

**Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

**Efecto de un policultivo en la concentración de *Vibrio* spp. en un sistema de
producción de camarón**



Presentado por:

T. A. Aura Mariela García Marín

**Para otorgarle el título de
Licenciada en Acuicultura**

Guatemala, agosto 2017

**Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-**

TRABAJO DE GRADUACIÓN



**Efecto de un policultivo en la concentración de *Vibrio* spp. en un sistema de
producción de camarón**

Presentado por:

T. A. Aura Mariela García Marín

**Para otorgarle el título de
Licenciada en Acuicultura**

Asesora: M. Sc. Carolina Marroquín

Guatemala, agosto 2017

**Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-**

CONSEJO DIRECTIVO

| | |
|--|--|
| Presidente | M. Sc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle |
| Secretaria | M. Sc. Kathya Iturbide Dormon |
| Representantes Docentes | M. A. Olga Marina Sánchez Cardona M. Sc. Erick Roderico Villagran Colón |
| Representante del Colegio de Médicos Veterinarios, Zootecnistas y Acuicultores | M. Sc. Adrián Mauricio Castro López |
| Representantes Estudiantiles | T. A. María Alejandra Paz Velásquez Br. Marcos Ponciano Núñez |



El Director del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, después de conocer el dictamen favorable del M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera, Coordinador Académico, sobre el trabajo de graduación de la estudiante universitaria **Aura Mariela García Marín**, titulado “Efecto de un policultivo en la concentración de *Vibrio spp.* en un sistema de producción de camarón”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo. IMPRIMASE.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

M.Sc. Héctor Leonel Carrillo Ovalle



Guatemala, agosto 2017



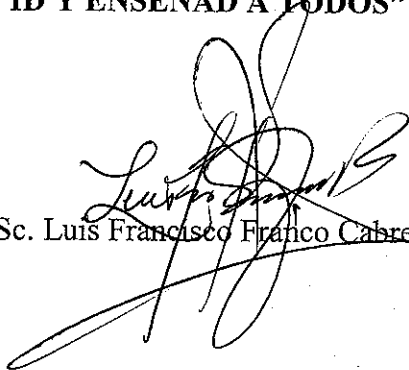
USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala



Coordinación Académica
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura

El Coordinador Académico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura –CEMA–, después de conocer el dictamen de la asesora M.Sc. Dora Carolina Marroquín Mora, al trabajo de graduación de la estudiante universitaria **Aura Mariela García Marín**, titulado “Efecto de un policultivo en la concentración de *Vibrio spp.* en un sistema de producción de camarón”, da por este medio su aprobación a dicho trabajo.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”


M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera



Guatemala, agosto 2017

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser la casa de estudios superiores que me permitió alcanzar mis metas profesionales.

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura -CEMA-, por brindarme el conocimiento necesario para contribuir al desarrollo de Guatemala.

A la empresa Acuamaya S. A., por abrirme sus puertas y brindarme su apoyo técnico durante la realización de mi Ejercicio Profesional Supervisado.

Al Ing. Alexander DeBeausset, por su confianza y apoyo incondicional durante la realización de mi Ejercicio Profesional Supervisado.

Al Lic. Mario Hernández, por sus consejos, apoyo, confianza y asesorías técnicas durante la realización de mi investigación.

A la M. Sc. Carolina Marroquín, por su apoyo incondicional, consejos y asesoría técnica.

A los trabajadores de la empresa Acuamaya S. A., por brindarme su apoyo incondicional en la realización de esta investigación.

A todas las personas que contribuyeron en la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

A Dios, quien me dio la fuerza, esperanza, salud, amor y sabiduría para culminar con esta meta profesional.

A mi madre, la Virgen María quien ha sido la luz que ilumina cada paso que doy por la vida.

A mi madre, Ana Silvia Marín Ramírez, por ser mi guía, mi fortaleza y mi ejemplo a seguir, gracias por acompañarme con amor en cada momento, permitiéndome superar cada obstáculo.

A mi padre, José Maldonado, por su amor y por apoyarme en cada etapa de mi vida, guiándome por un buen camino ayudándome a alcanzar esta meta.

A mis hermanos, quienes han estado a mi lado apoyándome, brindándome su cariño incondicional y por ser mis compañeros de vida.

A mis amigos y compañeros de estudio Jerónimo Valenzuela y Stephanie Rueda con quienes hemos compartido tantos momentos, incentivándonos a superar cada reto con la mejor actitud.

A todos mis amigos, quienes me han brindado sus consejos, apoyo y cariño, porque son una parte fundamental en cada etapa de mi vida.

RESUMEN

Según investigaciones realizadas en varios países, la implementación de un policultivo entre camarón marino *Penaeus vannamei* y tilapia *Oreochromis* sp. reduce la concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL) en el agua de cultivo. A pesar de que la vibriosis es una de las enfermedades bacterianas que ha producido mayores pérdidas en la industria camaronera, la implementación de este sistema de policultivo ha sido lenta. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto que tiene un policultivo camarón – tilapia, un sistema que no ha sido evaluado en Guatemala hasta el momento.

El sistema fue semi-intensivo de 30 camarones/m² con 15.54 g/m² de tilapia introducida cuando los camarones alcanzaron un peso promedio de 5 gramos. El efecto fue evaluado durante 31 días, y los resultados se compararon con un sistema tradicional de monocultivo de camarón a la misma densidad de cultivo.

Las variables evaluadas fueron concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL), densidad de Chlorophytas (cel/mL), transparencia (cm) y salinidad (ppt). La determinación de la concentración de *Vibrio* spp., se hizo mediante análisis microbiológico de muestras de agua sembradas en Agar TCBS. Se diferenciaron vibrios fermentadores de vibrios no fermentadores y en CHROMagarTM Vibrio; se identificaron dos especies de vibrios *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, no obteniendo una diferenciación entre *V. vulnificus* y *V. cholerae*. La densidad de Chlorophytas se determinó por conteos directos al microscopio empleando una cámara de Sedwick Rafter. La transparencia se midió con un Disco de Secchi, y la salinidad se midió con un refractómetro de campo.

