivo son similares a los reportados en granjas camaroneras semi-intensivas de varios países asiáticos (Ling *et al*., 1999), y superiores a los obtenidos por experiencias de policultivo previamente publicadas (Wang *et al*.,1998; Tian *et al*.,2001) y a resultados de 15 ciclos de policultivo para una camaronera comercial del golfo de Guayaquil, Ecuador, con producción promedio de 242 kg/ha/ciclo (datos no publicados; Tabla 7).

Tabla 7: Comparación de producciones de camarón para sistemas de monocultivo (n=67) y policultivo (n=15) en una camaronera del Golfo de Guayaquil, Ecuador. Los valores presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice son significativamente diferentes (ANOVA de una vía con comparaciones múltiples de medias según Scheffé).

Variables	Monocultivo	Policultivo
Siembra		
Densidad de camarón* (PL/m^2)	$17{,}1 \pm 3{,}9^b$	$7{,}0 \pm 1{,}3^a$
Densidad de tilapia (pez/m^2)	-	0,6
Días de cultivo*	116 ± 34^a	169 ± 18^b
Producción de camarón		
Rendimiento (kg/ha/día)	$1{,}5 \pm 0{,}9^a$	$1{,}4 \pm 0{,}7^a$
Peso camarón (g)	$13{,}5 \pm 3{,}9^a$	$16{,}0 \pm 4{,}4^b$
Supervivencia* (%)	8 ± 4^a	23 ± 13^b
Crecimiento (g/semana)	$0{,}8 \pm 0{,}2^a$	$0{,}7 \pm 0{,}1^a$

*Comparación múltiple de medias según la Prueba de Kruskal-Wallis.

Al aumentar la densidad de 7,7 a 18,8 camarones/m^2 en el policultivo, hubo una disminución del 34% en el crecimiento y del 25% en la supervivencia del camarón; sin embargo, aunque el rendimiento productivo incrementó en un 31% no existió diferencias significativas ($p=0{,}10$) aceptando una significancia $\alpha=0{,}05$ y según el número de réplicas usadas un error de Tipo II $\beta=0{,}3$ para una potencia del 70%. Si se aceptase una significancia $\alpha=0{,}10$ se hubiera concluido a favor de la diferencia entre los rendimientos productivos dentro del sistema policultivo con una potencia del 80% (Tabla 2). Otros estudios también indican un efecto negativo sobre el crecimiento y la supervivencia del camarón al incrementar la densidad de siembra en sistema de monocultivo semi-intensivo (Teichert-Coddington y Rodríguez, 1995; Martín *et al*., 1998) y en sistema de policultivo (Wang *et al*., 1998). Wang *et al*. (1998) reportan una disminución del 15% en crecimiento y del 19% en supervivencia a incrementar la densidad de camarones de 4,5 a 7,5 por m^2 manteniendo a la tilapia a una densidad constante de 0,24 peces/m^2. Además encontraron que al sembrar 0,24 peces/m^2 el rendimiento era incrementado significativamente comparado con las densidades de 0,16 y 0,32 peces/m^2 (Wang *et al*., 1998). En el caso de este estudio con igual densidad de camarón pero densidad de tilapia 4 veces superior en la siembra, se obtuvieron en los camarones los mismos resultados de rendimiento de camarones.

La razón para la disminución de peso de los camarones en policultivo puede ser atribuible a la acción competitiva de la tilapia por el alimento de camarones, lo cual se evidenció durante la revisión de los testigos de alimentación. El alimento se terminaba mucho más rápido en los comederos de los policultivos que en los del monocultivo. Además, al retirar súbitamente los comederos, inmediatamente después de cada alimentación, se podían atrapar alevines de tilapia que permanecían comiendo el alimento de los camarones. Este comportamiento competitivo ha sido descrito en policultivos de tilapia con *Cherax quadricarinatus* (Barki *et al*., 2001), *Macrobrachium rosenbergii* (Rouse *et al*., 1987; García y Alston, 2000;), y con *P. monodon* y/o *P. vannamei* (Yi y Fitzsimmons; 2002a). La competencia fue más acentuada en la medida que las condiciones de cultivo se hicieron más intensivas entre tratamientos (aumento de las densidades de camarones) y dentro del mismo tratamiento a causa de la reproduccion natural de la tilapia. Estudios que investigan el efecto de la talla y densidad de tilapia en policultivo con *M. rosenbergii*, demuestran el impacto negativo de la reproducción de tilapia en el crecimiento de camarones (Rouse *et al*., 1987).

Los policultivos tenían concentraciones de oxígeno disuelto en la mañana más bajas, seguramente debido a una tasa de alimentación mayor por la presencia de las tilapias. Resultados similares de deterioro de la calidad de agua en sistemas de policultivo camarón-tilapia han sido reportados por Heinen *et al.* (1987), Wang *et al.* (1998), Yi y Fitzsimmons (2002b) y Cruz y Sonnenholzner (2003a; 2003b). Se pudo controlar los niveles bajos de oxígeno disuelto en el agua ajustando la ración alimenticia para tilapias y culminar el cultivo manteniendo niveles de oxígeno disuelto superiores a 2,0 mg/L. A excepción de dos ocasiones durante la penúltima semana de cultivo donde hubo necesidad de recambiar agua en dos piscinas de policultivo (una de baja densidad y la otra de alta densidad).

Basado en los resultados productivos de camarones y tilapias, precios operacionales, y de venta publicados por CNA (2003) y Fitzsimmons (2003); se elaboró un balance económico para los diferentes tratamientos. Los gastos variables incluyen los costos de semilla, alimento para las especies de cultivo y mano de obra a la cosecha, mientras que los gastos fijos representan la energía y la fuerza de trabajo por hectárea. Los ingresos son calculados a partir de las ventas de camarones y tilapias. El análisis económico realizado muestra que no existió diferencia en ganancias entre los dos sistemas de cultivo (monocultivo y policultivo a igual densidad de camarones). Las utilidades presentaron promedios en un rango de 702 a 945 USD/ha. La razón fundamental fue que la tilapia no alcanzó la talla mínima comercial de 500g, por lo que el ingreso por venta de tilapia se presentó muy por debajo de lo esperado, pues del rango de precios (0,70 - 0,90 USD/lbs) para tilapia en empacadoras de Guayaquil, se logro vender en un precio de 0,44 USD/lbs las tilapias con peso promedio entre 462 y 484g.

