



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

**“Efecto del uso de diferentes fuentes y concentración de
materia orgánica sobre poblaciones meiobentónicas con
énfasis en Nematoda”**

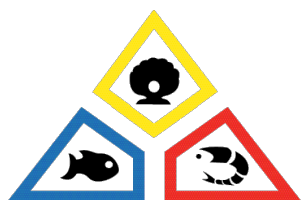
Tesis de Grado
Previa a la obtención del título de:

MAGISTER EN CIENCIAS

Presentada por:
María Elena Sócola Sánchez

Guayaquil – Ecuador
2003

TESIS ELABORADA CON EL SOPORTE DE:



FUNDACIÓN CENAIM-ESPOL



COOPERACIÓN TÉCNICA BELGA



**UNIVERSIDAD DE GANTE
BÉLGICA**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE LOVAINA – BÉLGICA**

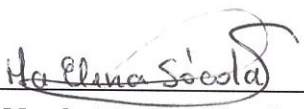
VITA

María Elena Sócola Sánchez, nació el 23 de Diciembre de 1965 en la ciudad de Zaruma, Provincia de El Oro; hija de José Timoteo Sócola y Raquel Sánchez. Se graduó de Bióloga en la Escuela de Biología-Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, en Agosto de 1990. Trabajó durante 7 años en el Laboratorio de Larvas de Camarón “Palmieri S.A.” en San Pablo-Península de Santa Elena. Además fue colaboradora en proyectos en el Instituto Oceanográfico de la Armada en tres ocasiones. María Elena se casó en 1994 con Wilson Salinas, en Octubre de 1995 nació su hija Stephanie y en Febrero de 1999 su hijo Kevin. En Septiembre del 2001 fue aceptada en el Programa de Maestría en Acuicultura Marina de la Escuela Superior Politécnica del Litoral y auspiciada por la Cooperación Técnica Belga.

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.”

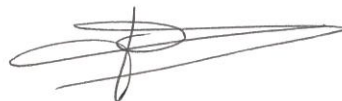
(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).



María Elena Sócola Sánchez

TRIBUNAL DE TESIS

Eduardo Cervantes, Ing.
Presidente del Tribunal



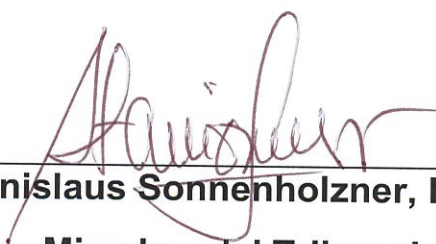
Magda Vincx, Ph.D.
Director de Tesis



Ma. Herminia Cornejo, M.Sc.
Co-Director de Tesis



Jorge Calderón, Ph.D.
Miembro del Tribunal



Stanislaus Sonnenholzner, Ph.D.
Miembro del Tribunal

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme estar aquí.

A mi esposo y mis hijos, por su esfuerzo y el apoyo que me dieron para que pueda culminar mi carrera.

A mis padres, por su cariño abnegado que siempre me han dado.

A mis hermanos y a toda mi familia, que me ayudaron en el cuidado de mis hijos y por confiar en mí.

A Laurence Massaut Ph.D., por darme la oportunidad de ser incluida en el Programa de Maestría, por su apoyo constante en transcurso de los dos años de estudios.

A Magda Vincx Ph.D., por su valiosos conocimientos compartidos e ideas para la culminación de la tesis.

A María Herminia Cornejo M.Sc., por su profesional dirección para la realización de esta tesis, su constante apoyo y por su amistad. Una excelente persona.

A Stanilaus Sonnenhozlner Ph.D., por su valiosa colaboración en el desarrollo de esta tesis.

A Bonny Bayot M.Sc., quien siempre estuvo dispuesta a ayudar y colaborar.

A todos los profesores del Programa de Maestría, tanto de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, como de la Fundación CENAIM-ESPOL.

A la Dra. Vanesa Riofrío, por su colaboración en el entrenamiento y ayuda durante el análisis de muestras en el Análisis Ambiental Químico.

A mis compañeros de estudio Marita Monserrate, Mervin Guevara, María Elena Quevedo, María Fernanda Calderón, Galo Solano, Robin Casalla, Yuri Espinosa, René Rodríguez, William Gualteros, y Martha Maldonado (que también fue como mi compañera de promoción), por el gran apoyo que me brindaron, gracias por siempre.

DEDICATORIA

A mi esposo Wilson, por su amor, apoyo y paciencia durante estos dos años y a mis hijos Stephanie y Kevin, quienes fueron mi luz y mi fuerza para seguir adelante.

A mis padres y hermanos

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS.....	xi
RESUMEN	xii
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1. BENTOS	5
2.1.1. Meiobentos	5
2.1.1.1. Generalidades.....	5
2.1.1.2. Nematoda.....	7
2.1.1.2.1.Consideraciones ambientales	9
2.1.1.2.2. Variables de Manejo.....	14
3. MATERIALES Y METODOS	18
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL:	18
3.2. MUESTREO Y ANALISIS	20
3.2.1. Variables ambientales	21
3.2.2. Muestreo de meiobentos	21
3.2.2.1. Procesamiento de muestras de meiobentos	22
3.2.2.2. Aislamiento y conteo de nematodos	22
3.2.2.3. Preparación de placas	23
3.2.2.4 Identificación de nemátodos.....	23
3.3. CULTIVO DE CIANOBACTERIAS.....	23
3.4. ANALISIS ESTADISTICO.....	24

4. RESULTADOS.....	25
4.1. VARIABLES AMBIENTALES	25
4.2. MEIOFAUNA	27
4.2.1. Nematoda	27
4.2.1.1. Géneros de Nematoda	30
4.2.1.2. Clasificación sistemática de los géneros identificados	31
4.2.1.2. Clasificación de los géneros por su tipo de alimentación	32
4.2.1.3. Estructura de la población	33
5. DISCUSIÓN	36
6. CONCLUSIONES	41
7. RECOMENDACIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXO 1	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Distribución de los tratamientos en los 12 tanques experimentales.	19
Figura 2:	Variables ambientales a través del tiempo. a) Temperatura (promedio de los 4 tratamientos), b) Salinidad, c) Concentración de oxígeno, d) pH en suelo.....	25
Figura 3:	Composición total de la meiofauna en los 4 tratamientos.....	27
Figura 4:	Densidad de nemátodos por tratamiento. Barras verticales indican desviación estándar	28
Figura 5:	Porcentaje de la composición total de los géneros de Nematoda. Otros=cabezas de nematodos no identificados.	30
Figura 6:	Porcentaje total de los tipos de alimentación encontrados en este estudio (según Wieser,1953).....	33
Figura 7:	Porcentaje de estadios en cada uno de los tratamientos.	34
Figura 8:	Variación temporal de la estructura poblacional del género <i>Terschellingia</i>	34

LISTA DE TABLAS

Tabla 1:	Rangos de clasificación de granulometría (Buchanan, 1984 ¹ ; Calles, 2001 ²)......	10
Tabla 2:	Resultados para cada uno de los puntos: A, B, C, D y E que fueron aplicados en el cálculo para la determinación de materia orgánica en los tratamientos. A=Materia orgánica adicionada (g). B=Cantidad (g) de fuente adicionada en el caso de balanceado y melaza. C=Porcentaje de humedad de cada una de las fuentes. D=Porcentaje de materia orgánica de las fuentes. E=Cantidad de sedimento de cada tanque (Kg).....	19
Tabla 3:	Promedios del porcentaje de materia orgánica ($\pm$ desviación estándar) por día de muestreo en los cuatro tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el tiempo.....	26
Tabla 4:	Tabla de ANOVA de Medidas Repetidas para materia orgánica con sus respectivos valores <i>p</i>	27
Tabla 5:	Densidad de nemátodos (ind/10cm ²) durante el muestreo en los cuatro tratamientos. Medias $\pm$ desviación estándar.	29
Tabla 6:	Porcentaje de la composición de los géneros de Nematoda por tratamientos. Otros=cabezas de organismos no identificados.....	30
Tabla 7:	Tabla de contingencia para los géneros poco abundantes.....	32
Tabla 8:	Distribución de los géneros de nemátodos de acuerdo a su tipo de alimentación	32
Tabla 9:	Composición de los tipos de alimentación por tratamiento (Wieser, 1993).	33
Tabla 10:	Estructura poblacional de nemátodos en los cuatro tratamientos.....	35

RESUMEN

Se evaluó el efecto de diferentes fuentes y concentración de materia orgánica sobre comunidades meiobentónicas con énfasis en el grupo Nematoda. Se aplicaron tres fuentes de materia orgánica: cianobacterias, 2,8 g de materia orgánica/100 g de suelo que corresponde a 300 litros de cultivo, balanceado y melaza, 0,0001g de materia orgánica/100 g de suelo, que corresponden a 15 y 10 Kg/Ha, respectivamente. El experimento se lo realizó en 12 tanques rectangulares de PVC de 500 litros, con una área aproximada de 6720 cm² (96 x 70 cm), ubicados en los exteriores de CENAIM, San Pedro, Provincia del Guayas-Ecuador, durante 27 días, con 4 tratamientos y tres réplicas cada uno. Se registraron las variables ambientales como temperatura, salinidad, pH, granulometría, materia orgánica y la abundancia espacio-temporal de la comunidad de Nematoda. Se utilizaron las técnicas de homogeneidad de varianzas de Barlett y la de Kolmogorov-Smirnov para normalidad, posterior a lo cual se procedió a un análisis de Medidas Repetidas para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95 %. Las variables ambientales de temperatura, salinidad, oxígeno, pH, granulometría y materia orgánica, no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre tratamientos, aunque la salinidad se incrementó hasta 48.6 g/L hacia el final del experimento. Se encontraron 3 grupos taxonómicos a nivel del meiobentos, siendo el grupo dominante Nematoda con 97,3%, seguido de Polychaeta con 2,6 % y Copepoda con 0,1 %. Considerando únicamente el grupo Nematoda en el análisis no se encontraron diferencias significativas en las comunidades de Nematoda entre los tratamientos. Se identificaron 6 géneros de Nematoda, sobresaliendo *Terschellingia*, (97,3 %), género que posee una alta capacidad de adaptación a condiciones ambientales extremas (en este estudio a salinidades entre 35,5 y 46,8 g/L). En el análisis de

los géneros poco abundantes (Tabla de contingencia) existió diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para *Gomphonema* en el tratamiento melaza y *Theristus* en los tratamientos cianobacterias y balanceado. Se observaron tres tipos de alimentación: 1A, alimentadores depositívoros selectivos (grupo dominante), con el género *Terschellingia*, seguido del tipo 1B, alimentadores depositívoros no selectivos donde se encuentran *Theristus*, *Aff. Theristus* y *Parodontophora* y finalmente el tipo 2A, alimentadores de células u organismos que crecen sobre un sustrato, perteneciendo a este grupo *Gomphonema* y *Spilophorella*. La población presentó el 36,6 % de juveniles, 26,4 % de hembras y 37 % de machos, sin diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos.

Se concluye que no existe efecto entre aplicar y no aplicar fuentes de Carbono en las dosis utilizadas.

1. INTRODUCCION

El camarón permanece como uno de los crustáceos más populares y de más alto valor en el mercado mundial (Otwell *et al.*, 2001). Por esta razón la principal preocupación de la industria camaronera es incrementar su producción a través de un buen manejo, obtener una más alta sobrevivencia y mayor biomasa/Ha..

En el Ecuador se emplean tres métodos para el cultivo del camarón: extensivo, semi-intensivo e intensivo (Regueira, 2001), para los cuales se emplean diferentes niveles de fertilización y/o estrategias de alimentación. La adición de alimento y fertilizante, se hace necesario sobre todo en altas densidades de siembra (intensivo), puesto que el alimento natural en estas condiciones de cultivo es insuficiente (Rubright *et al.* 1981). Fox (2001) menciona que los camaroneros deben manejar los estanques como un ecosistema y adicionar fertilizantes que maximicen los beneficios de los alimentos naturales y manufacturados, sean éstos orgánicos o inorgánicos. Entre los fertilizantes inorgánicos que mayormente se usan están: urea, nitrato de sodio, nitrato de amonio, DAP (Di amonio fosfato) y SPT (Super fosfato triple) (Boyd, 1998). Adicionalmente se añaden fuentes de materia orgánica para incrementar el desarrollo de organismos bentónicos, ya que el detritus es la principal fuente de energía para la mayoría de los sistemas bentónicos (Findlay y Tenore, 1982; Tita *et al.*, 1999). Dentro de los fertilizantes orgánicos, se considera el estiércol producido por animales superiores ya sean aves(gallinaza), ganado vacuno, caprino y también desechos industriales como polvillo de arroz, subproductos de trigo, harinas de semillas oleaginosas (algodón, soya, etc.) (Nicovita, 1997). Además el alimento balanceado no consumido también es un

aporte de material orgánico (Boyd, 1998; Janssen, 1999). Nicovita (1997) y Nicovita (1998) mencionan que en camaroneras de Ecuador y Panamá, la melaza es bastante utilizada como material orgánico inicial para la formación de células u organismos que constituyen el bentos.