Al finalizar los 31 días de investigación no se observó diferencia significativa en la concentración de vibrios totales en el agua del el tratamiento con policultivo ($p= 0.4601$) al compararlo con el agua del tratamiento con monocultivo. En el recuento total de Chlorophytas (cel/mL) se observó diferencia estadística significativa entre tratamientos, mostrándose una mayor concentración de Chlorophytas en el policultivo ($p= 0.0005$), generando un medio microalgal estable. Los resultados fueron analizados estadísticamente aplicando la Prueba T para dos muestras emparejadas al 95% de confianza.

ABSTRACT

According research carried out in several countries, the implementation of a polyculture between marine shrimp *Penaeus vannamei* and tilapia *Oreochromis* sp. reduces the concentration of *Vibrio* spp. (UFC / mL) in the culture water. Vibriosis is one of the bacterial diseases that have produced greater losses in the shrimp industry. However, its implementation has been slow; in Guatemala the effect of a polyculture shrimp-tilapia has not been evaluated so far.

Density was 30 shrimp/m², a tilapia load of ± 15.54 g/m² were introduced when the shrimp reached an average weight of 5 grams. The effects were evaluated over a 31 day period.

The variables evaluated were concentration of *Vibrio* spp. (UFC/mL), total Chlorophytas (cel/mL), transparency (cm) and salinity (ppt). Water samples were analyzed using microbiology techniques, plated in TCBS Agar to differentiate fermenting from non-fermenting vibrios. Samples were also plated in CHROMagarTM Vibrio for identification species identifying. Three species of vibrios (*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus/V. cholerae*) were identified with the CHROMagarTM Vibrio culture medium. At the end of the 31 days of research there was no significant statistical difference in total vibrios concentration in shrimp culture water ($p= 0.4601$) of tilapia treatment compared to treatment without tilapia.

The total count of Chlorophytas (cel/mL) in the water had a statistically significant difference, being higher in the treatment with polyculture ($p= 0.0005$), Generating a stable microalgal medium indicating an increase in Chlorophytas concentration. The results were statistically analyzed by applying T-test for two paired samples at 95% confidence level.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. ANTECEDENTES | 2 |
| 3. MARCO TEÓRICO | 4 |
| 3.1 Producción de camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> | 4 |
| 3.2 Microflora normal de camarones | 4 |
| 3.3 Vibriosis | 5 |
| 3.4 Transmisión y diagnóstico de vibriosis | 8 |
| 3.5 Cultivo de camarones en aguas verdes | 8 |
| 3.6 Dinámica del sistema de aguas verdes | 10 |
| 3.7 Tratamientos biológicos simples para la reducción de bacterias en sistemas acuícolas | 10 |
| 4. OBJETIVOS | 12 |
| 4.1 Objetivo general | 12 |
| 4.2 Objetivos específicos | 12 |
| 5. HIPÓTESIS | 13 |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 14 |
| 6.1 Ubicación geográfica | 14 |
| 6.2 Variables | 15 |
| 6.3 Variables respuesta | 15 |
| 6.4 Diseño experimental | 16 |
| 6.4.1 Descripción de los tratamientos | 16 |
| 6.4.2 Modelo estadístico | 16 |
| 6.4.3 Número de repeticiones | 16 |
| 6.4.4 Tamaño y forma de las unidades experimentales | 17 |
| 6.5 Manejo del experimento | 17 |
| 6.5.1 Fase Pre-experimental | 17 |
| 6.5.2 Implementación de cultivo de tilapia <i>Oreochromis</i> sp. | 17 |
| 6.6 Fase experimental | 17 |
| 6.6.1 Implementación de policultivo | 17 |

| | |
|---|-----------|
| 6.6.2 Toma y traslado de muestras de agua para análisis microbiológico | 18 |
| 6.6.3 Método de siembra de agua | 19 |
| 6.6.4 Identificación de cepas de <i>Vibrio</i> spp. | 19 |
| 6.6.5 Cuantificación de colonias de <i>Vibrio</i> spp. | 20 |
| 6.6.6 Evaluación de la comunidad fitoplanctónica | 20 |
| 6.6.7 Evaluación de Parámetros de calidad del agua | 21 |
| 6.6.8 Análisis de la información | 22 |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 23 |
| 7.1 Concentración de <i>Vibrio</i> spp. (UFC/mL) en el agua de cultivo | 23 |
| 7.2 Clasificación de <i>Vibrio</i> spp. por especie | 26 |
| 7.3 Comunidades fitoplanctónicas en el agua de cultivo | 28 |
| 8. CONCLUSIONES | 31 |
| 9. RECOMENDACIONES | 32 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA | 33 |
| 11. ANEXO | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura No. 1. Diagramación de los diversos procesos asociados con la presencia de tilapia | 11 |
| Figura No. 2. Croquis de Finca Acuamaya S.A. donde se observa la localización de las piscinas donde se llevó a cabo el estudio | 14 |
| Figura No. 3. Muestras para análisis de microalgas | 21 |
| Figura No. 4. Concentración total de vibrios (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos, en relación a la salinidad. | 24 |
| Figura No. 5. Concentración de vibrios fermentadores y no fermentadores (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos, en relación a la salinidad. | 25 |
| Figura No. 6. Concentración por especies de vibrios (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos, en relación a la salinidad. | 27 |
| Figura No. 7. Concentración total de microalgas (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos, en relación a la salinidad. | 29 |
| Figura No. 8. Transparencia (cm) en el agua de los dos tratamientos | 30 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla No. 1. Características de las enfermedades bacterianas causadas por <i>Vibrio</i> spp. más comunes del camarón | 6 |
| Tabla No. 2. Densidades deseables de fitoplancton en estanques de cultivo de camarón. | 9 |
| Tabla No. 3. Densidades de fitoplancton en el agua de los dos tratamientos. | 28 |

ÍNDICE DE ANEXO

| | |
|---|----|
| Anexo No. 1. Muestras de <i>Vibrio</i> spp. en el agua de cultivo sembradas en TCBS | 39 |
| Anexo No. 2. Especies de microalgas y concentración (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos | 39 |
| Anexo No. 3. Análisis estadístico con el programa MegaStat 2007. De la concentración de Chlorophytas (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos | 40 |
| Anexo No.4. Parámetros de cultivo Acuamaya S.A. Ciclo B | 41 |
| Anexo No. 5. Preparación de Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa TCBS | 42 |
| Anexo No. 6. Preparación de CHROMagar TM Vibrio | 42 |

1. INTRODUCCIÓN

La implementación de un policultivo entre camarón marino *Penaeus vannamei* y tilapia *Oreochromis* sp., según investigaciones realizadas en otros países, reduce la concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL) en el agua de cultivo (Eleanor, 2010; Hernández, 2012).