Estos resultados pueden ser mejorados si se planifica la duración del ciclo en relación al precio de venta a la cosecha. La ventaja comercial de acortar los ciclos de producción y obtener un mayor número de cosechas, debe ser balanceada con las pérdidas económicas asociadas a los bajos precios por no alcanzar adecuadas tallas comerciales en la cosecha. Sin embargo, mientras mayor es la duración del ciclo de producción, mayores serán los costos de operación y el riesgo de pérdida por mortalidad antes de la cosecha. De esta manera, surge el problema de determinar el preciso momento en que, desde el punto de vista de la rentabilidad obtenida, es más conveniente cosechar.

Tomando en cuenta que los productores ecuatorianos normalmente esperan pesos promedios para el camarón encima de los 12 g y para la tilapia de mínimo 500 g, se realizó un análisis económico bajo la percepción del crecimiento semanal obtenido para ambas especies durante el experimento hasta alcanzar talla comercial. En la Tabla 8 se resume la utilidad de cada uno de los tratamientos si el experimento se hubiera extendido por 15 días más. En este caso, con el aumento del tiempo de cultivo, la ganancia económica del policultivo puede ser mayor que la del monocultivo ($p<0,01$), atribuido principalmente a los ingresos adicionales de la venta de las tilapias. Los resultados de utilidad obtenida se pueden ubicar cercanamente al límite inferior del rango de ganancia (3.000 – 5.000 USD/ha/ciclo) obtenida por productores tailandeses cuando realizan policultivo camarón-tilapia (Yi y Fitzsimmons; 2002a). El análisis de costos por kg de camarón producido en los 89 días de cultivo indicó como promedio un valor de 1,67 ± 0,17 USD/Kg entre los tratamientos, inferior al costo de producción promedio que obtienen productores asiáticos en monocultivo (3.71 ± 1.66

USD/Kg), analizando las mismas variables de costo e igual intensidad de cultivo (Ling *et al.*, 1999).

Tabla 8: Balance económico proyectado con 15 días adicionales manteniendo las mismas condiciones de cultivo para el experimento originalmente realizado. Los datos presentados en una misma fila con diferentes letras de superíndice son significativamente diferentes (ANOVA de una vía con comparaciones múltiples de las medias según Scheffé).

Variable	Control	Policultivo baja densidad	Policultivo alta densidad
Gastos variables (USD/ha)			
Camarones	509 ± 13^{b}	475 ± 8^{a}	788 ± 7^{c}
Tilapias	-	3.553 ± 57^{a}	3.527 ± 36^{a}
Gastos fijos (USD/ha)	699	699	699
Ingresos (USD/ha)			
Camarones	2.351 ± 423^{b}	1.603 ± 26^{a}	1.775 ± 169^{ab}
Tilapias	-	6.096 ± 376^{a}	6.121 ± 255^{a}
Utilidad (USD/ha)	1.144 ± 427^{a}	2.974 ± 318^{b}	2.882 ± 329^{b}

5.2. EL EFECTO DE LA TILAPIA SOBRE EL ECOSISTEMA DE PRODUCCIÓN:

Los estanques usados para el experimento poseían 0,8 m de profundidad promedio, lo que promovió el florecimiento de la macrófita *Ruppia* spp. en el tratamiento de monocultivo (Fig. 6). En este sentido Shelton y Murphy (1989) plantearon el riesgo de florecimiento de macrófitas no deseadas cuando se usan estanques con profundidad <1,0 m. Sin embargo, en los policultivos, la tilapia se encargaba de pastorear sobre dicha maleza como se comprobó en la revisión de su contenido estomacal donde un 4% de ocurrencia pertenecía a la categoría "macrofitas". Además, el agua de las piscinas de policultivo tenían concentraciones más altas de TSS, clorofila *a* y fitoplancton, lo que ofreció condiciones de turbidez suficientes para impedir el crecimiento de éstas plantas de fondo. Boyd (1990) al analizar la problemática del crecimiento de macrófitas no deseadas en estanques acuícola, plantea que la turbidez es probablemente el factor más crítico que regula el crecimiento de macrófitas, y que generalmente las macrófitas están ausentes en aguas con fuerte o moderado florecimiento de fitoplancton. Boyd (1990) además relacionó la abundancia de fitoplancton (concentración de clorofila *a*), la claridad del agua (visibilidad del disco secchi) y el crecimiento de algas macrófitas en el fondo de estanques en Auburn, Alabama. La ilustración de esta relación entre el fitoplancton y el alga macrófita (Boyd, 1990), indico que cuando el alga macrófita es abundante (50-60% en el fondo de estanques) existe poco fitoplancton evidenciado por la alta visibilidad del disco secchi y baja concentración de clorofila *a* (0-15 μg/L); pero cuando se desarrolla un florecimiento de fitoplancton (clorofila a ≥ 50 μg/L), la abundancia de algas macrofitas disminuye hasta su desaparición. A pesar de la permanencia de *Ruppia* spp. en el monocultivo, el crecimiento de los camarones no fue afectado. Similares crecimientos para *P. vannamei* fueron obtenidos bajo condiciones reducidas de recambio de agua por Martinez-Cordova *et al*. (1995) y por la industria ecuatoriana. Sin embargo, la presencia de *Ruppia* spp. no permitió un adecuado manejo durante las estimaciones de biomasa para el ajuste semanal de la dieta y dificultó, aún más, el manejo al momento de la cosecha (Fig. 11).