Una piscina de producción es un ecosistema, en donde intervienen microorganismos como el fitoplancton (diatomeas, cianobacterias, etc.), el zooplancton (Copepoda, Cladocera, larvas de Polychaeta, entre otros), bacterias y macroorganismos como Polychaeta, Amphipoda, Crustacea como el propio camarón y los peces.

Uno de estos componentes importantes del ecosistema de piscinas de cultivo es la comunidad bentónica (macrobentos: > 1 mm, meiobentos: $1\text{ mm}-40\text{ }\mu\text{m}$ y microbentos: $< 40\text{ }\mu\text{m}$), formada principalmente por Polychaeta, Nematoda y Copepoda (Bell y Coull, 1978; Rubright, 1978 en Rubright *et al.*, 1981; Gent University, 1997). Los organismos del bentos son consumidores primarios de vital importancia; además constituyen consumidores competitivos y/o fuente natural de alimento para el camarón (Rubright, *op. cit.*; Ordner y Lawrence, 1990). Dentro del bentos la meiofauna tiene gran importancia como alimento para los niveles más altos de la trama trófica (Coull, 1988). Esta meiofauna, se desarrolla en todos los habitats: marino, estuarino, dulce-acuícola, encontrándose desde las zonas húmedas tierra adentro hasta las partes más profundas de un cuerpo de agua (Coull, 1988).

Cruz (1998), en referencia al habitat de estos organismos manifiesta que el tamaño y redondez del grano de sedimento, influye en la selección del habitat por los diferentes grupos de organismos, para adaptarse a los espacios intersticiales.

Uno de los grupos dominantes dentro del meiobentos es Nematoda, (Coull, 1988; Gent University, 1997; Janssens, 1999; Moens, *et al.*, 1999; Tita *et al.*, 2002). Estos organismos son muy activos en la regeneración y movilización de nutrientes presentes dentro o sobre el fondo y hacen que éstos, estén disponibles al ambiente.

Se ha observado que presencia de cianobacterias afecta a los sistemas de cultivo de camarón o peces, desarrollando el conocido olor a choclo y tierra (Ortiz, 2003) y la práctica común es hacer recambio de agua o aplicar sulfato de cobre (Boyd y Tucker, 1998), pero no se conoce aún el efecto de éste sobre la comunidad meiobentónica. Si este producto acaba con las microalgas en la columna es posible que también este afectando a las microalgas del suelo y en forma directa o indirecta a las comunidades de nemátodos.

Por otro lado el balanceado utilizado en la piscina no es consumido en su totalidad por el camarón, parte de este queda en el sedimento y se asume es incorporado a éste por las bacterias y otros microorganismos, poco se conoce como afecta a otros niveles de trama trófica. Además, se aplican productos directamente al suelo como es el caso de la melaza, que también puede afectar de alguna forma a los organismos que en él se desarrollan, dependiendo, obviamente de las dosis aplicadas.

Puesto que se asume que el uso de estas fuentes orgánicas (cianobacterias, balanceado y melaza) afectan la productividad natural, sea positiva o negativamente. Al desarrollar esta tesis se pretende determinar el efecto de las mismas sobre la comunidad meiobentónica; haciendo énfasis en el grupo Nematoda, considerado como un indicador de cambios en las condiciones ambientales (Vincx y Heip, 1996). Este tipo de investigaciones se considera relevante no sólo por el conocimiento ecológico que ello implica, sino que éste a su vez permitiría saber si la dosis que en la práctica se consideran son las adecuadas para mantener una “buena” calidad del suelo, pueden tener una base real-científica y al mismo tiempo si sería necesaria la aplicación de dosis superiores o inferiores. Por otro lado los resultados permitirían a posteriori una evaluación técnico-científica-económica sobre estas prácticas de manejo actualmente utilizadas en los sistemas de cultivo.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. BENTOS

Los organismos bentónicos marinos, están presentes en todo tipo de sedimentos desde fondos blandos hasta fondos rocosos, desde zonas costeras hasta zonas abisales. Se los ha clasificado de diversas formas, de acuerdo a su posición con respecto al sustrato: Epibentos: donde se encuentran principalmente peces y algunos crustáceos; hiperbentos: compuesto principalmente por mysidáceos, anfípodos y larvas del epibentos; endobentos que comprende a poliquetos, nemátodos, etc., y que viven dentro del sedimento. Otros investigadores basan su clasificación de acuerdo al tamaño y los clasifican en: macrobentos (>1 mm): formado principalmente por poliquetos, moluscos y crustáceos; meiobentos (1 mm–40–38 μ m): compuesto por nemátodos, copépodos y algunos anfípodos y el microbentos (< 40 μ m): formado por bacterias y organismos unicelulares (Gent University, 1997).

2.1.1. Meiobentos

2.1.1.1. Generalidades

El término Meiobentos fué utilizado por primera vez por Maré en el año de 1942, e incluye a aquellos organismos que pasan los tamices de 1 mm, pero que son retenidos en tamices de 42 μ m (Coull, 1988; Giere, 1993). Actualmente los meiobentólogos marinos han sugerido tamices de 31 μ m, para retener a los organismos más pequeños de la meiofauna, principalmente nemátodos (Giere, *op. cit.*). Meiobentos, deriva del griego “meios” que significa más pequeño, más pequeño que la macrofauna pero más grande que la microfauna, son móviles, aunque también existen organismos que son hpto-sésiles (organismos que

están unidos a un sustrato, pero que pueden desprenderse de éste y cambiar lentamente su posición) (Giere, *op.cit.*).

Los grupos típicos pertenecientes al meiobentos son Nematoda, Copepoda, Turbellaria y pequeños Polychaeta (Gent University, 1997). Otros organismos raramente encontrados son Oligochaeta, Kinorhynchia, Tardigrada, Ostracoda y Gastrochichia (Gent University, *op. cit.*; Brown y McLachlan, 1990).

Los nemátodos son el grupo dominante y representa 50 a 90 % del total de la comunidad meiobentónica (Coull, 1988; Relexans *et al.*, 1996; Gent University, 1997; Bouvi Schrijvers *et al.*, 1997; Cruz, 1998; Janssens, 1999; Moens, *et al.*, 1999; Tita, *et al.*, 1999; Mazzola *et al.*, 2000; Soltwedel, 2000; Neira *et al.*, 2001; Velandier y Mocogni, 2001; Schratzberger *et al.*, 2002; Tita *et al.*, 2002). Los copépodos son el segundo grupo más importante del meiobentos, seguido de Polychaeta (Gent University, 1997; Coull, 1988, 1988; Cruz, 1998). Estos organismos son considerados importantes bioindicadores Giere (1993), Montagna y Li (1998). Moens y Vincx (1998) manifiestan que cultivos de nemátodos, bajo condiciones controladas, constituyen una buena fuente de información sobre cambios ambientales como temperatura, salinidad y alimento; comentan que estos factores pueden estar influenciando su ciclo de vida. Por otro lado Tita *et al.* (1999) manifiestan que en zonas expuestas por un largo tiempo a amplias variaciones de temperatura y salinidad durante la marea baja producen en este grupo adaptaciones fisiológicas específicas (requeridas para vivir en ambientes específicos).

2.1.1.2. Nematoda

Los nemátodos son el grupo más abundante de los Metazoos (50-90 %) y están presentes en todo lugar donde la vida se pueda dar. Se encuentran en todos tipos de suelos, desde las regiones polares a los trópicos, son más abundantes en los sedimentos de lagos, ríos y los océanos (Warwick, 1984; Coull, 1988, 1988; Giere, 1993), desde playas secas arenosas a playas arenosas con fuertes oleajes hasta profundidades abisales. Muchos de ellos no necesitan que su hábitat sea rico en oxígeno (Coull, *op. cit.*).

Existen nemátodos que son parásitos de distintos huéspedes (Crustacea, Mollusca, Peces, etc.) y aquellos de vida libre. Estos últimos, generalmente son pequeños, miden menos de 2,5 mm de longitud después que alcanzaron su completo desarrollo (Warwick, 1984). Su cuerpo tiene una forma alargada cilíndrica, que se estrecha en ambos extremos. Su cuerpo alargado está adaptado para la locomoción ondulatoria, característica de los nemátodos (Warwick, 1984). Gambi *et al.* (2003) mencionan que a una profundidad de 7.800 m, el 80 % de los nemátodos miden menos de 1,5 mm. de longitud, mientras que a profundidades batiales (mayores a 8000 m) solamente entre el 50 y 70 % de los nemátodos se encuentra en este rango de tamaño.

Sin embargo, a pesar de la abundancia de los nemátodos marinos, la información sobre su ciclo de vida es muy escasa. En muestras de campo es imposible determinar el número de generaciones por año y el número de huevos, por lo tanto los estudios para observar reproducción se los hace a nivel de laboratorio. Así, se determinó que los tiempos de generación de la meiofauna varían ampliamente (Gray, 1981). Los ecologistas han

distinguido a los nemátodos en dos grupos basados en los dos tipos de estrategia de reproducción: r y k. La estrategia r se refiere a aquellos organismos que tienen un tiempo de generación corto y alta fecundidad, los cuales aprovechan rápidamente los recursos temporales. Este es el caso del nemátodo *Rhabditis marina*, que tiene un tiempo de generación de 5 días y cada individuo produce 70 a 100 huevos. Por el contrario los estrategistas k, tienen un tiempo de generación largo, quizá uno en un año y baja fecundidad, como por ejemplo *Chromadora macrolaimoides*, nemátodo marino que tiene un tiempo de generación de 22 días, produciendo cada individuo de 9 a 11 huevos por desove (Giere, 1993).

Wieser (1953) buscando una forma de clasificar a estos organismos, los dividió en organismos con cavidad bucal sin armadura: 1A, alimentadores depositívoros selectivos (bacterias), sin cavidad bucal o un fino túbulo; 1B, alimentadores depositívoros no selectivos, con cavidad bucal grande pero sin dientes; 2A, alimentadores de células u organismos que crecen sobre un sustrato, con cavidad bucal con dientes raspadores; 2B, omnívoros/predadores, con cavidad bucal con mandíbulas grandes. Moens y Vincx (1997) realizaron una nueva clasificación sobre la alimentación de los nemátodos estableciendo 6 grupos: 1) alimentadores de bacterias; 2) alimentadores de ciliados; 3) alimentadores depositívoros; 4) alimentadores de células u organismos que crecen sobre un sustrato; 5) predadores facultativos y 6) predadores.

Aproximadamente 4000 a 5000 especies de nemátodos no parásitos han sido descritos, pero se estima que aproximadamente 20000 aún son desconocidos (Warwick, 1984).

2.1.1.2.1.Consideraciones ambientales

La mayoría de fauna meiobentónica, ha sido encontrada entre los 2 y 5 cm de profundidad de sedimento (Coull, 1988; Gent University, 1997). Tita *et al.* (1999) indican que dentro del grupo Nematoda, los organismos más grandes dominan la superficie del sedimento entre los 2 y 5 cm y los organismos más pequeños debajo de los 5 cm de profundidad.

La estructura del sedimento juega un papel muy importante en la ecología del meiobentos (Giere *et al.*, 1988), ya que de acuerdo a su tamaño la mayoría de los organismos meiobentónicos viven en fondos suaves, y su abundancia depende principalmente del tamaño de su cuerpo y del espacio entre los granos de sedimento y del tamaño del grano (Tabla 1). Estos organismos son habitantes intersticiales y/o excavadores (Gent University, 1997).

A su vez la composición del tamaño del grano de este sedimento está influenciado por numerosos factores ambientales, tales como la exposición a las mareas, corrientes, naturaleza y cantidad de materia suspendida. Estos tienen influencia en la permeabilidad, oxígeno y salinidad del sedimento (Giere *et al.*, 1988).