Las bacterias del género *Vibrio* spp. se encuentran normalmente en los ambientes estuarinos y marinos, muchas de ellas asociadas al camarón como agentes patógenos, así como componentes normales de su microflora. Las infecciones por vibrio generalmente son el resultado de estrés crónico o agudo por trauma físico, condiciones ambientales extremas, secundarias a infecciones causadas por otros patógenos o por formas altamente virulentas (United States Department of Agriculture [USDA], s. f.).

La vibriosis, es una de las enfermedades bacterianas que ha producido mayores pérdidas en la industria camaronera, debido a que las bacterias del género *Vibrio* spp. han ocasionado mortalidades hasta del 100% en la producción, provocando pérdidas billonarias (Navarrio, 2014). Esto ha hecho necesaria la utilización de antibióticos para controlar las infecciones causadas por estos patógenos, sin embargo, el uso de estos compuestos en el cultivo de camarón ha facilitado el desarrollo de bacterias resistentes.

La presente investigación evaluó el efecto de la implementación de un policultivo camarón – tilapia en la concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL), comparándose con un monocultivo de camarón. Las variables que se evaluaron fueron: concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL), concentración total de Chlorophytas (cel/mL), transparencia del agua (cm) y salinidad (ppt) determinando su efecto durante 31 días de cultivo.

2. ANTECEDENTES

En Filipinas un grupo de investigadores sembraron camarones en tanques de concreto con agua de mar a 34 ppt, y después agregaron tilapias híbridas rojas (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*) de dos tamaños (16 organismos de 55 g y 6 organismos de 250 g). La bacteria luminosa (*Vibrio harveyi*) fue inoculada en el agua a una densidad de 10^4 UFC/mL. En la investigación se demostró que bacterias asociadas con el mucus y las heces de los peces contribuyen a una actividad anti *V. harveyi*, con resultados positivos obtenidos en un lapso de 5 a 7 días (Eleanor, 2010).

Un estudio realizado en el Laboratorio de Investigación del Medio Ambiente (ERL) de la Universidad de Arizona, evaluó el efecto de la adición de la tilapia del Nilo *O. niloticus* a diferentes densidades, en el desempeño del crecimiento del camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei*. La tasa de crecimiento y conversión alimenticia del camarón, tanto en policultivo como monocultivo, fueron evaluados bajo diferentes densidades de peces.

Las proporciones de camarón y la tilapia fueron de 20:8 individuos en el tratamiento uno (T1), 20:4 en el tratamiento dos (T2) y de 20:2 en el tratamiento tres (T3), mientras que en el tratamiento cuatro (T4), únicamente fueron sembrados camarones, participando como grupo control con una relación de 20:0. El experimento se realizó durante cuatro semanas, con agua a 10 ppt de salinidad. En este estudio se demostró que el cultivo integrado de camarón y tilapia, con un sistema de tanques secuenciales, es técnicamente viable e incrementa la producción de camarón, la cual es más alta que en el monocultivo, sin ninguna interacción adversa entre los peces y camarones (Hernández, 2012).

Un estudio realizado en las instalaciones del Laboratorio de Investigación Ambiental de la Universidad de Arizona evaluó el crecimiento de los camarones *P. vannamei* en un sistema de policultivo utilizando tilapia roja (*O. mosambicus x O. niloticus*) distribuida en pequeños acuarios a varias densidades, para medir el efecto de la tilapia en el cultivo de camarón, empleando un sistema de recirculación de agua, para ofrecer una referencia técnica productiva, demostrando la factibilidad del policultivo de camarón con tilapia, optimizando la infraestructura existente.

Al final de este estudio se concluyó que la tilapia y el camarón cultivados en forma conjunta en un sistema de policultivo simultáneo o secuencial, podrían proveer un método alternativo de producción para las granjas camaroneras, lo que conduciría al desarrollo de una industria acuícola más sostenible (Hernández, 2011).

En una investigación realizada en Filipinas se adoptó un cultivo de aguas verdes en un canal reservorio cultivando peces y estableciendo una población de plancton estable. En la práctica de sistema de aguas verdes se utilizaron organismos juveniles de tilapia con un peso promedio de 10 y 15 gramos, a una densidad de alrededor de 15,000 a 20,000 peces/Ha. Los peces fueron alimentados a razón del 3% de su biomasa y se cultivaron hasta alcanzar una biomasa máxima entre 1,000 y 1,500 kg/Ha. Una vez alcanzada la biomasa, se realizaron cosechas parciales de manera rutinaria para mantener la biomasa; esto equivale a una relación de 200 a 300 Kg de tilapia en el reservorio, por cada tonelada de camarón en las piscinas de engorde. Se observó que el agua del río que entraba al reservorio presentó una concentración en vibrios de 10^5 UFC/mL, reduciéndose a niveles de 10^2 UFC/mL después de tres a siete días en el reservorio con tilapia (Cruz, 2008).

La implementación del policultivo ha presentado efectos positivos en el cultivo de camarón, a pesar de ello su efecto no ha sido evaluado en Guatemala hasta el momento, la presente investigación tiene como objeto evaluar el efecto que tiene un policultivo camarón-tilapia, en la concentración de vibrios en el agua de cultivo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Producción de camarón blanco *Penaeus vannamei*

La primera reproducción artificial de camarón blanco *P. vannamei* se logró en Florida en 1973. Después del resultado positivo en su producción se inició su reproducción y cría en cautividad, extendiéndose por toda Centro y Sur América. Posteriormente, en el año 2000 se extendió el cultivo a Asia extendiéndose la producción de esta especie. Actualmente los principales países productores son: China, Tailandia, Indonesia, Brasil, México y Ecuador, entre otros (MAGA, 2014). Debido a la presión en el medio ambiente en los últimos años, se ha identificado la incidencia de enfermedades como el Síndrome de la Necrosis Hepatopancreática Aguda [AHPNS], provocando en los últimos años mortalidad masiva en explotaciones acuícolas en diferentes países. Esta enfermedad es producida por un agente infeccioso, una cepa de *Vibrio parahaemolyticus* u otras especies de *Vibrio* spp. con capacidad de producir toxinas hepatotóxicas. (Herzberg, 2016).