Figura 11: Manejo durante muestreo y cosecha de camarones cultivados en estanque de tierra invadido completamente por algas macrófitas.

Los resultados promedios de TSS y clorofila *a* encontrados durante el experimento son similares a los obtenidos en una camaronera del Golfo de Guayaquil con sistema de policultivo e iguales densidades de siembra para ambas especies (Cruz y Sonnenholzner, 2002a; 2202b). El agua del policultivo presentó la mejor interdependencia entre estas dos variables con R^2 entre 80 y 93%, sugiriendo que la biomasa de fitoplancton fue el mayor determinante en la turbidez de sólidos suspendidos en el agua del estanque acuícola (Boyd, 1990).

Las condiciones medio ambientales como altas concentraciones de nutrientes, baja salinidad y alta temperatura de los estanques son apropiadas para la proliferación de las cianobacterias (Paerl y Tucker, 1995). Cianobacterias de los géneros *Anabaena*, *Microcystis* (también denominada *Aphanotece*) y *Oscillatoria* forman extensivas y persistentes floraciones en estanques de acuicultura en Ecuador. Cajas *et al*. (2000) indican que durante la estación lluviosa *Oscillatoria limnetica* y *Oscillatoria amphygranulata* dominan en piscinas camaroneras en el Oro y Manabí, mientras varias especies del género *Oscillatoria* y *Phormidium molle* dominan en Esmeraldas. Varios estudios sobre la composición del fitoplancton en el Golfo de Guayaquil encontraron a las diatomeas como grupo dominante, simultáneamente con incremento de cianobacterias y algas verdes al inicio de la estación lluviosa (Jiménez y Pesantes 1978; Jiménez y Bonilla 1980; Cajas *et al*. 1998; Coello y Moya 1999).

Las tilapias se alimentaron principalmente del balanceado (Fig. 8). Sin embargo, a través de la filtración del agua, el fitoplancton constituyó el segundo aporte en el contenido estomacal. Fitzsimmons (2001) reportó que bajo sistema semi-intensivo de producción, la tilapia además de consumir el alimento suplementario, continua su acción de pastoreo sobre la comunidad planctónica del estanque. Los niveles bajos de zooplancton en los tratamientos de policultivo tres semanas después de haber sembrado las tilapias a pesar de los incrementos en la biomasa de fitoplancton, evidencian el efecto ¨top-down¨ o pastoreo de la tilapia sobre el zooplancton. Vinyard *et al*. (1988) afirman que la tilapia es capaz de disminuir la abundancia de zooplancton y, consecuentemente, aumentar la biomasa de fitoplancton. El efecto top-down de la tilapia sobre la comunidad planctónica se muestra de manera directa e indirecta. En el efecto directo, la acción selectiva de la tilapia sobre el zooplancton resulta en una disminución de la presión predadora del zooplancton sobre el fitoplancton pequeño (Lazzaro, 1987; Torrans y Lowell, 1987). Una vez reducida la presión, el fitoplancton pequeño es capaz de demostrar alta productividad y un uso eficiente de los nutrientes en el agua debido a su gran poder de absorción y su bajo índice de precipitación (Boyd y Tucker, 1998). El otro efecto directo de la tilapia se notó con la disminución de representantes del género *Oscillatoria* ≥ 35 µm en los policultivos que fue comprobado por la presencia de estos filamentos en los estómagos de los peces. Resultados similares de depredación sobre el fitoplancton de gran tamaño fueron presentados por Leventer (1981), Drenner *et al.* (1987) y Torrans y Lowell (1987). El efecto indirecto de la tilapia se demuestra a través de la remoción del sedimento y disturbio cuando nada, aumentando la resuspensión de nutrientes que benefician al plancton (Vinyard *et al*.; 1988).

El resultado constante en la estructura de la comunidad fitoplanctónica en todos los tratamientos durante el periodo de cultivo (dominio de *Synechocystis*), fue debido al sistema de cultivo cerrado. Resultados similares fueron obtenidos por Tookwinas y Songsangjinda (1999) al estudiar la dinámica del fitoplancton en estanques camaroneros de Tailandia con escaso o ningún recambio de agua. Las piscinas con tilapia no mostraron niveles más bajos de clorofila *a* como se hubiera esperado por el efecto directo de pastoreo sobre el zooplancton y fitoplancton de gran tamaño (Leventer, 1981; Drenner *et al*., 1987) y la elevada entrada de nutrientes vía alimentación. Turker *et al*. (2003) recomiendan en los sistemas de policultivo con tilapia, la siembra adicional de moluscos que hagan una acción filtradora complementaria para brindar un mejor control sobre los niveles del fitoplancton. Tian *et al*. (2001) practicaron un policultivo cerrado con camarón (*P. chinensis*), tilapia y molusco (*Sinonovacula constricta*) obteniendo resultados favorables en cuanto al manejo del fitoplancton y consiguiente disminución de la carga de materia orgánica en el agua de los estanques.

Los niveles de bacterias (agua y suelo) y las concentraciones de materia orgánica en el suelo no fueron diferentes entre tratamientos. Sin embargo, Tian *et al.* (2001) reportan niveles más bajos de bacterias en sistema de policultivo camarón-tilapia-molusco comparando con un sistema tradicional de monocultivo de *P. chinensis*. Los valores de bacterias totales encontrados en el experimento fueron similares en orden a los resultados del CENAIM para el agua y sedimento de piscinas camaroneras comerciales de *P. vannamei* (Bayot *et al*., 2001; Datos no publicados, Fundación CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador). Tampoco hubo diferencias con los niveles de bacterias reportados por Al-Harbi y Uddin (2003) en piscinas comerciales de tilapia roja. Los porcentajes de carbono orgánico obtenidos como promedio en el suelo de las piscinas fueron similares a valores reportados por Sonnenholzner y Boyd (2000) en camaroneras del Ecuador. Según Boyd (1989), el nivel de materia orgánica en el estanque está cercanamente relacionado con el suministro de alimento y la biomasa de fitoplancton. A pesar de encontrar grandes diferencias en el suministro de alimento y en la biomasa de fitoplancton entre el monocultivo y el policultivo, no hubo diferencia significativa en cuanto a la acumulación de materia orgánica del suelo en el tiempo para ningún tratamiento. En el monocultivo, con menor entrada de nutrientes y totalmente invadido por algas macrofitas, no se presentó acumulación de material orgánico debido aparentemente a que los camarones hicieron un eficiente uso del alimento suministrado, que los pocos desechos liberados al medio fueron oxidados y que la *Ruppia* spp. absorbió nutrientes de la columna de agua como del suelo (Shelton y Murphy, 1989; Boyd, 1990). Por otro lado, la resuspensión de sedimentos en los policultivos por las tilapias pudo haber permitido una adecuada oxidación del material orgánico e incrementó la solubilidad de los nutrientes en la columna de agua, permitiendo un adecuado reciclaje de nutrientes.