Juario (1975) en su estudio en una Bahía de Alemania, encontró gran abundancia de meiofauna (3047 a 5261 ind/10 cm²) en sedimentos cuyo tamaño de partícula fluctuó entre 84 a 103 µm, arena muy fina (Buchanan, 1984), con un porcentaje de 23 a 26 % de arcilla. Mientras que Cook, (2000), reportó en un estudio en el Mar de Arabia una densidad media

de 2495 ind/10cm² en sedimentos con tamaño medio de partícula de 24 µm, sedimento fino, lodoso (Calles, 2001).

Tabla 1: Rangos de clasificación de granulometría (Buchanan, 1984¹; Calles, 2001²)

Sedimento	Nombre	Rango en µm
Arena ¹	Arena muy gruesa	2.000 – 1.000
	Arena gruesa	1000 - 500
	Arena mediana	500 - 250
	Arena fina	250 - 125
	Arena muy fina	125 - 62
	Lodo	< 62
Lodo ²	Sedimento grueso	62 - 32
	Sedimento fino	32 - 4
	Arcilla	< 4

La temperatura es una variable de considerable importancia dentro de los sistemas acuáticos ya que regulan los procesos químicos y biológicos como reproducción, crecimiento, migración, potencial redox, etc. (Giere, 1993; Boyd, 2001). Los organismos de la meiofauna, como ya se mencionó, viven al igual que otros zoobentos desde las zonas polares hasta zonas tropicales. Se ha observado que en la mayoría de ambientes, la temperatura no impide la presencia de la meiofauna, pero si puede tener un impacto sobre ésta, particularmente en zonas expuestas a las mareas cambiando las comunidades (Giere, *op. cit.*). Boyd (2001) menciona que el calor penetra por la superficie del agua y calienta la capa superficial más rápido que la del fondo. Estos cambios de temperatura inducen el control sobre el tipo y abundancia de alimento, niveles anóxicos en la profundidad, bioperturbación y alteración del medio. Moens y Vincx (1999) en un experimento realizado con dos especies de nemátodos, (*Diplolaimelloides meyli* y *Pellioiditis marina*) con temperaturas de 5 a 30 °C, observaron mortalidades insignificantes aunque no mencionan porcentajes. Con

temperaturas de 35 °C observaron el 20 % de mortalidad de huevos y 100 % de mortalidad de juveniles. Estos investigadores determinaron en su estudio que la temperatura óptima fue de 25 °C. Neira *et al.* (2001) en un estudio realizado en Perú, encontraron una alta densidad de meiofauna (440 a 1517 ind/10 cm²) en temperaturas de 5,18 a 10,15 °C a una profundidad de 305 y 830 m respectivamente.

La salinidad del sedimento, también está relacionada con la permeabilidad, fuertes lluvias alteran la salinidad superficial; como consecuencia de la evaporación se producen cambios a condiciones hipersalinas (Giere, 1993). En suelos normalmente saturados (arcillo-arenosos) y a una profundidad de 2 a 5 cm la salinidad no cambia. Todo lo contrario sucede cuando los sedimentos son altamente drenados (suelos arenosos), la salinidad cambia hasta una profundidad de 30 cm, provocando un ambiente poco favorable para la meiofauna (Giere *op. cit.*). En el experimento realizado por Moens y Vincx (1999) mencionado anteriormente, se determinaron rangos de salinidad entre 5 y 35 g/L, en los cuales la reproducción no fue afectada, pero si en la salinidad de 40 g/L. Janssen, en un estudio realizado en el Golfo de Guayaquil, reportó una densidad media de 1390 ind/ 10cm², en salinidades de 0,5 a 20 g/L. Mientras que Neyt (2003) en su estudio sobre el efecto de fertilizantes aplicados al agua sobre comunidades meiobentónicas realizado con sedimento de una camaronera de Chongón, provincia del Guayas, encontró una densidad media de 1090 ind/10cm², en salinidades de 36,6 a 53,2 g/L.

Por otro lado, Giere (1993) menciona que el pH en las poblaciones meiobentónicas que habitan en zonas marinas o estuarinas, no tiene mayor importancia ya que la alcalinidad del

agua de mar actúa como “buffer” y, como consecuencia no existen fluctuaciones de pH. Por el contrario en zonas dulce-acuícolas, valores extremos de pH pueden observarse en sedimentos fangosos y aguas calcificadas. En estos ambientes, la contaminación química y orgánica por lo general causa drásticas fluctuaciones en el nivel de pH. Sin embargo, debido a la capacidad buffer del sedimento, las fluctuaciones de pH son amortiguadas (Giere *op. cit.*).

Janssens (1999) en su estudio en el Golfo de Guayaquil encontró una densidad de 2297 ind/10 cm² con pH de 6 a 9. Moens y Vincx (1999) en su experimento con los nemátodos *Diplolaimelloides meyli* y *Pellioiditis marina*, determinaron un pH óptimo de 7 a 8.

Giere (1993) también comenta, que el oxígeno es un factor predominante entre las variables abióticas que regulan el tipo de habitat y la presencia de la meiofauna. Además menciona que la mayoría de los organismos meiobentónicos, habitan sobre grandes superficies y requieren una demanda alta de oxígeno, a excepción de ciertas especies especializadas que pueden vivir en condiciones anóxicas a profundidades mayores de 300 m (nemátodos del género *Desmoscolex*, *Tricoma* y *Cobbionema*) (Giere, 1993) o *Terschellingia*, *Spilophorella*, que son capaces de vivir bajo condiciones extremas de oxígeno y temperatura (Vincx, Universidad de Gante, Bélgica, comunicación personal). El nemátodo *Terschellingia* puede desarrollar grandes poblaciones en ambientes anóxicos y sulfídicos (Giere, 1993). Neira *et al.* (2001) en un estudio realizado en Callao, Perú, encontró la mayor abundancia de nemátodos (440 a 1515 ind/cm²) en la más baja concentración de oxígeno (0.02 mg/L), a una profundidad de 305 m; éstas han sido consideradas como altas densidades, y según los

investigadores se debe a que la hipoxia reduce las densidades de los depredadores y/o competidores. Existe poca información sobre la cantidad de oxígeno disuelto que consumen las comunidades bénticas, sólo hay evidencia de que la respiración de estas comunidades puede consumir de 2 a 3 mg/L de oxígeno disuelto en 24 horas (Boyd, 2001).

Otro de los factores importantes para el desarrollo de una comunidad bentónica es el nivel de materia orgánica en el suelo y agua. Ésta es una mezcla de restos de plantas y animales en varios estados de descomposición, heces de los organismos, etc. los mismos que son sintetizados química y biológicamente por bacterias. Esta materia orgánica se acumula en la interfase agua-suelo, donde la actividad microbiana es alta (Boyd, 2001).

La principal fuente de residuos orgánicos en piscinas de acuicultura, son algas planctónicas e invertebrados, además el alimento no ingerido, abonos y heces de animales acuáticos (Boyd, 1995). La degradación de esta materia orgánica en el sedimento reduce la concentración de oxígeno y provoca la disminución de sustancias inorgánicas (Boyd, 2001). La reacción del hierro en el agua indica si la capa de fango es anaeróbica. En ausencia de oxígeno el hierro férrico (Fe^{3+}) se convierte en hierro ferroso (Fe^{2+}), de color oscuro, por lo tanto, la superficie negra del fondo indica condiciones anaeróbicas; una superficie café o de color natural del suelo, sugiere la presencia de oxígeno (Boyd, 2001). Los residuos orgánicos provenientes de algas planctónicas e invertebrados poseen bajas concentraciones de carbohidratos y alto contenido de proteínas. Por el contrario el estiércol y las heces tienen bajo contenido nutricional (Boyd, 1995). En piscinas camaroneras el detritus producido en forma natural es complementado por la acumulación de alimento no ingerido (Rubright *et*

al., 1981; Janssen, 1999). Janssens, (*op. cit.*), observó que la materia orgánica de las piscinas de camarón tenía su origen en las partículas de alimento no asimilado, producción primaria de algas, además de heces y mudas de camarón; los cuales representan factores importantes para el habitat de organismos meiobentónicos (Giere, 1993). Findlay y Tenore (1982); Tita *et al.* (1999) mencionan que para promover su desarrollo es necesario añadir materia orgánica, considerando que el detritus ambiental es la principal fuente de energía para la mayoría de los sistemas bentónicos.

2.1.1.2.2. Variables de Manejo

Entre las fuentes de materia orgánica más comunes, se encuentran el balanceado, la melaza y las cianobacterias. El balanceado, es un fertilizante orgánico indirecto en los sistemas de cultivo, cuando no actúa como alimento de los organismos de cultivo sean peces o camarones, sus remanentes no consumidos se transforman en fuente de materia orgánica al depositarse en el suelo (Rubright *et al.*, 1981; Boyd, 1995).

La melaza, es una fuente de carbono orgánico utilizada en los cultivos de camarón, lo cual es beneficioso para aumentar la relación C:N, incrementar sustrato para el crecimiento bacterial y de esta manera reducir la concentración de nitrógeno inorgánico, que provoca la deteriorización del agua y metabolitos tóxicos causantes de mortalidades en los sistemas de cultivo (Avnimelech, 1999). Además el carbono orgánico aportado por la melaza es requerido por las bacterias y algas, en la constitución de sus membranas y organelos. A su vez las bacterias y algas constituyen el eslabón inicial de la cadena trófica de alimento

natural en un estanque, ya sea del plancton en la columna de agua y del bentos en el suelo (Nicovita, 1998).

En el caso de las cianobacterias, éstas son procariotes fotosintetizadoras que tienen la habilidad de sintetizar clorofila a; también se caracterizan por formar el pigmento ficobilina, la ficocianina (Whitton y Potts, 2000). Frecuentemente, son verde-azuladas (verde desde la clorofila, azul de la ficocianina), aunque ciertas especies contienen ficoeritrina que le da el color rojo, es decir, varían de color de acuerdo al pigmento dominante en el citoplasma (Sevrin-Reyssac y Pletikosic, 1990). Las cianobacterias no son utilizadas como fuente de producción primaria, como ocurre con otras células, ya que son pobres oxigenadoras del sistema de cultivo y ciertas especies producen “metabolitos olorosos” que también le dan sabores desagradables a los animales en cultivo. Éstas excretan una variedad de productos orgánicos, tales como aminoácidos, péptidos, carbohidratos y pequeñas cantidades de lipopolisacáridos (Paerl y Tucker, 1995; Boyd y Tucker, 1998). Además pueden producir cianotoxinas y ser causantes de mortalidades en piscinas acuícolas (Sevrin-Reyssac y Pletikosic *op. cit.*). Para prevenir el efecto nocivo de las mismas los acuicultores generalmente emplean dosis frecuentes y bajas de sulfato de cobre y el uso de peces planctívoros en policultivo (Boyd y Tucker, *op. cit.*). Stal (2000) menciona que las cianobacterias enriquecen la capa microbiana con materia orgánica. Para que esta materia orgánica sea disponible para otros organismos, debe producirse la muerte y posterior lisis de las cianobacterias.

Otra de las fuentes de materia orgánica en el sistema de cultivo es la fertilización, sea orgánica o inorgánica cuyo principal objetivo, es el de aumentar la producción del alimento y por consiguiente incrementar la producción ya sea, de peces o camarones (Tacon, 1989; Romano y Caraballo, 1996). Tanto el fitoplancton, zooplancton y el meiobentos constituyen fuente de alimento para camarones (Treece, 2001).

Los fertilizantes inorgánicos son añadidos a los sistemas de cultivo para estimular la producción primaria (crecimiento de plantas), y por consiguiente servir como base de la vía alimenticia de los organismos bajo cultivo (Boyd y Tucker, 1998). Los fertilizantes inorgánicos contienen uno de los siguientes nutrientes primarios NPK (Nitrógeno, Fósforo, Potasio) (Pillay, 1997). Los fertilizantes a base de nitrógeno o nitrogenados, se disuelven fácilmente en agua y, por lo tanto quedan disponibles rápidamente para la producción orgánica en los estanques (Pillay, *op. cit.*). Por otro lado los fertilizantes a base de fósforo, no son muy solubles en agua y son absorbidos por el suelo o el sedimento del fondo y a menudo se convierten en compuestos insolubles, que se vuelven útiles cuando algunos microorganismos lo convierten en formas asimilables (Pillay, 1997).