En Guatemala los productores de camarón se han impuesto como reto mantener sus mercados actuales y diversificar su oferta exportable. A pesar de los problemas en la industria camaronera, se ha experimentado el crecimiento en y la producción se acerca a los niveles de producción antes de la crisis financiera del 2009, que sacudió las economías del mundo y causó una baja en la demanda de productos del mar (Dardón, 2015).

3.2 Microflora normal de camarones

En los crustáceos es muy común encontrar bacterias en sus órganos internos, incluso en la hemolinfa, en organismos sin signos aparentes de enfermedad y por lo tanto considerados aparentes sanos. Si bien es cierto que el tiempo de permanencia de bacterias en el sistema circulatorio de los camarones es de pocas horas e incluso minutos, es usual encontrar en organismos aparentemente sanos una carga bacteriana variable, generalmente inferior a 10^3 unidades formadoras de colonia [UFC]/mL de hemolinfa. Entre las bacterias encontradas en la hemolinfa de camarones algunos vibrios son considerados como habitantes naturales de los sistemas acuáticos. Las especies identificadas en la hemolinfa de *P. vannamei* son *Vibrio*

parahaemolyticus, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio fischeri* y *Vibrio vulnificus* (Gómez, s. f.).

3.3 Vibriosis

La enfermedad ocasionada por bacterias del género *Vibrio* spp. se describe como una vibriosis. Los vibrios son organismos oportunistas, que ocasionan enfermedad solamente cuando el organismo hospedero es inmuno-deficiente o está fisiológicamente estresado. Generalmente esta enfermedad es atribuible al cultivo intensivo y a condiciones ambientales adversas. Estas bacterias, pertenecientes al grupo de gamma-proteobacterias son bacilos Gram negativos, generalmente móviles (Defoirdt, 2007). Todos los vibrios son ubicuos en el ambiente marino y todas las especies, a excepción de *Vibrio cholerae* y *Vibrio mimicus*, requieren cloruro de sodio en el medio de cultivo (Lynn, 2008).

La vibriosis ha sido la causa de mortalidades en cultivos de camarón en países productores del mundo entero y afecta tanto en la fase larvaria, como en fase de engorde en estanques de cultivo. Los brotes de vibriosis se dan usualmente cuando hay un cambio súbito de las condiciones ambientales, produciéndose un aumento en la velocidad de la reproducción bacteriana, superándose así las cargas toleradas por los camarones (Cuéllar, 2013). La determinación de la carga bacteriana se hace en UFC; en el caso de larvas o post-larvas será UFC/mL o por cada “X” número de animales. En el caso de hemolinfa o agua, el resultado se da en UFC/mL. En *P. vannamei* la concentración máxima recomendada es de 10^3 UFC/mL en hemolinfa y 10^5 UFC/g en hepatopáncreas (Cuéllar, 2014). El crecimiento bacteriano de colonias amarillas debe ser mayor del 50% en comparación con las colonias verdes en agar TCBS (Cuéllar, 2010).

Las mortalidades debido a la vibriosis se presentan cuando los camarones están estresados por factores como: mala calidad del agua, elevadas densidades, alta temperatura del agua, baja concentración del oxígeno disuelto y una baja tasa de recambio de agua (Rao, s. f.), en la tabla número uno se resumen las características de las enfermedades bacterianas causadas por vibrios.

Tabla No. 1. Características de las enfermedades bacterianas causadas por *Vibrio* spp. más comunes del camarón

| Tipos de vibriosis | Signos clínicos |
|--|---|
| Camarón manchado (Brown spot disease) | <ul style="list-style-type: none"> • Infecciones en la cutícula, apéndices o branquias. • Lesiones localizadas en tonos de café a negro, en los cuales la cutícula se encuentra erosionada. • Involucra a otras bacterias oportunistas como <i>Aeromonas</i> spp., <i>Spirillum</i> spp. y <i>Flavobacterium</i> spp. • Si no es controlada se agrava dando lugar al desarrollo de “black splinter” o astilla negra dando lugar a una vibriosis sistémica. |
| “Black splinter” (Astilla negra) | <ul style="list-style-type: none"> • Forma crónica de vibriosis. El organismo presenta pequeñas lesiones localizadas en la cutícula que se infectan secundariamente con especies de <i>Vibrio</i> spp. y se melanizan. La infección progresa hasta desarrollar áreas ennegrecidas en el tejido muscular. • Esta forma de vibriosis es más común en camarones adultos debido a que son organismos más territoriales y se hieren con mayor frecuencia. |
| Vibriosis Sistémica | <ul style="list-style-type: none"> • Esta enfermedad se considera una infección generalizada que involucra varios sitios como: cutícula, hepatopáncreas, órgano linfoide, glándula antenal, corazón, hemolinfa y músculo estriado. • Los camarones presentan señales de estrés severo: opacidad en musculatura abdominal y anorexia, expansión de cromatóforos y flexión ocasional del abdomen cerca del tercer segmento abdominal. • Se les observa nadando erráticamente en la superficie y a orillas de los estanques. • La coagulación de la hemolinfa es muy lenta y turbia. |

Tipos de vibriosis

Síndrome de la gaviota

Signos clínicos

- Esta es una manifestación más de vibriosis. Su nombre proviene de la presencia de gaviotas que se alimentan de camarones moribundos que nadan en la superficie y en las orillas de los estanques.

- La bacteria más frecuentemente aislada de estos camarones es un *Vibrio* spp. que produce colonias verdes en agar TCBS.

- Se asocia con algunos factores ambientales como alta temperatura, cambios en la salinidad y elevadas concentraciones de nitrógeno.

- También se han visto involucrados factores como: conteos inusualmente altos de bacterias en las tomas de agua, delicado estado de salud en los camarones debido a la presencia de virus, gregarinas y altos niveles de nutrientes en la entrada de agua con baja recirculación.

Vibriosis luminiscentes

- *V. harveyi* es la bacteria causal de la vibriosis luminiscente y como la mayoría de las bacterias del género *Vibrio* spp., constituye parte de la flora normal de las aguas costeras y lagunares.

- Se adhiere a las superficies de los crustáceos marinos o se establece en el tracto digestivo al ser ingerido.