Productores en Tailandia plantean que las razones fundamentales para la realización del policultivo camarón-tilapia son el mejoramiento de la calidad del agua, reducción de nutrientes en los efluentes y control de brotes de enfermedades (Yi y Fitzsimmons, 2002a). En nuestro experimento no pudimos ratificar ninguna de estas razones. El indicador principal de calidad de agua que es la concentración de oxígeno disuelto en la mañana, no fue superior en el policultivo, debido probablemente a la mayor biomasa cultivada y consecuentemente mayor entrada de nutrientes que provocó florecimientos sostenidos de fitoplancton. Nunca se encontraron residuos de camarón durante los análisis del contenido estomacal de las tilapias, por lo que se hipotetiza que en el control de la enfermedad WSSV, la tilapia no tuvo un efecto directo. La infección inicial de WSSV en las poblaciones de camarón (tercera semana de cultivo) pudo haber sido controlada por las condiciones ambientales apropiadas que se sucedieron, caracterizadas por un aumento gradual de la temperatura en el agua, que si bien no alcanzó de manera sostenida la temperatura protectora (31,5^{o}C) ante infección por WSSV (Vidal *et al*., 2001; Sonnenholzner *et al*., 2002b), si fueron condiciones suficientes para obtener un buen desarrollo de los cultivos (temperaturas de 29,7 a 31,7 en la mañana y la tarde, respectivamente) logrando rendimientos de camarón superiores a los reportados por la industria ecuatoriana durante los eventos de WSSV (Sonnenholzner *et al*., 2002a).

6. CONCLUSIÓN

1. No hubo diferencias en la prevalencia de WSSV ($\leq$14%) para las poblaciones camaronas de los tratamientos monocultivo y policultivo, bajo las condiciones ambientales correspondiente a la época cálida (enero-abril).
2. El consumo por parte de la tilapia del alimento balanceado suministrado al camarón afectó el crecimiento del crustáceo (disminución en un 22% en los policultivos comparado con el monocultivo).
3. El incremento en la densidad de camarones sembrados (de 7,7 a 18,8 PL/m^2) en policultivo manteniendo la misma densidad de tilapia (1 pez/m^2), tuvo un acentuado impacto negativo en el crecimiento de los camarones con una disminución del 34%.
4. La tilapia roja puede servir de control para maleza no deseable en estanques camaroneros de baja profundidad ($\leq$0,8 m), a través de su acción directa de pastoreo e incremento de turbidez en el agua para evitar la penetración de los rayos solares hasta el fondo de los estanques.
5. La tilapia fue efectiva en depredar los representantes de gran tamaño en la población fitoplanctónica (filamentos de *Oscillatoria* spp. > 35 μm y *Euglena* spp.).

7. RECOMENDACIONES

8. Se recomienda en los sistemas de policultivo disminuir la densidad de siembra de la tilapia, manteniendo el peso entre 150 y 200 g, para disminuir competencia por el alimento suministrado a camarones, evitar problemas de oxígeno disuelto en la madrugada causados por las altas tasas de alimentación y asegurar alcanzar una talla comercial.
9. Se recomienda la aplicación de recambios ligeros de agua en los estanques y el uso emergente de aireación durante el policultivo camarón-tilapia con elevadas tasas de alimentación.
10. La duración del policultivo no debería ser menor a 90 días para alcanzar adecuadas tallas comerciales y ganancias esperadas por ciclo para ambas especies.

8. BIBLIOGRAFÍAS

Aguirre Guzmán, G., y F. Ascencio Valle. 2000. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. Resent Research in Developmental Microbiology 4:333-348.

Akiyana, D., y A. Anggawati. 1999. Polyculture of *Penaeus monodom* and red tilapia in intensive pond culture conditions. American Soybean Association (ASA), Technical Bulletin 47:1-7.

Alceste, C., y D. Jory. 2002. World Tilapia Farming. www.aquaculturemag.com/siteenglish/printed/buyers/web-tilapia.pdf.

Al-Harbi, A.H., y N. Uddin. 2003. Quantitative and qualitative studies on bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) cultures in earthen ponds in Saudi Arabia. Aquaculture Research 34:43-48.

American Public Health Association (APHA), American Water Work Association, y Water Environment Federation. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition. APHA, Washington D.C., EE.UU.

Barki, A., N. Gur, y I. Karplus. 2001. Management of interspecific food competition in fish-crayfish communal culture: the effects of the special and temporal separation of feed. Aquaculture 201:343-354.

Bayot, B., R. Cedeño, I. Betancourt, F. Panchana, M. Peeters, y F. Echeverria. 2001. Monitoreo epidemiológico en tres piscinas afectadas por el WSSV. El Mundo Acuícola 7(1):46-50.

Bejerano, A. 2001. Policultivo ¿Oportunidad o riesgo? Acuacultura del Ecuador 41:43-47.

Boyd, C.E. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Departmental Series No.2. Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University, Alabama, EE.UU.

Boyd, C.E. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Department of Fisheries and Allied Aquacultures. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, EE.UU.