Los fertilizantes orgánicos son un medio eficiente y económico para incrementar la producción en estanques acuícolas. Mejoran la estructura del suelo y su fertilidad, particularmente en estanques de construcción reciente (Pillay, 1997). Treece (2001) manifiesta que los fertilizantes orgánicos pueden ser beneficiosos en la preparación de estanques, ya que contienen una población microbiana y sustrato detrítico para su desarrollo. Por otro lado Boyd y Tucker, (1998) manifiestan que el material orgánico que se añade a las

piscinas, provee alimento para los animales de 3 maneras: 1) la materia orgánica puede ser consumida directamente por los animales; 2) el material orgánico provee una fuente de nutrientes y materia orgánica para la vía alimenticia detrital heterotrófica, y 3) este material orgánico provee nutrientes minerales que estimulan la producción primaria para la vía alimenticia autotrófica.

Con la aplicación de fertilizantes en el ecosistema de un estanque, se pretende reforzar y modificar la vía alimenticia en la cual cada nivel depende del suministro de alimento en los niveles inferiores (Pillay, 1997).

Los sistemas acuáticos están formados por dos vías alimenticias: una vía alimenticia de pastoreo autotrófica, que depende de la luz, y una vía alimenticia de detritus o heterotrófica, no dependiente de la luz (Tacon, 1989; Arias *et al.*, 1995). La vía alimenticia autotrófica, sintetizadora de la materia orgánica, depende de la fijación de la energía solar por las plantas verdes durante la fotosíntesis, con producción de nueva materia orgánica a partir de dióxido de carbono y agua, y el consecuente consumo de estas plantas por animales de pastoreo (Tacon *op. cit.*). La vía alimenticia heterotrófica o consumidores de materia orgánica, depende de la degradación microbiana de la materia orgánica no viva o detritus, a nueva biomasa microbiana, con la liberación de nutrientes inorgánicos y dióxido de carbono. Esta nueva biomasa microbial, sirve como alimento a los protozoarios, nemátodos y otros animales bentónicos (Tacon, *op cit.*).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL:

El experimento tuvo lugar en 12 tanques rectangulares de PVC de 500 litros ubicados en los exteriores del edificio de CENAIM, San Pedro, Provincia del Guayas – Ecuador, desde el 3 al 30 de marzo del 2003. Con sedimento traído originalmente de una camaronera en el Golfo de Guayaquil (Fincacua) y del área de San Pedro de Manglaralto. El sedimento se lo colocó en los 12 tanques de 500 litros de capacidad y una área aproximada de 6720 cm² (96 x 70 cm) y permaneció con agua de mar durante dos meses, con el propósito de que se desarrollen los organismos del meiobentos. Posteriormente se homogenizó el sedimento entre todos los tanques dos semanas antes de empezar el experimento, con la finalidad de que la meiofauna inicial sea similar entre los tratamientos y se establezca dentro de los tanques. Se colocó a cada tanque 10 cm (de profundidad) de sedimento y se llenó una columna de aproximadamente 50 cm de agua de mar sin filtrar.

El diseño fué completamente aleatorio con 4 tratamientos (control, cianobacterias, balanceado y melaza) y tres réplicas por tratamiento. Los tratamientos se aplicaron en dos ocasiones con un intervalo de 8 días (días 6 y 14). La aplicación de las cianobacterias se hizo por recambio total del volumen de agua del tanque (300 litros de cultivo), al cual se le adicionó posteriormente 5 ppm de sulfato de cobre para colapsar las cianobacterias (modificado de Boyd, 1998), la cantidad final adicionada de materia orgánica fué 2,8 g de materia orgánica/100 g de suelo. El balanceado fue aplicado a razón de 15 Kg/Ha. La melaza se aplicó a razón de 10 Kg/Ha, tanto balanceado y melaza correspondieron a 0,0001g

de materia orgánica/100 g de suelo. El cálculo para determinar el cantidad de materia orgánica adicionada en cada tratamiento es el siguiente:

$$\text{M.O. (g)} = \frac{\text{Cant. fuente adic.} \times \% \text{ de hum. de fuente} \times \% \text{ de MO fuente}}{\frac{50}{E}}$$

A = $\frac{B \times C \times D}{E}$

En la Fig.1, se puede observar la distribución de los tratamientos. En la Tabla 2 se detalla la aplicación de cada tratamiento y el porcentaje final de materia orgánica en cada tratamiento en base a la cantidad de sedimento de los tanques.

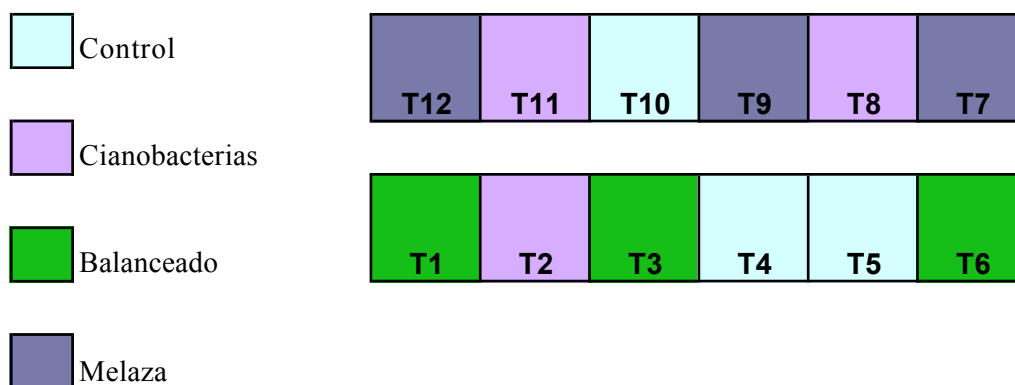


Figura 1. Distribución de los tratamientos en los 12 tanques experimentales.

Tabla 2: Resultados para cada uno de los puntos: A, B, C, D y E que fueron aplicados en el cálculo para la determinación de materia orgánica en los tratamientos. A=Materia orgánica adicionada (g). B=Cantidad (g) de fuente adicionada en el caso de balanceado y melaza. C=Porcentaje de humedad de cada una de las fuentes. D=Porcentaje de materia orgánica de las fuentes. E=Cantidad de sedimento de cada tanque (Kg).

	A	B	C	D	E
TRATAMIENTOS	M.O adicion (g)	Cant. Fuente adic	Humedad (%)	MO (%)	Can. Sed. (Kg)
Balanceado	0,0001	0.6 g	9	83	50
Melaza	0,0001	0.4 g	15	77	

Para determinar la cantidad de materia orgánica adicionada con cianobacterias, la cantidad obtenida en el procedimiento 3.2.1, se relacionó para los 300 litros de cultivo adicionados al tanque y luego igual que balanceado y melaza, se relacionó para 50 Kg de suelo, el cual dió 2,8 g de materia orgánica/100 g de suelo.

Las concentraciones de balanceado y melaza que se utilizaron, se obtuvieron de las prácticas de aplicación de aditivos de las camaroneras Opumarsa (Palmar), Fincacua (Chongón) y Veronesi (Chongón). Las cianobacterias se dosificaron basándose en una concentración de un cultivo natural en un estanque acuícola, que pudiera ser reemplazada por otra especie de microalga. Las cianobacterias tuvieron una concentración de 266.836 org/mL

El experimento tuvo una duración de 1 mes (27 días), durante el cual la aireación permaneció constante, se completó nivel con agua de mar sin filtrar, antes de la aplicación de los tratamientos, excepto a los tanques con tratamiento de cianobacterias.

3.2. MUESTREO Y ANALISIS

El análisis biológico se realizó en el Laboratorio de Análisis Ambiental Biológico de CENAIM. Las variables ambientales se midieron directamente, con excepción del pH que se midió en el Laboratorio de Análisis Ambiental Químico (CENAIM) junto con las variables químicas.

3.2.1. Variables ambientales

Las variables de temperatura, salinidad y concentración de oxígeno disuelto se midieron todos los días con el YSI 85 (medidor de campo). Mientras que para los análisis de pH en el suelo, granulometría, materia orgánica, se tomó una muestra de sedimento por tanque (12 tanques,) en los días 0, 5, 6, 9, 13, 14, 17, 21 y 27 del experimento, con un nucleador (core) (5 cm de diámetro) área de $19.635 \text{ cm}^2 (\pi * r^2)$ y a una profundidad de 5 cm. El análisis de granulometría se lo realizó en el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Ghent. La determinación de pH se llevó a cabo según la técnica por electrodo de Boyd (1995) modificada, donde generalmente se usa 20 g de suelo, pero en este caso se utilizó 6 gramos, con una relación de 6:6 (6 gramos de suelo y 6 mL de agua destilada) basados en la experiencia del Laboratorio de Calidad de Agua y Suelos del CENAIM. La lectura de pH se realizó con un equipo TOA pH METER HM-5S. Finalmente el nivel de materia orgánica tanto para las fuentes de los tratamientos, como para el sedimento, se midió mediante la técnica de Boyd (1995), modificada solamente para cianobacterias, ya que para la misma, según experiencia se pesó 80 g (mL) del cultivo. La cantidad de materia orgánica se determinó por diferencia de pesos entre la muestra seca a 105 °C y la muestra calcinada a 350 °C.

3.2.2. Muestreo de meiobentos

Las muestras de sedimento para análisis biológico se tomaron con la misma frecuencia que se indica en el punto 3.2.1 y se utilizó el mismo sistema de colecta que para pH y granulometría. Posteriormente, las muestras se colocaron en frascos plásticos de 500 ml y

fueron preservadas con formol al 4%, neutralizado con tetraborato de sodio, para luego ser procesadas según técnica de (Vincx y Heip, 1996 modificada).

3.2.2.1. Procesamiento de muestras de meiobentos

Las muestras fueron pasadas por tamices de 1mm, para retener a la macrofauna y tamices de 38 μ m, para retener la meiofauna, lavadas varias veces con agua corriente. El residuo obtenido del tamiz, se centrifugó usando Ludox 40HS a 2500 rpm por 10 minutos, proceso que se repitió en tres ocasiones. El sobrenadante (donde se encuentra la meiofauna) se lo recogió en los tamices de 38 μ m, se lavó el ludox de la muestra y se la colocó en frascos de 25 mL con formol al 4 %, neutralizado con tetraborato de sodio. Las muestras fueron teñidas con Rosa de Bengala; lo que facilita el posterior aislamiento de los organismos.

3.2.2.2. Aislamiento y conteo de nemátodos

Luego de procesadas las muestras, se contaron y aislaron los organismos de la meiofauna, utilizando una cámara Bogorov (originalmente utilizada para zooplancton) y un estereomicroscopio SZ-ST OLYMPUS. Los organismos fueron contabilizados a nivel de grupo a excepción de Nematoda en el que se llegó hasta género. De cada muestra se aislaron 150 nemátodos en cajas petri de 3 cm de diámetro, en una solución de DGI (99 % formol y 1% de glicerol). Se colocó la caja petri con tapa dentro de un recipiente con etanol, y se llevó el recipiente a la estufa a 36 °C por 12 horas. Se le adicionó la segunda solución de DGII (etanol al 95 % y glicerol al 5 %) y se dejó sin tapa otras 12 horas, pasado este tiempo se adiciona la tercera solución de DGIII (50 % etanol y 50 % glicerol), por 24

horas más. Los nemátodos quedaron en glicerol, se tapó la caja petri y se la guardó en el desecador hasta el montaje de las placas.

3.2.2.3. Preparación de placas

Se emplearon placas previamente lavadas en alcohol etanol (95 %). Se realizaron 2 anillos de parafina en el porta-objetos. En el centro de cada anillo se adicionó una gota pequeña de glicerol, sobre la cual se colocó de 6 a 10 nemátodos de acuerdo a su tamaño. Se colocó el cubre-objetos y se llevó a calentamiento en una plancha térmica ERMA INC, a 80 °C, (técnica modificada), con el objeto de fijarlo. A cada placa se le colocó los datos de la muestra origen.

3.2.2.4 Identificación de nemátodos

La identificación de nemátodos, como ya se mencionó se la realizó a nivel de género, para lo cual se utilizó un microscopio BH-2 OLYMPUS, utilizando la magnificación de 4 a 100x, siguiendo las claves de Platt y Warwick (1988); Lorenzen, (1994); Platt y Warwick (1998).