- Los camarones en etapa juvenil son los más afectados.

- Este tipo de bacteria daña el hepatopáncreas invadiéndolo masivamente.

Enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND/EMS)

- *V. parahaemolyticus* y otras especies de *Vibrio* spp. con capacidad de producir toxinas hepatotóxicas son los agentes causales de esta enfermedad, los signos típicos comienzan dentro de los 10-30 días después de la siembra de post larvas causando atrofia significativa del hepatopáncreas, intestino blanco, hepatopáncreas pálido y con puntos negros (OIE, 2013).

Fuente: Prado, 2003.

3.4 Transmisión y diagnóstico de vibriosis

Es posible la transmisión vertical y horizontal, presentándose en instalaciones de maduración, larvicultura y en fincas de engorde (Cuéllar, 2013). El diagnóstico de la infección de vibrio se basa en los signos clínicos y la demostración histológica de la bacteria *Vibrio* spp. en las lesiones, nódulos o hemolinfa. La muestra es sembrada en un medio de agar marino general o selectivo para *Vibrio* spp. agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa [TCBS]. Las colonias pueden ser observadas después de 12 a 18 horas si se incuban a una temperatura de 25 a 30 °C (Rao, s.f.).

En agar TCBS los vibrios fermentadores de sacarosa (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) presentan un aspecto de colonias de tamaño mediano, lisas, opacas y amarillas. Mientras que el *V. parahaemolyticus* es un vibrio fermentador de glucosa pero no fermentan sacarosa y presenta colonias de color verde. Se requieren pruebas bioquímicas y/o serológicas adicionales para lograr una identificación final y la diferenciación de las especies fermentadoras de las no fermentadoras de sacarosa (BD, 2013).

3.5 Cultivo de camarones en aguas verdes

El cultivo en aguas verdes es una técnica que incluye el uso de fitoplancton como Chlorophytas que cambian la coloración del agua a verde, dándole grandes beneficios a la flora bacteriana y tracto digestivo de algunos peces (Fuentes, 2013). Este método ha sido utilizado con la finalidad de prevenir las enfermedades de camarón en granjas acuícolas. La tilapia actúa como un agente de bio-control en el cultivo de camarón, la tilapia crece dentro del cultivo mientras que el agua verde que produce ayuda a controlar el crecimiento de bacterias luminosas las cuales afectan el desarrollo de camarones de mar y de río (Aquahoy, 2009).

El agua verde es la última biotecnología desarrollada para ayudar a prevenir y controlar la diseminación de enfermedades acuícolas como vibriosis o bacterias luminosas, permitiendo el incremento de la producción de camarón. Entre los métodos para combatir las enfermedades

acuícolas, el sistema de agua verde ha sido el más efectivo, funcional y fue promovido como una tecnología amigable, debido a que inhibe el crecimiento del patógeno, mejora la calidad del agua y ayuda a estimular el sistema inmunológico de las especies que son cultivadas (Aquahoy, 2009).

No cualquier tipo de microalga es adecuada en un estanque de cultivo de camarón. Las diatomeas y algunos flagelados son considerados deseables. Sin embargo otras, como algunas especies de Cyanophytas, son consideradas especies indeseables para el cultivo, la tabla número dos, muestra los valores deseables de diferentes grupos de microalgas para el agua de cultivo (Córdova, 2004).

Tabla No. 2. Densidades deseables de fitoplancton en estanques de cultivo de camarón.

| Componente de fitoplancton | Mínimo (cel/mL) | Máximo (cel/mL) |
|---|------------------------|------------------------|
| Bacillariophytas y Chrysophytas (diatomeas) | 20,000 | |
| Chlorophytas (green algae) | 50,000 | |
| Cyanophytas (algas verde azules) | 10,000 | 40,000 |
| Dinophytas (dinoflagelados) | -- | 500 |
| Total de células en el fitoplancton | 80,000 | 300,000 |

Fuente: Córdova, 2004.

3.6 Dinámica del sistema de aguas verdes

Los aspectos benéficos del uso de tilapia para el cultivo de camarón son:

- Supresión de la proliferación de *V. harveyi*
- Mejora de la calidad del agua
- Mejora de la calidad de los sedimentos
- Promueve el crecimiento de *Chlorella* sp. como microalga dominante
- Reduce la acumulación de materia orgánica a través del consumo directo por parte de la tilapia
- Bio-perturbación de los sedimentos
- Producción de compuestos anti-microbianos naturales (mucus y heces)
- Reducción de la concentración de UFC/mL de *Vibrio* spp. (Cruz, 2008).

3.7 Tratamientos biológicos simples para la reducción de bacterias en sistemas acuícolas

El mucus actúa como un agente antimicrobiano ya que funciona como parte del sistema inmune de los peces y puede ser utilizado como un bioremediador en acuicultura de camarón (Rosario, s. f.). El mucus de los peces es una de las barreras más importantes contra los patógenos y contiene sustancias con acción antimicrobiana, anticuerpos (inmunoglobulinas) y enzimas (lisozimas y otras enzimas, las cuales destruyen las paredes celulares de las bacterias). Así, de esta forma, el mucus impide la colonización de la piel por bacterias y hongos (Kubitza, 2013).

Mediante la implementación de métodos biológicos simples se ha podido reducir la cantidad de bacterias luminiscentes de 7.5^2 UFC/mL en agua de cultivo y 1.0^1 UFC/gramo en los sedimentos (Southeast Asian Fisheries Development Center [SEAFDEC], s. f.). Estas técnicas

pueden ser controladas bajo una rigurosa gestión del agua y la sanidad, para prevenir la entrada de vibrios en el agua de cultivo y mediante la reducción del estrés entre los camarones, siendo recomendable un incremento en la tasa de recambio diario de agua y una reducción en la biomasa del estanque mediante cosechas parciales para reducir las mortalidades causadas por la vibriosis.

La vibriosis luminiscente puede ser controlada en el hatchery mediante el lavado de los huevos en yodo y formaldehído, evitando la contaminación por las heces de los reproductores. *V. harveyi* puede ser inactivado en la columna de agua mediante dióxido de cloro. Los inmunostimulantes también han tenido éxito en reducir las mortalidades de los camarones asociados con vibriosis (Panorama Acuícola, 2009).