Boyd, C.E. 1995. Bottom Soil Sediment and Pond Aquaculture. Chapman & Hall, New York, EE.UU.

Boyd, C.E., y C.S. Tucker. 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publisher, Boston, EE.UU.

Boyd, C.E., y M. Haws. 1999. Good management practices (GMPs) to reduce environmental impacts and improve efficiency of shrimp aquaculture in Latin America. Pagínas 9-33, *En* “V Central Symposium on Aquaculture”, 18-20 Agosto 1999, San Pedro Sula, Honduras.

Cajas de, L., D. Coello, y O. Moya. 1998. Comunidades del fitoplancton en los rios Daule y Guayas. *En*: Instituto Nacional de Pesca (editor), Comportamiento temporal y Espacial de las Caracteristicas Físicas, Químicas y Biológicas del Golfo de Guayaquil y sus Afluentes Daule y Babahoya entre 1994-1996, Guayaquil, Ecuador.

Cajas de, L., M. Prado, D. Coello, y J. Cajas. 2000. Fitoplancton y mesozooplancton en piscinas camaroneras en la costa ecuatoriana durante el evento del síndrome de la mancha blanca. *En*: F.I. Ormaza (editor), Boletín Especial, Situación de la Problemática por la presencia del Virus ¨Mancha Blanca (WSSV)¨en el Cultivo del Camarón en el Litoral Ecuatoriano durante 1999. Instituto Nacional de Pesca, Guayaquil, Ecuador.

Calderón, J. 2002. Análisis de una traumática experiencia: El WSSV en Ecuador. El Mundo Acuícola 8(1):20-24.

Calderón, J., y S. Sonnenholzner. 2002. El uso de los invernaderos como una alternativa de producción camaronera en Ecuador. El Mundo Acuícola 8(2):7-11.

Calderón, J., y S. Sonnenholzner. 2003. Cultivo de camarón: experiencias y desafíos en el uso de invernaderos. El Mundo Acuícola 9(1):4-8.

Calderón, J., B. Bayot, I. Betancourt, y V. Alday. 1999. Monitoreo del WSSV en el Ecuador. El Mundo Acuícola 5(2):11-14.

Cámara Nacional de Acuicultura (CNA). 2003. Estadísticas de Exportación Tilapia – USA. www.cna-ecuador.com/estadisticas/Exportaciones-Tilapia.htm.

Castillo, L.F. 2003. Tilapia roja 2003; una evolución de 22 años de la incertidumbre al éxito. www.red-arpe.cl/document/TILAPIA_ROJA_2003.pdf..

Chang, C.F., M.S. Su, H.Y. Chen, y I.C. Liao. 2003. Dietary β-1,3 glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus. Fish & Shellfish Immunology 00:1-14.

Chavarría, J. 2003. Desarrollo de un sistema de alerta climática para acuicultura - Parte 1: Las evidencias de la relación clima – producción. Boletín informativo No. 81, Fundación CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador.

Chou, H.Y., C. Huang, C.C. Lo, y G.H. Kou. 1998. Studies of transmission of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via water-borne contact and oral ingestion. Aquaculture 164:263-276.

Cocke, E. 1967. The Myxophyceae of North Carolina. Edwards Brothers, Inc., Michigan, EE.UU.

Coello, D., y O. Moya. 1999. Fitoplancton y tintínidos en agues costeras ecuatorianas durante Junio de 1999. Boletin Científico y Técnico del Instituto Nacional de Pesca, Ecuador 17(13):25-35.

Colwell, R.R. 1984. Vibrios in the Environment. John Wiley & Sons, Inc. New York, EE.UU.

Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones (CORPEI). 2001. Product profile Tilapia: "Expansion of Ecuador´s Export Commodities". www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/ CORPEI/tilapia.pdf.

Cruz, J., y S. Sonnenholzner. 2003a. Comparación de la calidad de agua de los efluentes de monocultivo y policultivos. Boletín Informativo No. 76, Fundación CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador.

Cruz, J., y S. Sonnenholzner. 2003b. Carga de nutrientes en efluentes durante la cosecha de camarón cultivado en sistemas mono y policultivo con tilapia. Boletín Informativo No. 77, Fundación CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador.

De Clers, S. 1994. Sampling to detect infections and estimate prevalence in aquaculture. Pisces Press, Stirling, Gran Bretaña.

Drenner, R.W., K.D. Hambright, G.L. Vinyard, M. Gophen, y U. Pollinghes. 1987. Experimental study of size-selective phytoplankton grazing by a filter-feeding cichlid and cichlid´s effects on plankton community structure. American Society of Limnology and Oceanography 32(5):1138-1144.

Fitzsimmons, K. 2001. Polyculture of tilapia and penaeid shrimp. Global Aquaculture Advocate 4(3):43-44.

Fitzsimmons, K. 2003. International Production and Markets for Tilapia. www.ag.arizona.edu/azaqua/ista/Markets/Brazil2003.ppt.

Flegel, T.W. 1997. Special topic review: major viral disease of the black tiger prawn *Penaeus monodon* in Thailand. World Journal of Microbiology and Biotechnology 13:433-442.

Flegel, T.W., S. Boonyartatpalin, y B. Withyachumnarnkul. 1998. Current status research on yellow head virus and white spot virus in Thailand. Páginas 285-295 *En* T.W. Flegel y I. H. MacRae (editores), Diseases in Asian Aquaculture, Asian Fisheries Society, China.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1992. Aquaculture production 1984 – 1990. Fisheries Circular 185, Review 4, Rome, Italia.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2003. Review of state of world Aquaculture. Fisheries Circular No. 886 Rev. 2, Rome, Italia.

Fuchs, J., J.L. Martin, y N.T. An. 1999. Impact of tropical shrimp aquaculture on the environment in Asia and the Pacific. Bulletin de l´IFREMER 12(4):9-13.