3.3. CULTIVO DE CIANOBACTERIAS

Tres muestras de 500 mL de agua de la camaronera de la estación experimental de Palmar (CENAIM), piscinas 2, 3 y 4, fueron tomadas para aislamiento de cianobacterias (piscina 4 tuvo presencia de cianobacterias). Se utilizó la técnica de Alvarez (1994) modificada. El aislamiento se realizó por selectividad del medio; para lo cual se tomaron 250 mL de muestra y 250 mL de medio de cultivo BG-11 esterilizado (Anexo 1) para cianobacterias,

hasta obtener un cultivo puro. Las cianobacterias aisladas fueron *Oscillatoria* (95%) y *Spirulina* (5%).

3.4. ANALISIS ESTADISTICO

La homogeneidad de varianzas se determinó con la prueba de Bartlett (Rao, 1998), y para observar normalidad de las poblaciones se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov (Rao *op.cit*). El modelo adecuado para analizar los datos luego de determinar homogeneidad de varianzas fue el de Medidas Repetidas, el mismo que permite determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos y entre sujetos en la misma unidad experimental en el tiempo (Rao, *op.cit*, Zar, 1999). Cuando se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la Prueba de Tukey para encontrar la diferencia entre medias (Rao, 1998; Zar, 1999). Para observar diferencias entre los géneros poco abundantes, se trabajó con una Tabla de Contingencia 4 x 4, cuya hipótesis nula es probar si los géneros encontrados, son independientes de los tratamientos aplicados (Zar, 1999). Un nivel de confianza de 95% se empleó en las pruebas estadísticas.

4. RESULTADOS

4.1. VARIABLES AMBIENTALES

La temperatura promedio para todos los tratamientos, durante el experimento estuvo en $28,1 \pm 0,7$ °C, observándose un ligero descenso al final del experimento (Fig. 2a). La salinidad fluctuó entre 35,5 y 46,8 g/L con una media de $40,3 \pm 3,0$ g/L. En el tratamiento 2, la salinidad cambió después de la aplicación de las cianobacterias (días 5 y 16), ya que se la realizó por recambio total del agua (Fig. 2b).

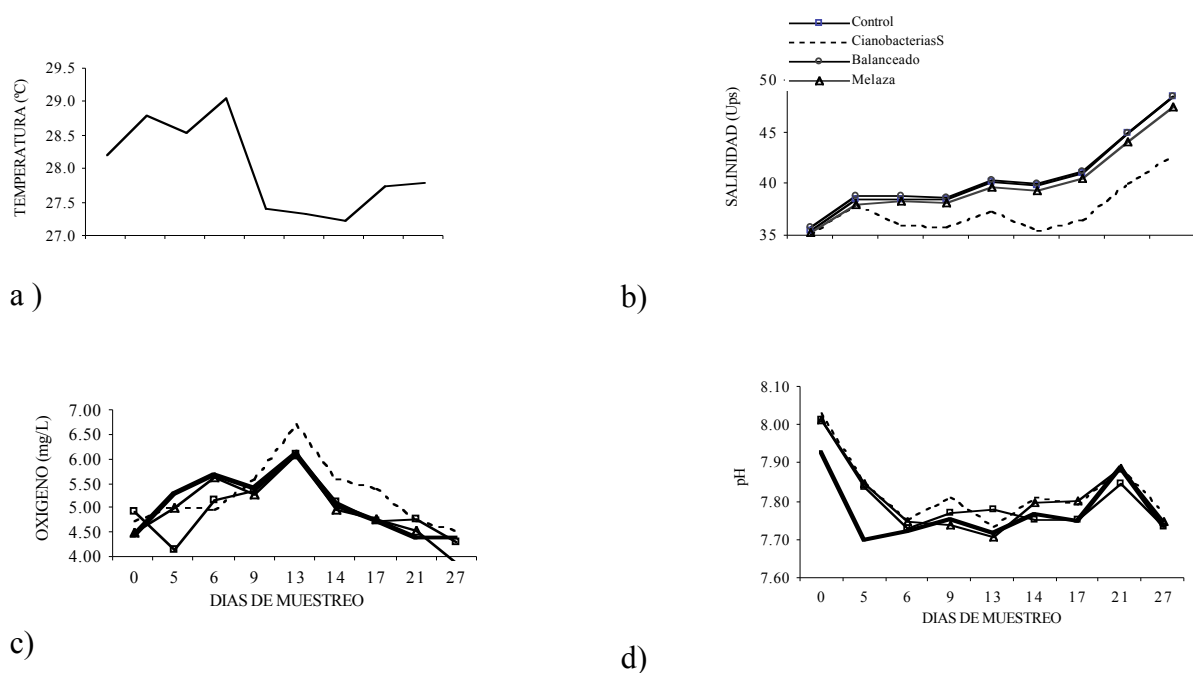


Figura 2: Variables ambientales a través del tiempo. a) Temperatura (promedio de los 4 tratamientos), b) Salinidad, c) Concentración de oxígeno, d) pH en suelo

Las lecturas de los niveles promedio de oxígeno fluctuaron entre 4,3 - 8,1 mg/L, con una media de $5,3 \pm 0,8$ mg/L (Fig. 2c). El pH del suelo fluctuó entre 7,7–8,0 con una media de $7,8 \pm 0,08$ (Fig. 2d). No hubo diferencias significativas entre los tratamientos entre estas variables ambientales ($p \geq 0,05$).

En el análisis granulométrico se determinó que el tamaño medio del grano fluctuó entre 37 a 52 μm . De acuerdo a este tamaño de grano el sedimento se clasificó entre sedimento fino a grueso, según Calles, (2001) suelo fango arenoso.

El contenido de materia orgánica en el sedimento no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p \geq 0,05$). Sin embargo, si se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el tiempo (Tabla 3).

Tabla 3: Promedios del porcentaje de materia orgánica ($\pm$ desviación estándar) por día de muestreo en los cuatro tratamientos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el tiempo.

Día 0	Día 5	Día 6	Día 9	Día 13	Día 14	Día 17	Día 21	Día 27
3,0 $\pm$ 0,3	3,2 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 0,5
abc	bc	a	ab	a	a	a	abc	c

Con respecto a la interacción tratamiento-tiempo, donde se observó diferencias significativas ($p \leq 0,05$), el mayor número de interacciones se observó entre el día 27 del tratamiento control con los días 6–9–13–14 y 21 del tratamiento cianobacterias. Con el tratamiento balanceado, hubo diferencias significativas, en los días 13–14 y 17; mientras que con el tratamiento melaza se observó interacción en los días 6–17 y 21. En la Tabla 4 se puede observar los valor p significativos con respecto al tiempo y la interacción.

Tabla 4: Tabla de ANOVA de Medidas Repetidas para materia orgánica con sus respectivos valores p .

Efecto	df Efecto	MS Efecto	F-ratio	Prob
Tratamiento	3	0.4302	1.7198	0.2398931
Tiempo	8	1.0321	8.6054	0.0000001
Interacción	24	0.2313	1.9289	0.0194833

4.2. MEIOFAUNA

Se encontraron 3 grupos de organismos meiobentónicos: Nematoda, Polychaeta y Copepoda.

El grupo meiobentónico dominante fué Nematoda con 97,3 %, seguido de Polychaeta con 2,6 % y Copepoda con 0,1 % (Fig. 3)

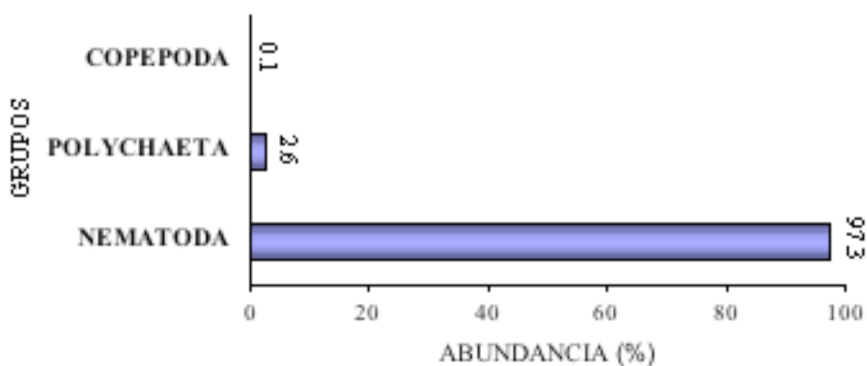


Figura 3: Composición total de la meiofauna en los 4 tratamientos.

4.2.1. Nematoda

Se obtuvieron un total de 41.871 nemátodos que corresponden a una densidad de 388 ± 211 ind/10cm², en los 4 tratamientos durante todo el muestreo. En el análisis de medidas repetidas para la composición del número total de nemátodos, no se encontró diferencias

significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos y en el tiempo, aunque se observó gran variabilidad en cada uno de los tratamientos, debido a que se tomó una sólo muestra por tanque (Fig. 4, Tabla 5). Sin embargo, numéricamente se observó la mayor densidad de organismos en el tratamiento control. Con respecto al tiempo el mayor incremento de organismos se observó en los días 5 y 14 del tratamiento control. Mientras que en el tratamiento cianobacterias, la mayor cantidad de organismos se observó los días 6 y 14. Sin embargo, en el tratamiento balanceado el mayor incremento se observó en el día 9 (un día después de la aplicación del tratamiento) y en el tratamiento melaza los días 13 y 27.

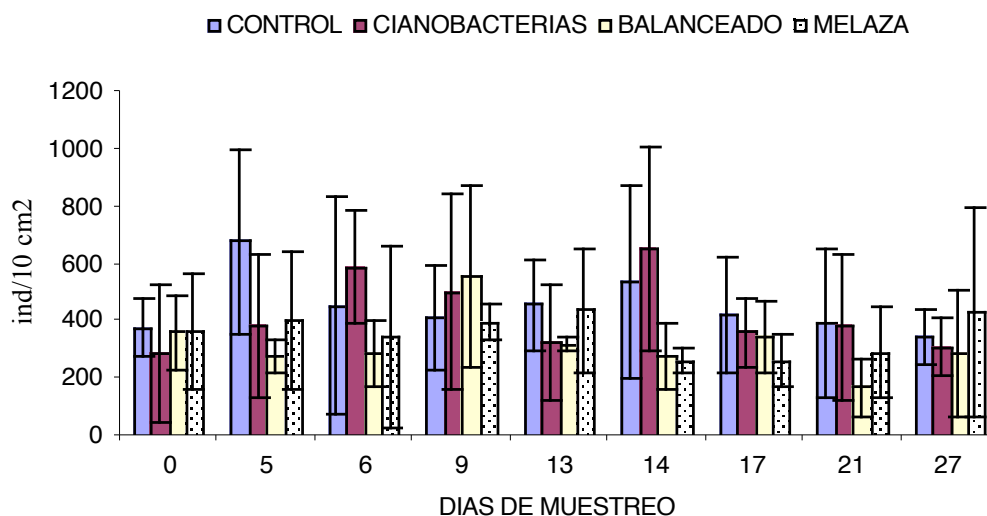


Figura 4: Densidad de nemátodos por tratamiento. Barras verticales indican desviación estándar.

Tabla 5: Densidad de nemátodos (ind/10cm²) durante el muestreo en los cuatro tratamientos. Medias $\pm$ desviación estándar.