En la siguiente gráfica se muestran los diversos procesos asociados con la presencia de tilapia que ayudan a reducir la concentración de *Vibrio* spp. en el agua como una técnica biológica simple para mejorar las condiciones en cultivo de camarón, se muestran las acciones primarias y secundarias de los beneficios del uso de tilapia para el cultivo de camarón (Figura No. 1).

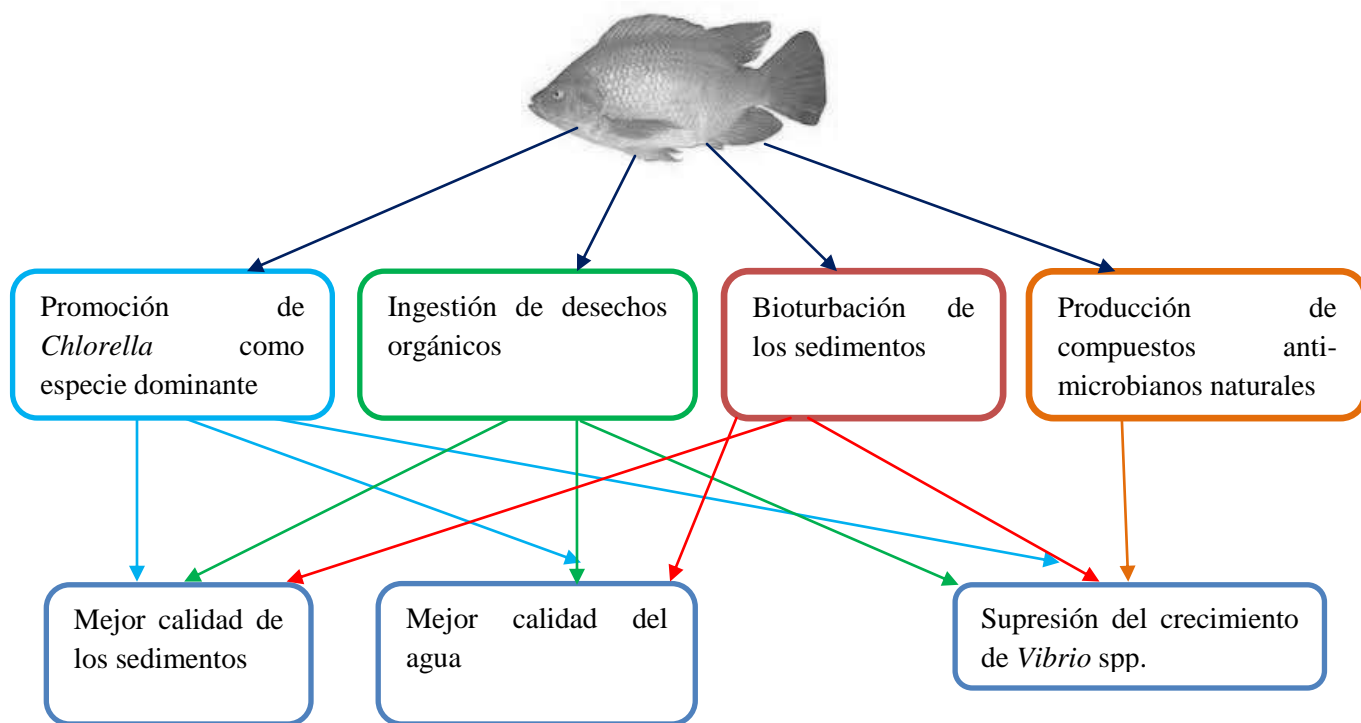


Figura No. 1. Diagramación de los diversos procesos asociados con la presencia de tilapia que ayudan a reducir la concentración de *Vibrio* spp. en la mejora de la calidad del agua y de los sedimentos (Cruz, 2008)

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto que produce un policultivo de camarón blanco y tilapia en la concentración de *Vibrio* spp. en el agua de cultivo.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar cómo afecta el policultivo camarón – tilapia la concentración de *Vibrios* spp. en el agua.
- Determinar la composición fitoplanctónica en el agua de un policultivo de camarón.

5. HIPÓTESIS

H0: La implementación de un policultivo entre camarón blanco *Penaeus vannamei* y tilapia *Oreochromis* sp. no reduce la concentración de *Vibrio* spp. en el agua de cultivo.

H1: La implementación de un policultivo entre camarón blanco *Penaeus vannamei* y tilapia *Oreochromis* sp. reduce la concentración de *Vibrio* spp. en el agua de cultivo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Ubicación geográfica

La investigación se llevó cabo en los meses de septiembre a noviembre del año 2016, en la finca Acuamaya S.A., la cual se encuentra localizada en el kilómetro 164 carretera a El Salvador, departamento de Jutiapa, municipio de Pasaco. Se encuentra a una altitud de 7 metros sobre el nivel del mar y se localiza a $13^{\circ}48'15''$ de latitud y a $90^{\circ}13'13''$ de longitud (Morales, 2004).

La finca Acuamaya S.A. trabaja con dos sistemas de cultivo, sistema intensivo y sistema hiper-intensivo. El sistema intensivo es manejado en cuatro fases, con el objetivo de facilitar la distribución del alimento. El sistema híper-intensivo se hace en 5 piscinas revestidas con linner, y aireación continua debido al alto requerimiento de oxígeno por la carga de biomasa.

En la figura se muestra un croquis de la Finca Acuamaya S.A. en donde se localizan las piscinas utilizadas para el cultivo de camarón y se identifican las piscinas usadas en la investigación, las cuales forman parte del sistema intensivo (Figura No. 2).