García, A. y D. E. Alston. 2000. Comparisons of male and female morphotypes distribution of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, in monoculture versus polyculture with nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Caribbean Journal of Science 36(3-4):340-342.

Globefish. 2003. World shrimp production. Septiembre del 2003. http://www.globefish.org.

Gullian, M., y J. Rodríguez. 2002. Estudio de las cualidades inmunoestimulantes de nuevas bacterias probióticas asociadas al cultivo de *Litopenaeus vannamei*. El Mundo Acuícola 8(1):47-49.

Heinen, J.M., H. Randal, y L.R. D´Abramo. 1987. Polyculture of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* and channel catfish fingerlings *Ictalurus punctatus* in 1985 in Mississippi. Journal of the World Aquaculture Society 18(3):190-195.

Hyslop, E.J. 1980. Stomach contents analysis. a review of methods and their application. Journal of Fish Biology 17:411-429.

Jiménez, R. 1983. Diatomeas y Silicoflagelados del Fitoplancton del Golfo de Guayaquil. Acta Oceanográfica del Pacífico, Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador (INOCAR), 2(2), Guayaquil, Ecuador.

Jiménez, R., y F. Pesantes. 1978. Fitoplancton, producción primaria y pigmentos en agues costeras ecuatorianas. *En*: Publicación INOCAR 2(1), Departamento de Ciencias del Mar, División de Biología Marina, Guayaquil, Ecuador.

Jiménez, R., y D. Bonilla. 1980. Composición y distribución de la biomasa del plankton en la fuente ecuatorial. *En*: Publicación INOCAR 1(1), Departamento de Ciencias del Mar, División de Biología Marina, Guayaquil, Ecuador.

Jiménez M., y M. Nepita. 2000. Espectro trófico de la tilapia *Oreochromis aureus* (Perciformes: Cichlidae) en la presa Infiernillo, Michoacán-Guerrero, México. http://rbt.ots.ac.cr/revistas/48-2-3/20.%20jimenez.htm.

Jory, D.E., y H.M. Dixon. 1999. Shrimp whitespot virus in the Western hemisphere. Aquaculture Magazine 25(3):83-88.

Jun, X., F. Xiuzheng, y Y. Tongbing. 2000. Physico-chemical factors and bacteria in fish ponds. Naga, The ICLARM Quarterly 23(4):16-20.

Kautsky, N., P. Rönnbäck, M. Tedengren, y M. Troell. 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. Aquaculture 191:145-161.

Lazzaro, X. 1987. A review of planktivorous fishes: their evolution, feeding behaviour, selectivities and impacts. Hydrobiologia 146:97-167.

Leung, P., L. Tran, y A. Fast. 2000. A logistic regression of risk factors for disease occurrence on Asian shrimp farms. Diseases of Aquatic Organisms 41:65-76.

Leung, P., y L. Tran. 2000. Predicting shrimp disease occurrence: artificial neural networks vs. logistic regression. Aquaculture 187:35-49.

Leventer, H. 1981. Biological control of reservoirs by fish. Bamidgeh 33:3-33.

Lightner, D., y P. Chen. 2000. Enfermedad de las manchas blancas. http://www.oie.int.

Lindberg, T., y A. Nylander. 2001. Strategic environmental assessment on shrimp farms in the southeast of Thailand. Swedish University of Agricultural Sciences, Minor Field Studies No.176. Uppsala, Sweden.

Ling, B.H., P.S. Leung, y Y.C. Shang. 1999. Comparing asian shrimp farming: the domestic resource cost approach. Aquaculture 175:31-48.

Lo, C.F, J.H. Leu, C.H. Ho, C.H. Chen, S.E. Peng, Y.T. Chen, C.M. Chou, P.Y. Yeh, C.J. Huang, H.Y. Chou, C.H. Wang, y G.H. Kou. 1996. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. Diseases of Aquatic Organisms 25:133-141.

Lo, C.F., C.H. Ho, C.H. Chen, K.F. Liu, Y.L. Chiu, P.Y. Yeh, S.E. Peng, H.C. Hsu, H.C. Liu, C.F. Chang, M.S. Su, C.H. Wang, y G.H. Kou. 1997. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. Diseases of Aquatic Organisms 30(1):53-72.

Lopretto, E, y G. Tell. 1995. Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio II. Ediciones Sur, La Plata, Argentina.

Maldonado, M. 2003. Estudio de la respuesta inmunitaria de camarones *Litopenaeus vannamei* de familias resistentes al WSSV y el efecto de la adición de β-glucanos. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Marriott, F. 2003. Análisis del sector camaronero. Apuntes de Economía No. 29, Dirección de Investigaciones Económicas del Banco Central del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.

Martín, J.L., Y. Veran, O. Guelorget, y D. Pham. 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationship studied through the nitrogen budget in rearing ponds. Aquaculture 164:135-149.

Martínez-Cordoba, L., H. Villarreal, y M.A. Porchas. 1995. Culture of white shrimp *Penaeus vannamei* in reduced water exchange ponds in Sonora, Mexico. World Aquaculture 26(4):47-48.

McGraw, W., D. Teichert-Coddington, D. Rouse, y C.E. Boyd. 2001. Higher minimum dissolved oxygen concentrations increase penaeid shrimp yields in earthen ponds. Aquaculture 199:311-321.

McVey, J.P., R.R. Stickney, C. Yarish, y T. Chopin. 2002. Aquatic polyculture and balanced ecosystem management: new paradigms for seafood production. Paginas 91-104. *En* R.R. Stickney y J.P. McVey (editors), Responsible Marine Aquaculture. CABI Publishing. Maryland, EE.UU.

Molina, C., V. Escobar, J. Gamboa-Delgado, E. Cadena, F. Orellana, y P. Piña. 2002. Estrategia de alimentación de acuerdo a la demanda fisiológica del juvenil *Litopenaeus* *vannamei* (Boone). Avances en Nutrición Acuícola VI, Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 3 al 6 de Septiembre del 2002, Cancún, México.