Tratamiento	Día 0	Día 5	Día 6	Día 9	Día 13	Día 14	Día 17	Día 21	Día 27	Total
T1	379 $\pm$ 99	690 $\pm$ 322	455 $\pm$ 380	415 $\pm$ 184	458 $\pm$ 160	536 $\pm$ 338	423 $\pm$ 202	394 $\pm$ 258	345 $\pm$ 95	454 $\pm$ 101
T2	288 $\pm$ 236	385 $\pm$ 253	590 $\pm$ 195	502 $\pm$ 343	329 $\pm$ 202	652 $\pm$ 359	361 $\pm$ 120	380 $\pm$ 254	312 $\pm$ 97	422 $\pm$ 129
T3	360 $\pm$ 129	277 $\pm$ 59	290 $\pm$ 111	559 $\pm$ 318	320 $\pm$ 24	279 $\pm$ 119	345 $\pm$ 126	187 $\pm$ 69	290 $\pm$ 220	321 $\pm$ 104
T4	361 $\pm$ 201	401 $\pm$ 239	346 $\pm$ 313	395 $\pm$ 61	437 $\pm$ 220	262 $\pm$ 42	260 $\pm$ 92	289 $\pm$ 158	433 $\pm$ 361	354 $\pm$ 69

4.2.1.1. Géneros de Nematoda

Se identificaron 6 géneros de Nematoda, en todo el experimento dominando en cada tratamiento el género *Terschellingia* con un porcentaje promedio de 97,3 %, cada uno de los géneros restantes no alcanzan el 1 %. (Fig.5, Tabla 6)

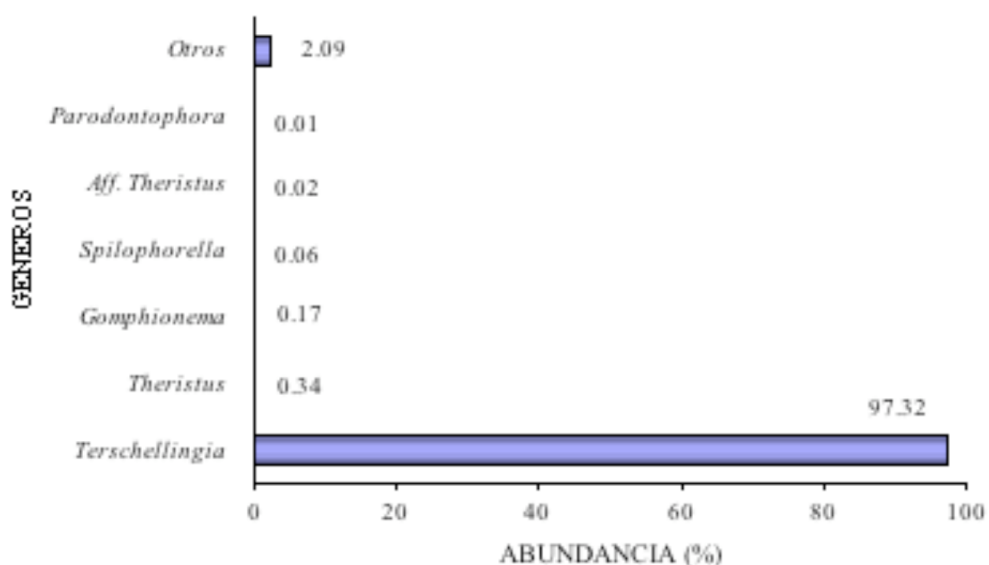


Figura 5: Porcentaje de la composición total de los géneros de Nematoda. Otros=cabezas de nemátodos no identificados.

Tabla 6: Porcentaje de la composición de los géneros de Nematoda por tratamientos.

Otros=cabezas de organismos no identificados

Géneros	Control (%)	Cianobacterias (%)	Balanceado (%)	Melaza (%)
<i>Terschellingia</i>	96,93	98,05	96,52	97,78
<i>Theristus</i>	0,05	0,55	0,60	0,15
<i>Gomphionema</i>	0,15	0,11	0,09	0,33
<i>Spilophorella</i>	0,07	0,06	0,07	0,02
<i>Aff Theristus</i>	0,00	0,08	0,00	0,00
<i>Paradontophora</i>	0,00	0,00	0,02	0,00
Otros	2,81	1,14	2,69	1,72

4.2.1.2. Clasificación sistemática de los géneros identificados

De acuerdo a Platt y Warwick (1988); Lorenzen, (1994), los géneros encontrados tienen la siguiente clasificación sistemática:

Phylum Nematoda

Clase Adenophorea

Subclase Chromadoria

Orden Chromadorida

Suborden Chromadorina

Superfamilia Chromadoroidea

Familia Chromadoridae

Spilophorella Filipjev, 1917

Familia Ethmolaimidae

Gomphonema, Wieser and Hopper, 1966

Orden Monhysterida

Superfamilia Monhysteroidea

Familia Xyalidae

Theristus Bastian, 1865

Superfamilia Siphonolaimoidea

Familia Linhomoeidae

Terschellingia De man, 1888

Familia Axonolaimidae

Parodontophora Timm, 1963

En la tabla de contingencia para los géneros en menor proporción, se observó que existieron diferencias significativas con $p \leq 0,05$ para *Gomphonema* en el tratamiento melaza y para *Theristus* en los tratamientos cianobacterias y balanceado. Para esta tabla no se tomó en cuenta al género *Terschellingia* debido a su elevada abundancia (Tabla 7).

Tabla 7: Tabla de contingencia para los géneros poco abundantes.

Géneros	Control (ind/10cm ²)	Cianobacterias (ind/10cm ²)	Balanceado (ind/10cm ²)	Melaza (ind/10cm ²)
<i>Theristus</i>	6	63	52	14
<i>Gomphonema</i>	18	13	8	33
<i>Spilophorella</i>	8	7	6	2
<i>Aff. Theristus</i>	0	9	0	0
<i>Parodontophora</i>	0	2	0	0

4.2.1.2. Clasificación de los géneros por su tipo de alimentación

Se encontraron tres tipos de grupos de acuerdo a su tipo de alimentación: 1A, 1B, 2A, siendo el predominante en todos los tratamientos el tipo 1A (alimentadores depositívoros selectivos), con 99,4 %, que corresponde al género *Terschellingia* (Tabla 8) seguido del tipo 1B (alimentadores depositívoros no selectivo) con 0,4 %, que corresponde a los géneros *Theristus*, *Parodontophora* y *Aff. Theristus* y el más bajo porcentaje fué para el tipo 2A (alimentadores del epistrato) con 0,2 %, para los géneros *Gomphonema* y *Spilophorella*. (Fig. 6). En la tabla 9 se observa el porcentaje de los tipos de alimentación por tratamiento.

Tabla 8: Distribución de los géneros de nemátodos de acuerdo a su tipo de alimentación

Géneros	Tipo de alimentación
<i>Terschellingia</i>	1A
<i>Theristus</i>	1B
<i>Aff. Theristus</i>	1B
<i>Parodontophora</i>	1B
<i>Gomphonema</i>	2A
<i>Spilophorella</i>	2A

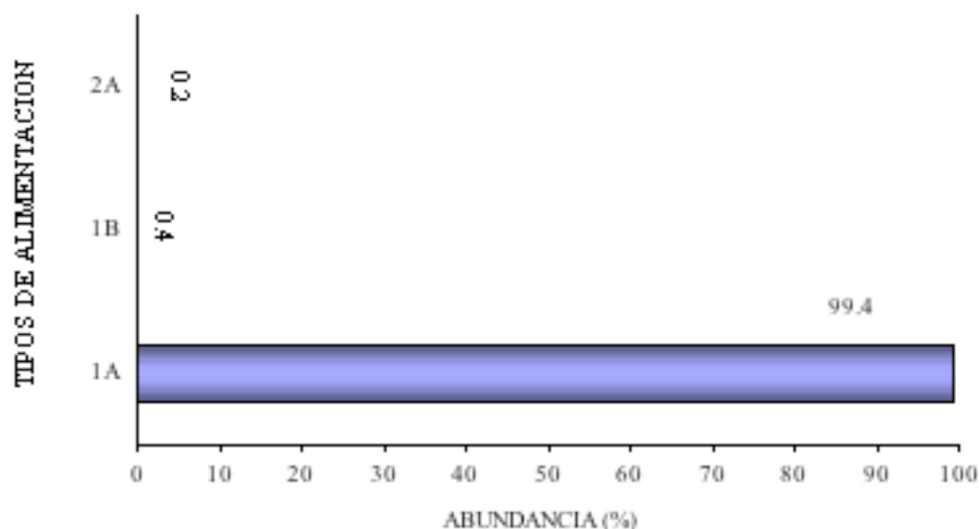


Figura 6: Porcentaje total de los tipos de alimentación encontrados en este estudio (según Wieser, 1953).

Tabla 9: Composición de los tipos de alimentación por tratamiento (Wieser, 1993).

Tipos de Alimentación	Control (%)	Cianobacterias (%)	Balanceado (%)	Melaza (%)
1A	99,7	99,2	99,2	99,5
1B	0,1	0,6	0,6	0,2
2A	0,2	0,2	0,2	0,3

4.2.1.3. Estructura de la población

El promedio total de la abundancia de juveniles de nemátodos en los 4 tratamientos fué de 36,6 %, el de las hembras 26,4 %, y de los machos 37 %. No se observaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en los 4 tratamientos (Fig. 7). Además, tampoco se registró variación de sexos en el tiempo (Fig. 8). En la Tabla 10 se puede observar la abundancia de la estructura poblacional de cada uno de los géneros en los 4 tratamientos.

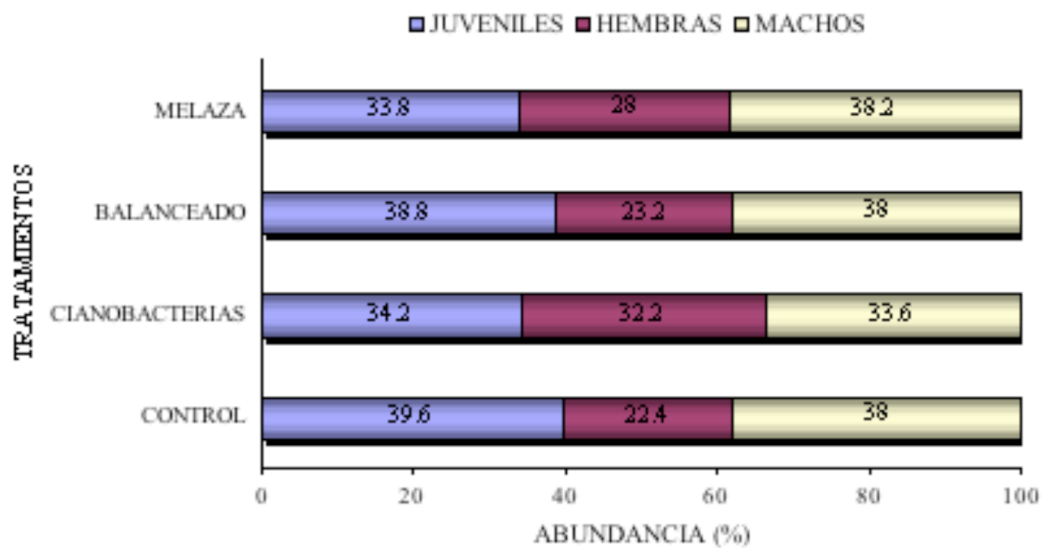


Figura 7: Porcentaje de estadios en cada uno de los tratamientos.

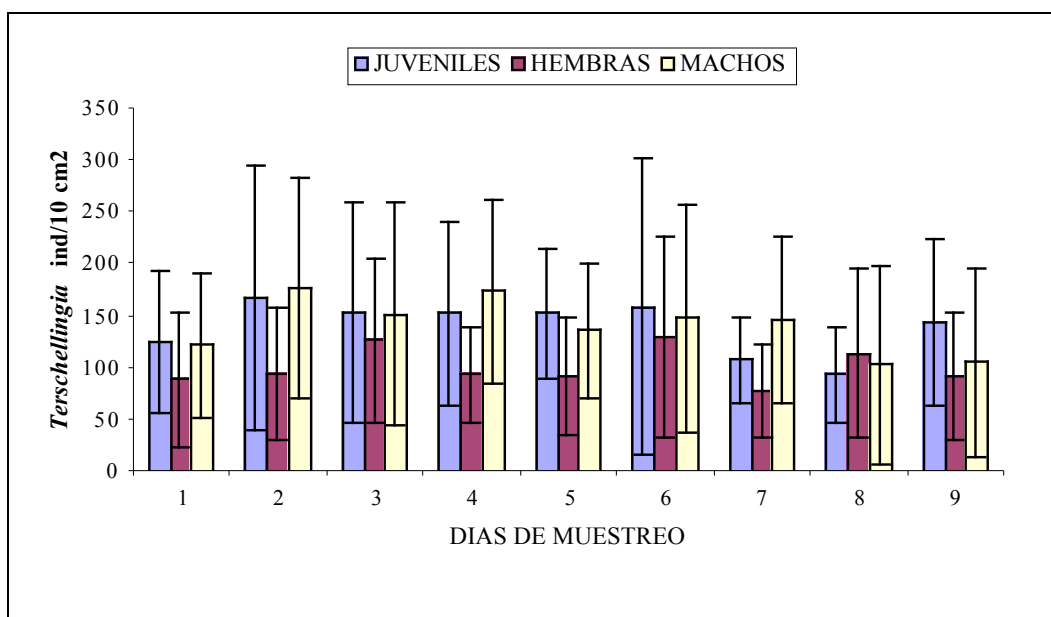


Figura 8: Variación temporal de la estructura poblacional del género *Terschellingia*.