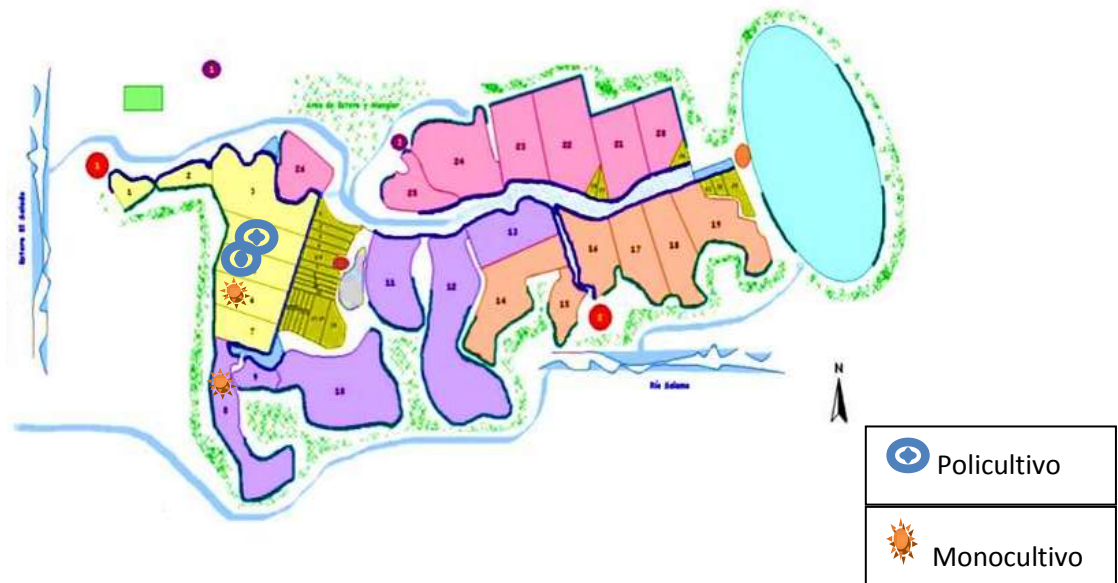


Figura No. 2. Croquis de Finca Acuamaya S.A. se observa la localización de las piscinas donde se llevó a cabo el estudio (Bolaños, 2006)

6.2 Variables

| Variable independiente | Indicador |
|------------------------|--------------------------------------|
| Tipo de cultivo | Monocultivo (T0) Policultivo (T1) |

| Variables dependientes | Indicador |
|---|-----------|
| Concentración de <i>Vibrio</i> spp. en el agua. | UFC/mL |
| Transparencia | cm |
| Chlorophyta | cel/mL |
| Salinidad | ppt |

6.3 Variables respuesta

Las variables respuesta evaluadas fueron concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL), concentración de Chlorophytas (cel/mL) y transparencia (cm). La variable concentración de *Vibrio* spp. sirvió para determinar el efecto que tiene la tilapia en el agua de cultivo de camarón. Paralelamente, como cofactor se analizó la salinidad debido a que es un factor que promueve el crecimiento de *Vibrio* spp. La concentración de Chlorophytas (cel/mL) ayuda a controlar el crecimiento de bacterias que afectan a los camarones. Otras comunidades de microalgas fueron también analizadas para tener una referencia de la composición porcentual de poblaciones. La transparencia del agua, junto a las otras variables crea condiciones que contribuyen con el desarrollo del camarón. Se registró la calidad del agua para asegurar que ésta no fuera una limitante durante la evaluación.

6.4 Diseño experimental

6.4.1 Descripción de los tratamientos

En esta investigación se evaluaron dos sistemas de cultivo de camarón:

Tratamiento control (T0): monocultivo de camarón a una densidad de 30 cam/m² y peso promedio de 5 gramos. Tratamiento uno (T1): policultivo de camarón blanco y tilapia, trabajando con una densidad de 30 cam/m² con un peso inicial de 5 gramos y una carga total de tilapias de 15.54 g/m².

Los camarones se alimentaron en base a su biomasa, con alimento balanceado de 25% PC, con una frecuencia de tres veces al día. No se suministró alimentó directamente a las tilapias.

La concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL) se evaluó una vez por semana durante cuatro semanas a partir de tres puntos dentro de cada piscina (salidas y puntos muertos). En los puntos muertos el agua se mantiene más estancada promoviendo la propagación de vibrios, y en la salida se concentra el agua de todos los puntos de la piscina, por lo tanto son los puntos donde se encuentra el agua más pobre del sistema. La comunidad fitoplanctónica se evaluó de acuerdo a la concentración de Chlorophytas, Cianophytas, Bacillariophyta (cel/mL). Ésta se analizó una vez por semana durante cuatro semanas, tomando la muestra de un solo punto de cada piscina (salida). Este es el punto normal de colecta de muestras de agua para la evaluación de fitoplancton en piscinas de cultivo de camarón.

6.4.2 Modelo estadístico

Estas variables se evaluaron mediante el análisis estadístico t-Student, para comparar dos variables pareadas de observaciones con respecto a una variable numérica.

6.4.3 Número de repeticiones

Se evaluaron dos tratamientos y dos réplicas por tratamiento.

6.4.4 Tamaño y forma de las unidades experimentales

Se definieron cuatro unidades experimentales para la investigación, siendo estas piscinas de engorde de camarón con una superficie de 44.31 hectáreas. Donde 18.1 ha corresponden a las piscinas con policultivo y 26.21 ha a las piscinas control. Las piscinas contaron con un sistema de aireación mecánica que se activó durante la noche si el oxígeno bajaba de 3 mg/L, manejando 14 HP/Ha en aireación.

6.5 Manejo del experimento

6.5.1 Fase Pre-experimental

6.5.2 Implementación de cultivo de tilapia *Oreochromis* sp.

Se implementó un cultivo de tilapia en las instalaciones de Finca Acuamaya con el objetivo de reproducir tilapia *Oreochromis* sp. con tolerancia a salinidades de hasta 25 ppt. El proyecto incluyó:

- Fase de engorde y reproducción
- Fase de levante y reversión
- Fase de aclimatación.

6.6 Fase experimental

6.6.1 Implementación de policultivo

Para la selección de las piscinas se tomaron en cuenta las variables: salinidad de las piscinas, densidad del cultivo de camarón, tiempo de cultivo, peso del camarón, misma entrada de agua y el mismo manejo.

El tipo de siembra en las cuatro piscinas fue siembra directa, en donde la larva fue sembrada directamente a las piscinas de engorde, sin pasar por el área de pre-cría.

Se evaluaron cuatro piscinas durante un período de un mes, las cuales iniciaron con una salinidad de 17 ppt, una densidad de 30 cam/m² y un peso promedio en camarones de 5 gramos para evitar la depredación por parte de las tilapias.

Antes de introducir las tilapias al cultivo de camarón se realizó un muestreo de agua de las piscinas, analizándose la concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL) y Chlorophytas (cel/mL) con el objetivo de generar información de línea base de la calidad del agua en el sistema antes de la investigación y así poder determinar el efecto de un policultivo en el tiempo.