Moriarty, D. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. 8th International Symposium on Microbial Ecology, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada.

Motesdeoca, M., Y. Amano, F. Echevarría, I. Betancourt, F. Panchana, M. Sotomayor, y J. Rodríguez. 2002. La respuesta inmunitaria celular del camarón *Litopenaeus vannamei* al WSSV y su utilidad en el control de la enfermedad en los estanques. El Mundo Acuícola 8(1):38-42.

Otero, V. 2001. Evaluación de los β-glucanos como inmunoestimulantes del sistema de defensa del camarón blanco *Litopenaeus vannamei.* Tesis de Biólogo Pesquero, Universidad Laica "Eloy Alfaro", Manta, Ecuador.

Paerl, H.W., y C.S. Tucker. 1995. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. Journal of the World Aquaculture Society 26(2):109-131.

Pechar, L. 1987. Use of an acetone:methanol mixture for the extraction and spectrophotometric determination of chlorophyll-a in phytoplankton. Archiv für Hydrobiologie Supplement 78:99-117.

Peinado, L., J. Méndez, y M. López. 2002. Detección molecular y análisis de la dispersión del síndrome de la mancha blanca en estanques comerciales de camarón. Segundo Congreso Nacional, Bioquímica y Biología Molecular del Virus, Acapulco, México.

Peng, S.E., Ch.F. Lo, S.Ch. Lin, L.L. Chen, Y.S. Chang, K.F. Liu, M.S. Su, y G.H. Kou. 2001. Performance of WSSV-infected and WSSV-negative *Penaeus monodon* postlarvae in culture ponds. Diseases of Aquatic Organisms 46:165-172.

Pérez, F. L. Gómez, V. Otero, F. Volckaert, y J. Calderón. 2002. Supervivencia diferencial de familias de *Litopenaeus vannamei* desafiadas con el virus de la mancha blanca. El Mundo Acuícola 8(1):25-28.

Quispe, M. 2002. Algunos avances en el policultivo de langostino y tilapia roja como estrategia de convivencia con el virus de la mancha blanca. Acuacultura del Ecuador 45:28-32.

Rakoy, J., y A. McGinty. 1989. Pond culture of tilapia. Southern Regional Aquaculture Center N° 280, Agricultural Extension Services, Texas A & M University System, EE.UU.

Regueira, E. 2001. Patrones espaciales y temporales de la producción camaronera en el Golfo de Guayaquil. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Rodríguez, J., F. Echavarría, C. Molina, S. Sonnenholzner, A. Arias, J. Apolo, y J. Calderón. 2003. El efecto combinado de una precría en hipertermia e inmunoestimulación. Una alternativa para incrementar la producción de cultivos semi-intensivos en condiciones de WSSV. El Mundo Acuícola 9(1):9-11.

Rouse, D., G.O. El Naggar, y M.A. Mulla. 1987. Effects of stocking size and density of tilapia on Macrobrachium rosenbergii in polyculture. Journal of the World Aquaculture Society 18(2):57-60.

Samocha, T., y A. Lawrence. 1997. Shrimp Farms´ Effluent Waters, Environmental Impact and Potential Treatment Methods. Shrimp Mariculture Research Center, Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M University System, EE.UU.

Sangamaheswaran, A., y M. Jeyaseelan. 2001. White Spot Viral Disease in Penaeid shrimp – A Review. Naga, The ICLARM Quarterly. 24:16-22.

Shelton, J.L., y T.R. Murphy. 1989. Aquatic Weed Management, Control Methods. Southern Regional Aquaculture Center, Publication No.360. Oklahoma, EE.UU.

Sonnenholzner, S., y C.E. Boyd. 2000. Chemical and physical properties of shrimp pond bottom soils in Ecuador. Journal of the World Aquaculture Society 31(3):358-375.

Sonnenholzner, S., L. Massaut, y C.E. Boyd. 2002a. Ecuador study shows wild postlarvae use down. Global Aquaculture Advocate October 2002:56-57.

Sonnenholzner, S., J. Rodríguez, F. Pérez, I. Betancourt, F. Echeverría, y J. Calderón. 2002b. Supervivencia y respuesta inmune de camarones juveniles *L. vannamei* desafiados por vía oral a WSSV a diferentes temperaturas. El Mundo Acuícola 8(1):50-55.

Sonnenholzner, S., J. Rodríguez, y J. Calderón. 2002c. Cultivos experimentales de camarón en invernaderos. El Mundo Acuícola 8(2):4-10.

Soto, M. A. y J.M. Lotz. 2001. Epidemiological parameters of white spot syndrome virus infections in *Litopenaeus vannamei* and *L. setiferus*. Journal of Invertebrate Pathology 78:9-15.

Teichert-Coddington, D.R., y R. Rodríguez. 1995. Semi-intensive commercial grow-out of *Penaeus vannamei* fed diets containing differing levels of crude protein during wet and dry seasons in Honduras. Journal of the World Aquaculture Society 26(1):72-79.

Tian, X., D. Li, S. Dong, X. Yan, Z. Qi, G. Liu, y J. Lu. 2001. An experimental study on closed-polyculture of penaeid shrimp with tilapia and constricted tagelus. Aquaculture 202:57-71.

Tookwinas, S., y P. Songsangjinda. 1999. Water quality and phytoplankton communities in intensive shrimp culture ponds in Krabaen Bay, Eastern Thailand. Journal of the World Aquaculture Society 30(1):36-45.

Torrans, L., y F. Lowell. 1987. Effects of blue tilapia/channel catfish polyculture on production, food conversion, water quality and channel catfish off-flavor. Proceedings of the Arkansas Academy of Science 41:82-86.

Turker H., A. G. Eversole y D. E. Brune. 2003. Effect of temperature and phytoplancton concentration on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) filtration rate. Aquaculture Research 34:453-459.

Vargas, F., y G. Yepiz. 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. Aquaculture 191:13-21.