Tabla 10: Estructura poblacional de nemátodos en los cuatro tratamientos

Géneros	Número de individuos		
	Juveniles	Hembras	Machos
<i>Terschellingia</i>	15.095	10.945	15.182
<i>Theristus</i>	27	28	47
<i>Gomphonema</i>	28	11	25
<i>Spilophorella</i>	14	4	7
<i>Aff. Theristus</i>	9	0	0
<i>Parodontophora</i>	2	0	0

5. DISCUSIÓN

De los grupos taxonómicos de meiofauna encontrados durante el desarrollo del estudio, el grupo Nematoda fué el más abundante (97 % del total de la meiofauna), como ya lo han reportado para ambientes de cultivo Stijn (2003), Neyt (2003) y para ambiente naturales (Coull, 1988; Gent University, 1997; Janssens, 1999; Moens, *et al.*, 1999; Tita *et al.*, 2002). Rubright *et al.* (1981) observaron en un estudio de camarón con fertilizantes inorgánicos (úrea pelletizada y super fosfato triple) que la meiofauna estuvo compuesta de 82% de poliquetos y copépodos, y el 18 % de nemátodos, estos últimos depredados por el camarón. Este investigador no menciona el sistema de muestreo, por lo que es probable que la abundancia de Polychaeta registrada haya estado asociada a una fracción de sedimento de tamaño superior a la monitoreada durante el presente estudio.

Por otro lado, Nilsson *et al.* (1993) y Martinez-Córdova *et al.* (1998) mencionan que los nemátodos son parte de la dieta de *Crangon crangon*, *Penaeus californiensis*, basados en esta información se asume que una de las causas de la alta abundancia de Nematoda registrada en este estudio se debe a la ausencia de *Penaeus vannamei*. Los Polychaeta y los Copepoda, también depredadores de nemátodos (Bouwman *et al.*, 1984; Cornejo-Rodríguez CENAIM, comunicación personal), se presentaron en porcentajes bajos, con 2,6 y 0,6 % respectivamente, por lo que no se consideraron como un factor regulador de la comunidad de Nematoda en el presente estudio.

Las variables ambientales (temperatura, salinidad, oxígeno, pH y granulometría) no influenciaron sobre el desarrollo de la meiofauna en los tratamientos estudiados.

Terschellingia fué el género dominante en el grupo de nemátodos y su densidad permaneció constante durante el experimento sugiriendo que el incremento de la salinidad registrado (35,5 a 46,6 g/L), no lo afectó. Neyt (2003) evaluó en condiciones experimentales similares, el efecto de la fertilización sobre la meiofauna de sedimentos de una camaronera de la zona de Chongón (provincia del Guayas) y encontró 4 géneros dominantes, entre los cuales *Terschellingia* representó el 44% del total de nemátodos asociados con salinidades hasta 53,2 g/L. Vincx (Universidad de Gante, Bélgica, comunicación personal) indicó que la dominancia de *Terschellingia*, se debió a que es una especie que vive en condiciones ambientales extremas.

Durante esta investigación se encontraron 6 géneros de Nematoda. Neyt registró 10 géneros de Nematoda, mientras que Janssens (1999) encontró 15 géneros en los efluentes de la camaronera de donde se extrajo el sedimento para los experimentos. Para el actual experimento se incorporó arena extraída frente al CENAIM, donde Calles (2001) registró 12 géneros de nemátodos. Es probable que las condiciones de cultivo hayan generado un ambiente poco propicio para el desarrollo de más especies o que el traslado del sedimento de un ambiente estuarino (15 g/L) a uno salino (35 g/L) haya permitido la supervivencia de aquellas especies resistentes a estos cambios de salinidad. La diferencia en diversidad de géneros encontrados en este estudio estuvieron asociadas al incremento de salinidad ($40,3 \pm 3$ g/L). Soetaert *et al.* (1999) mencionan que factores ambientales como salinidad y temperatura, explican la mayoría de las diferencias en abundancia observadas en las comunidades de nemátodos.

Se registraron proporciones similares de juveniles (36,6 %), de machos (37 %) y de hembras (26,4 %). Se asume que el incremento de salinidad registrado, no afectó su estructura poblacional. Calles (2002) reportó similares condiciones en la estación CENAIM en la costa del Ecuador, con 31 % de juveniles, 39 % de machos y 30 % de hembras. Mientras que Rabaut (2003) en un estudio realizado en una camaronera en la zona de Palmar (provincia del Guayas) registró una estructura poblacional semejante con 37.3 % de juveniles, 27.5 % de hembras y 34.5 % de machos.

No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de materia orgánica entre tratamientos, aunque en el tratamiento con cianobacterias se adicionó mayor cantidad de materia orgánica 2,8 g de materia orgánica/100 g de suelo, en comparación al tratamiento con balanceado y al tratamiento con melaza 0,0001 g de materia orgánica/100 g de suelo para cada uno. Las cianobacterias son capaces de fijar altas cantidades de nitrógeno (Paerl, 2000). Boyd (2001) reporta que los residuos orgánicos con gran cantidad de nitrógeno generalmente se descomponen más rápido, debido a que las bacterias en su proceso de descomposición de materia orgánica necesitan gran cantidad de nitrógeno. Al no encontrarse mayor cantidad de materia orgánica en los tratamientos que recibieron cianobacterias, se asume que éstas fueron degradadas por las bacterias por su alto contenido de nitrógeno. Boyd y Tucker (1998) mencionan que el balanceado está compuesto por alto porcentaje de fibras y bajo contenido de nitrógeno. A su vez la melaza es una fuente de carbón, limitante en nitrógeno (Nicovita, 1997). El bajo contenido de nitrógeno de estas fuentes impide que las bacterias puedan descomponerlas en forma rápida (Boyd y Tucker *op cit.*). La baja cantidad de materia orgánica adicionada no permitió ser detectada en los análisis.

Boyd (1998, 2001) menciona que detectar la acumulación de materia orgánica en el suelo de piscinas es difícil, debido a su descomposición y mezcla entre las capas de sedimento por procesos físicos y biológicos. Aunque no se contabilizaron los Polychaeta presentes en el macrobentos y hubo una baja representación de los mismos en el meiobentos, se asume que estos organismos típicamente excavadores, interfirieron en la distribución de materia orgánica en la columna de sedimento, como lo mencionan Brown y MacLachlan (1990) para el caso de Arenicolidae, Orbiniidae y Spionidae (géneros de esta última familia fueron registrados en el meiobentos).

Janssens (1999) reportó la presencia de 19 grupos meiobentónicos en sedimentos con salinidades de 0,5 a 20 g/L y concentraciones de materia orgánica de 1 a 5 %. En el actual estudio el porcentaje de materia orgánica fluctuó entre 2,5 y 3,2 % con la salinidad fluctuante de 35,6 a 46,6 g/L. Se asume que el menor rango de materia orgánica y la elevada salinidad afectaron la diversidad de géneros.

En un estudio realizado con tres diferentes fuentes de detritus con 3 niveles de carbón orgánico (0,015, 0,03 y 0,06 g de materia orgánica/50mL de cultivo) con agua de mar autoclavada (sin sedimento) Warwick (1987) encontró diferencias significativas en relación a la ración y el tipo de alimento. Dentro del grupo Nematoda no se observaron diferencias significativas en la abundancia entre tratamientos, debido a que en la actual investigación se utilizó el sedimento como medio de cultivo. Se asume que la presencia de sedimento permitió que una mayor abundancia de bacterias, aceleren la descomposición de la materia orgánica (Rao y Karunasagar, 200). Coull (1999) menciona que más importante que la

cantidad de alimento para la meiofauna, es la calidad del mismo. Es probable que el detritus o materia orgánica ($2,8 \pm 0,7 \%$) que se observó en el presente estudio, registró los niveles de nutrientes apropiados y necesarios para el desarrollo de las comunidades de nemátodos.

Terschellingia es un organismo depositívoro, 1A, (Wieser, 1953; Moens y Vincx, 1997), con una cavidad bucal muy pequeña. Este género está restringido a alimento particulado pequeño o materia orgánica disuelta, sedimentos finos y microflora (Janssens, 1999). Se justifica su presencia y alta abundancia en base al tipo de sedimento registrado (fango arenoso). Durante el desarrollo del experimento se observó en la columna de agua el crecimiento de diatomeas de los géneros *Amphora*, *Coscinodiscus*, *Navícula* en los tanques con el tratamiento cianobacterias. En el resto de los tratamientos dominó el género *Nitzschia*. Moens y Vincx (1997) observaron que las diatomeas son alimento importante para nemátodos. Se asume que el fitoplancton contribuyó a mantener la comunidad de nemátodos en las densidades encontradas.

6. CONCLUSIONES

1. No existieron diferencias significativas entre tratamientos (control, cianobacterias, balanceado, melaza).
2. La dosis de melaza de 10kg/Ha adaptadas en el presente estudio a tanques de 500 litros sugieren que el objetivo final de su aplicación no se cumple en los estanques de cultivo de camarón.
3. La aplicación de alimento balanceado (dos dosis) en este experimento no tuvo efecto sobre la comunidad de Nematoda.
4. Se concluye que el aumento de la biomasa de cianobacterias en la columna de agua y la concentración aplicada de sulfato de cobre, no afectan a la comunidad de Nematoda.
5. *Terschellingia* constituyó el género dominante para este ambiente (salinidad de $40,3 \pm 3,0$ g/L). Esto lo hace susceptible de ser utilizado para biomasa de cultivo.
6. La estructura poblacional se mantiene estable en el tiempo bajo estas condiciones de cultivo.
7. Otros géneros como *Theristus*, *Aff. Theristus*, *Parodontophora*, *Gomphonema* y *Spilophorella* pueden ser considerados como indicadores de condiciones favorables de ambientes óptimos, mientras que el género *Terschellingia* como bio-indicador de cambios adversos en el mismo.

7. RECOMENDACIONES

1. Dosis mayores en la aplicación de melaza, deberían ser consideradas, sin excluir el factor económico.
2. En cuanto al balanceado, en investigaciones posteriores debe considerarse el protocolo de alimentación utilizado en camaronas.
3. Se sugiere en posteriores estudios incluir al camarón en el cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez Arellano, H.G. 1994. Folleto de Algas. Capítulo III. pp: 19-27 Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil – Ecuador.
- Arias, L.M., C. Nogales de, P. Dueñas, J.A. Frías, L. Martínez, J. Mercado; F. Newmark, H. Rodríguez, L. Santos, P. Siegert, A. Vallejo, P. Daza, y M. Torres. 1995. Fundamentos de Acuicultura Marina. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, Colombia.
- Avnimelech, Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176: 227-235.
- Bell, S.S, y B. Coull C. 1978. Field evidence that shrimp predation regulates meiofauna. *Oecología* 35:141-148.
- Boletín Nicovita. 1997. Bentos como alimento natural de camarones e importancia de la fertilización orgánica 2(11):1-3.
- Bouvy, M. 1988. Contribution of the bacterial and microphytobenthic microflora in the energetic demand of the meiobenthos in a intertidal muddy sediment (Kerguelen Archipelago). *Marine Ecology* 9(2):109-122.
- Bouwman, L.A., K. Romeijn, y W. Admiraal. 1984. On the ecology of meiofauna in an organically polluted estuarine mudflat. Academic Press Inc. Londres, Inglaterra, 633-659.
- Boyd, C.E. 1995. Bottom Soil, Sediment and Pond aquaculture. Chapman y Hall, New York, EE.UU.
- Boyd, C.E., 1998a. Water Quality for Pond Aquaculture. Research and Development Series No. 43, Alabama, EE.UU.

- Boyd, C.E., y C.S. Tucker. 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publisher, Amsterdam, Holanda.
- Boyd, C.E. 2001. Water Quality a Primer. Kluwer Academic Publisher, Boston, EE.UU
- Boyd, C.E. 2001. Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. Páginas:24-25 *En* Haws, M.C. y Boyd, C.E (editores). Métodos para Mejorar la Camaronicultura en Centroamérica. Editorial- Imprenta UCA, Managua, Nicaragua.
- Brown, A.C. y A. McLachlan. 1990. Ecology of Sandy Shores. Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam, Holanda.
- Buchanan, J.B. 1984. Sediment Análisis Página 45 *En*: Holmeý McIntyre (Editores). Methods for the study of marine benthos IBP N° 16. Second Edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, EE.UU.
- Calles, A.K. 2001. Biodiversity of the Meiobenthos of Sandy Beaches in Ecuador with Emphasis on Free-living Marine Nematodes. Tesis para obtener el grado de Magíster de Ciencias en Nematología, Universidad de Gante, Bélgica.
- Cook, A., J. Lamshead, L., Hawkins, N., Mitchell, y L. Levin. 2000. Nematode abundance at the oxygen minimum zone in the Arabian Sea. *Deep-Sea Research II* 47: 75-85.
- Coull, B.C. 1988. Ecology of the marine meiofauna. Páginas 18 – 38. *En* Higgins, R. H. y Thiel, H. (Editores). Introduction to the Study of Meiofauna. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., E.E.U.U.
- Coull, B. 1999. Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats. *Australian Journal of Ecology* 24(4): 1-16.
- Cruz, M., 1998. Estudio del meiobentos en el Golfo de Guayaquil (Río Guayas, Canal Cascajal y Estero Salado) Ecuador, en agosto de 1996. *Acta Oceanográfica del Pacífico*,

- Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador (INOCAR), 9(1):177-185. Guayaquil, Ecuador.
- Findlay, S., y K. Tenore. 1982. Effect of a Free-Living Marine Nematode (*Diplolaimella chitwoodi*) on Detrital Carbon Mineralization. *Marine Ecology-Progress Series* 8:161-166.
- Fox, J., G. D. Treece, y D. Sánchez. 2001. Nutrición y manejo de alimento. Páginas:65-90. *En* Haws, M.C. y Boyd, C.E (editores). Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. Editorial- Imprenta UCA, Managua, Nicaragua.
- Moens, T. 1999. Feeding ecology of free-living estuarine nematodes. Capítulo V. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad de Ghent, Bélgica.
- Gambi, C., A. Vanreusel y R. Danovaro. 2003. Biodiversity of nematode assemblages from deep-sea sediments of the Atacama Slope and Trench (South Pacific Ocean). *Deep-Sea Research I* 50:103-117.
- Gent University 1997. The benthos of the sea. Accompanying Test to the Illustrations (slides) provided by the Marine Biology, Section of the University of Gent.
- Giere, O., A. Eleftheriou, y D.J. Murison. 1988. Abiotic factors. Páginas 61 - 78. *En* Higgins, R. P. y Thiel, H. (Editores). Introduction to the Study of Meiofauna. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., E.E.U.U.
- Giere, O. 1993. Meiobenthology. The microscopic fauna in aquatic sediments. Springer-Verlag Berlín Heidelberg. Germany.
- Gray, J. 1981. The ecology of marine sediments. An introducción to the structure and function of benthic communities. Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, Inglaterra.

- Janssens, T. 1999. Meiobenthos of the Gulf of Guayaquil. Influences of aquaculture. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología, Universidad de Gante, Bélgica.
- Juario, J.V. 1975. Nematode species composition and seasonal fluctuation of a sublittoral meiofauna community in the German Bight. Veröff. Institut Meeresforschung Bremerhaven 15:283-337.
- Lorenzen, S. 1994. The phylogenetic systematics of free living nematodes. The Ray Society Instituted Londres, Inglaterra.
- Martínez-Córdova, L.R., N. Pasten-Miranda, y R. Barraza-Guardado. 1998. Effect of fertilization on growth, survival, food conversion ratio, and production of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in earthen ponds Sonora, México. Progressive Fish-Culturist 60(2):101-108.
- Mazzola, A., S. Mirto, T. La Rosa, M. Fabiano, y R. Danovaro. 2000. Fish-farming effects on benthic community structure in coastal sediments: análisis of meiofaunal recovery. ICES Journal of Marine Science 57:1454-1461.
- Moens, T., D. Van, y M. Vincx. 1999. Linking estuarine nematodes to their suspected food. A case study from the Westerschelde Estuary (south-west Netherlands). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 79:1017-1027.
- Moens, T., y M. Vincx. 1997. Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 77:211-227.
- Moens, T., y M. Vincx. 1998. On the cultivation of free-living marine and estuarine nematodes. Universidad de Gent, Biology Department, Section Marine Biology. Belgium 52:115-139.

- Montagna, P.A., y J. Li. 1998. Modeling contaminant effects on the deposit feeding nematodes in the Gulf of México production platforms. *Ecological Modeling* 98(2-3):151-162.
- Neira, C., J. Sellanes, L.A. Levin, y W.E. Arntz. 2001. Meiofaunal distributions on the Peru margin: relationship to oxygen and matter availability. *Deep-Sea Research. Part I* 48:2453-2472.
- Neyt, K. 2003. Effect van hoeveelheid nutriënten op de fluctuaties van vrijlevende mariene nematoden: Een experimentele benadering. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología, Universidad de Gante, Bélgica.
- Nicovita, 1997. Bentos como alimento natural de camarones e importancia de la fertilización orgánica 2(11):1-3.
- Nicovita, 1998. Utilización de melaza en estanques de cultivo de camarón. *Boletín Nicovita* 3(3):1-2.
- Nilsson, P., K. Sundbäck, y B. Jonson. 1993. Effect of the brown shrimp *Crangon crangon* L. On endobenthic macrofauna, meiofauna y meiofaunal grazing rates. *Netherlands Journal of Sea Research* (1): 95-106.
- Ordner, M.T., A.L. Lawrence, y J.W Tunnell JR. 1990. Macrobenthos in earthen shrimp ponds in Southern Texas. *The Texas Journal of Science* 42 (3):273-282.
- Ortiz Burgos, J.E. 2003. Aislamiento, Identificación, y Cultivo de Cianobacterias con Potencial Toxicidad sobre Postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. Tesis para obtener el grado de Bióloga, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Otwell, S., L. Garrido, V. Garrido, y R. Benner. 2001. Buenas prácticas de acuicultura para la calidad e inocuidad del producto. Páginas:169-228 *En* Haws, M.C. y Boyd, C.E

- (editores). Métodos para Mejorar la Camaronicultura en Centroamérica. Editorial-Imprenta UCA, Managua, Nicaragua.
- Paerl, H.W., y C.S. Tucker. 1995. Ecology of Blue-Green Algae in Aquaculture Ponds. *Journal of the World Aquaculture Society* 26(2):109-130.
- Paerl, H.W. 2000. Marine plankton. Páginas: 121-148. *En* Whitton, B. y Potts, M. (Editores). *The Ecology of Cyanobacteria*. Academic Publisher Amsterdam, Holanda.
- Pillay, T.V.R. 1995. Acuicultura. Principios y prácticas. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México D.F., México
- Platt, H.M., y R.M. Warwick. 1988. Free living marine nematodes. Part III British Chromadoride. E.J. Brill/Dr. W. Backhuys New York, EE.UU.
- Rabaut, M. 2003. Temporele variabiliteit van vrijlevende mariene nematoden in kweekvijvers voor garnalen (Ecuador). Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología, Universidad de Gante, Bélgica.
- Rao. P.V. 1998. Statistical Research Methods in the Life Sciences Brooks/Cole Publishing Company. Pacific Grove, EE.UU.
- Rao, P.S.S., y I. Karunasagar. 2000. Incidence of bacteria involved in nitrogen and sulphur cycles in tropical shrimp culture ponds. *Aquaculture International* 8:463-472.
- Regueira Linares, E. 2001. Patrones Espaciales y Temporales de la Producción Camaronera en el Golfo de Guayaquil. Tesis para obtener el grado de Magíster en Ciencias, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Relexans, J.C., J. Deming, A. Dinét, J.F. Gaillard, y M. Sibuet. 1996. Sedimentary organic matter and micro-meiofauna with relation to trophic conditions in the tropical northeast Atlantic. *Deep-Sea Research I* 43(8)1343-1368.

- Romano, R., y P. Caraballo. 1996. Dinámica de la Macrofauna y Meiofauna Bentónica en estanques de cultivo de camarón *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). *Acuicultura del Ecuador* 16:36-39.
- Rubright, J. S., J.L. Harrell, H.W. Holcomb, y J.C. Parker. 1981. Responses of planktonic and benthic communities to fertilizer and feed applications in shrimp mariculture ponds. *Journal World Mariculture. Society.* 12(1):281-299.
- Schratzberger, T.A., T.A. Dinmore, y S. Jennings. 2002. Impacts of trawling on the diversity, biomass and structure of meiofauna assemblages. *Marine Biology* 140:83-93.
- Schrijvers, J., R. Schallier, J. Silence, J.P. Okondo, y M. Vincx. 1997. Interactions between epibenthos and meiobenthos in a high intertidal *Avicennia marina* mangrove forest. *Kluwer Academic Publishers. Mangroves and Salt Marshes* 1:37-154.
- Snick, S. 2003. Effect van verschillende garnaaldensiteiten op nematodengemeenschappen in kweekvijvers van garnalen (Ecuador). Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología, Universidad de Gante, Bélgica.
- Sevrin-Reyssac, J., y M. Pletikosic. 1990. Cianobacteria in fish ponds. *Aquaculture* 88:1-20.
- Soetaert, K., M. Vincx, J. Wittoeck, M. Tulkens, y D. Van Gansbeke. 1994. Spatial patterns of Westerschelde meiobenthos. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39:367-388.
- Soltwedel, T. 2000. Metazoan meiobenthos along continental margins: a review. *Progress in Oceanography* 46: 5984.
- Stal, L. 2000. Cyanobacterial mats and stromatolites. Página 78. *En* Whitton, B. y Potts, M. (Editores). *The Ecology of Cyanobacteria*. Academic Publisher Amsterdam, Holamda.

- Tacón, A.G.J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación de la Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Brasilia, Brazil..
- Tita, G., G. Desrosiers, M. Vincx, J.P. Gagné, y Locat, J. 1999. Diversity and vertical distribution of nematode assemblages: the Saguenay fjord (Québec, Canada). *Cahiers de Biología Marine* 42:263:274.
- Tita, G., G. Desrosiers, M. Vincx, y M. Clément. 2002. Intertidal meiofauna of the St Lawrence estuary (Québec, Canada): diversity, biomass and feeding structure of nematode assemblages. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82:779-791.
- Treece, G.D. 2001. Fertilización. Páginas 93-106. *En* Haws, M.C. y Boyd, C.E (editores). Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. Editorial- Imprenta UCA, Managua, Nicaragua.
- Velander, K., y M. Mocogni. 1999. Beach litter sampling strategies: is there a 'best method'?. *Marine Pollution Bulletin* 38(12):1126-1133.
- Vincx, M y C. Heip. 1996. Meiofauna in marine and freshwater sediments. Páginas 187-195 *En* G.S. Hay (editor) *International. Methods for the examination of organismal diversity in soils an sediments.*
- Warwick, R. M. 1987. Meiofauna: their role in marine detrital systems. Páginas 282-295. *En* D.J.W. Moriarty y R.S.V. Pullin (Editores). *Detritus and microbial ecology in aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Filipinas.*

- Warwick L. N. 1984. The biology of free-living nematodes. Second edition. Oxford University Press, Oxford, EE.UU.
- Wieser, W. (1953). Free living marine nematodes I. Enoploidea. Reports of the Lund University Chile Expedition (1948 – 1949), C.W.K. Glerup Lund, Suecia.
- Whitton, B. y M. Potts, M. 2000. Introduction to the Cianobacteria. pp: 1-11 *En* Whitton, B. y Potts, M. (Editores). The Ecology of Cyanobacteria. Academic Publisher Amsterdan, Holanda
- Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Department of Biological Sciencies. Northern Illionis University.. Fourth edition. Prentice Hall, New Jersey-EE.UU.

ANEXO 1

MEDIO DE CULTIVO BG - 11

Reactivos	Cantidad (g)
Na NO ₃	1.5
K ₂ HPO ₄	0.04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036
Acido cítrico	0.006
Citrato de amonio férrico	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
NaCO ₃	0.02

Se diluye en 1 L de agua destilada y se agrega 1 mL de la mezcla A5 de metales trazas.

Mezcla A5 de metales trazas

Reactivos	Cantidad (g)
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.0494

Se diluye en 1 L de agua destilada.