Vidal, O.M., C.B. Granja, F. Aranguren, J.A. Brock, y M. Salazar. 2001. A profound effect of hyperthermia on survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles infected with White Spot Syndrome Virus. Journal of the Word Aquaculture Society 32(4):364-372.

Vinyard, G.L., R.W. Drenner, M. Gophen, U. Pollingher, D.L. Winkelman, y K.D. Hambright. 1988. An experimental study of the plankton community impacts of two omnivorous filter-feeding cichlids, *Tilapia galilaea* and *Tilapia aurea*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 45(4):685-690.

Wang, J., D. Li, S. Dong, K. Wang, y X. Tian. 1998. Experimental studies on polyculture in closed shrimp ponds. I. Intensive polyculture of Chinese shrimp (*Penaeus chinensis*) with tilapia hybrids. Aquaculture 163:11-27.

Wang, Y., Y. Cui, Y. Yang, y F. Cai. 2000. Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mosambicus* x *O. niloticus*, reared in seawater. Aquaculture 189:101-108.

Watanabe, W., J. Clark, J. Dunham, R. Wicklund, y B. Olla. 1990. Culture of Florida red tilapia in marine cages: the effect of stocking density and dietary protein on growth. Paginás 183-198. *En* H. Egna y C.E. Boyd (editores), Dynamics of Pond Aquaculture, CRC Press, Florida, EE.UU.

Wu, J.L., A. Namikoshi, T. Nishizawa, K. Mushiake, K. Teruya, y K. Muroga. 2001. Effects of shrimp density on trasmission of penaeid acute viremia in *Penaeus japonicus* by cannibalism and the waterborne route. Diseases of Aquatic Organisms 47:129-135.

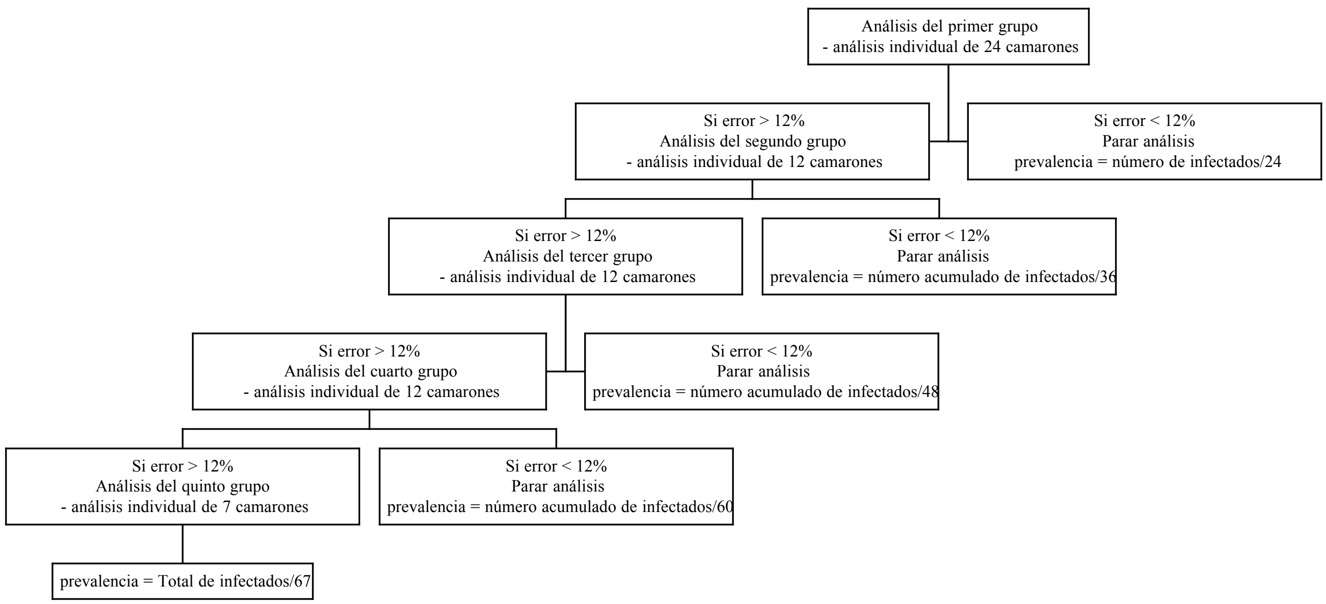
Yi, Y., y K. Fitzsimmons. 2002a. Survey study of tilapia-shrimp polyculture in Thailand. Tenth Work Plan, New Aquaculture Systems/New Species Research 3 (10NSR3A), Pathum Thani, Tailandia.

Yi, Y., y K. Fitzsimmons. 2002b. Stocking densities for tilapia-shrimp polyculture in Thailand. Tenth Work Plan, New Aquaculture Systems/New Species Research 3B (10NSR3B), Pathum Thani, Tailandia.

Yokoyama, H., J. Higano, K. Adachi, Y. Ishihi, Y. Yamada, y P. Pichitkul. 2002. Evaluation of shrimp polyculture system in Thailand based on stable carbon and nitrogen isotope ratios. Fisheries Science 68:745-750.

ANEXOS

ANEXO I: Diagrama del protocolo para estimar prevalencia en una muestra de n = 67 animales. Los camarones (*Penaeus vannamei*) fueron analizados individualmente para la detección de WSSV según la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).



Estimación de prevalencia: Un total de 67 camarones fue el tamaño de muestra (n) necesario para estimar la prevalencia de WSSV en poblaciones con tamaño aproximado de 3800 y 9400 camarones, con un 95% de confianza y error (δ) del 12%, asumiendo una prevalencia estimada para WSSV del 50%. La muestra (67 camarones) fue dividida en un grupo de 24 camarones, tres grupos de 12 camarones y un grupo de 7 camarones. El error se calcula por la sustitución del resultado de prevalencia calculado, y el número de camarones analizados en la siguiente formula: $\delta = 1{,}96\sqrt{\frac{\text{prevalencia} * (1 - \text{prevalencia})}{\text{n}}}$.