Las tilapias fueron trasladadas, aclimatadas y sembradas en las unidades experimentales utilizando una carga de ± 15.54 g/m².

6.6.2 Toma y traslado de muestras de agua para análisis microbiológico

Se tomaron muestras de agua en tres diferentes puntos de cada piscina: la salida y dos puntos muertos. Las muestras se colectaron en frascos estériles, una vez a la semana durante cuatro semanas. El transporte se hizo en una hielera y trasladadas hacia el laboratorio La Candelaria Taxisco, Santa Rosa Guatemala, en donde fueron analizadas.

Los días en que se tomaron las muestras fueron:

M₀- 10 días antes de la siembra de tilapias (muestreo para generar la información de línea base).

M₁- día 4 de cultivo

M₂- día 11 de cultivo

M₃- día 21 de cultivo

M₄- día 27 de cultivo.

Nota: M = muestreo; subíndice = número de muestreo, en secuencia correlativa

6.6.3 Método de siembra de muestras de agua

Para la siembra de muestras de acuerdo a indicaciones del Laboratorio, se realizaron diluciones 1/10 de todas las muestras de agua, utilizando el método de recuento total en placa. Las muestras se incubaron durante 24 y 36 horas a 30°C.

6.6.4 Identificación de cepas de *Vibrio* spp.

La identificación de bacterias se realizó por medios de cultivo selectivos. Inicialmente las muestras de agua fueron sembradas en agar TCBS, un agar específico para bacterias del género *Vibrio* spp. Después de 24 horas de la siembra es posible observar bacterias fermentadoras (amarillas) y no fermentadoras (verdes). Las bacterias fermentadoras utilizan la sacarosa y se da un cambio en el pH del medio de cultivo, mientras que las bacterias no fermentadoras no utilizan sacarosa por lo tanto su coloración se mantiene verde.

A partir del crecimiento en el agar TCBS se identificaron dos diferentes tipos de *Vibrio* spp.:

- *Vibrio* fermentador (colonias amarillas)
- *Vibrio* no fermentador (colonias verdes)

Los vibrios se clasificaron en dos diferentes especies de *Vibrio* spp. por medio del agar selectivo CHROMagar™ *Vibrio*. Esta clasificación se realizó en base a la coloración de las bacterias. Con este método no fue posible diferenciar entre *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*. La identificación de la coloración de las colonias bacterianas en este agar se hace mediante la siguiente clasificación:

- *Vibrio alginolyticus* (colonias incoloras)
- *Vibrio parahaemolyticus* (colonias malva)
- *Vibrio vulnificus*/ *Vibrio cholerae* (colonias azul verdoso a azul turquesa)

6.6.5 Cuantificación de colonias de *Vibrio* spp.

Se cuantificaron las colonias de *Vibrio* spp. en cada una de las placas de agar a las 24 horas de cultivo. Para la cuantificación de UFC/mL se utilizó la siguiente fórmula.

$$\text{UFC/ml} = \text{Número de colonias} \times \text{dilución} / \text{volumen inóculo mL}$$

6.6.6 Evaluación de la comunidad fitoplanctónica

Se tomó una muestra de agua de las salidas de las piscinas una vez por semana durante cuatro semanas a partir la implementación del policultivo (Figura No. 3). Las muestras fueron analizadas microscópicamente con una cámara de Sedgewick Rafter para el conteo de microalgas. Se tomó 1 mL de la muestra colocándola en la cámara y determinando la cantidad de microalgas en cuatro cuadrantes. Para la determinación final de la concentración se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Número de cel/ml} = C \times 1000$$

Donde:

C es el promedio de células contadas

Las microalgas se identificaron utilizando la guía de consulta de diversidad vegetal (Vallejos, s.f.) y un afiche proporcionado a la Finca Acuamaya para identificación de los tres principales grupos de algas en acuicultura. Se encontraron microalgas de tres grupos: Chlorophytas, Cianophytas y Bacillariophytas. Es necesario indicar que en las piscinas de cultivo se utiliza fertilizantes Ferti-lake el cual promueve fitoplancton y zooplancton, también se aplica Silica-lake para el aumento de la concentración de diatomeas, las cuales son benéficas en el cultivo de camarón.



Figura No. 3. Muestras para análisis de microalgas (Trabajo de campo, 2016)

6.6.7 Evaluación de parámetros de calidad del agua

Se realizaron muestreos rutinarios para el cultivo de camarón de los parámetros de oxígeno disuelto (mg/L) y temperatura (C°) (en horarios de 8:00 PM, 11:00PM, 2:00 AM y 5:00 AM), transparencia del agua (cm) y salinidad (ppt) (tres veces a la semana) y pH (una vez a la semana) de las piscinas, para mantener un control y mejorar las condiciones fisicoquímicas de las piscinas.

El oxígeno y la temperatura fueron medidos con un oxímetro marca YSI 55 ®. Este equipo fue calibrado de acuerdo a la salinidad de las piscinas. La transparencia del agua fue medida con un disco de Secchi basándose en la dispersión de la luz por partículas en suspensión del agua, midiendo desde la superficie hasta la profundidad en centímetros a la que el disco desaparece. Este parámetro fue medido para evaluar el efecto que tienen las tilapias en la transparencia del agua, la transparencia recomendable debe ser mayor a 30 y menor a 45 (cm), para que la producción del estanque se encuentre en óptimas condiciones (Rojas, 2005).

La salinidad se determinó con un refractómetro de campo, calibrado con agua dulce. El pH fue medido con medidor de pH de mano marca Checker ®, el cual fue calibrado antes de cada muestreo.

6.6.8 Análisis de la información

La tabulación de los datos se hizo a través del programa Microsoft Excel 2007. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa estadístico MegaStat 2007, evaluándose a través de Prueba T para dos muestras emparejadas con un nivel de confianza 95%.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Concentración de *Vibrio* spp. (UFC/mL) en el agua de cultivo

De acuerdo a los resultados de los muestreos microbiológicos del agua, el tratamiento con tilapia no presentó diferencia estadística en la concentración *Vibrio* spp. (UFC/mL) al compararla con la del agua del tratamiento control ($p=0.6458$) (Figura No. 4).

A pesar de que durante la investigación el policultivo no presentó una diferencia estadística significativa en la concentración de vibrios fermentadores ($p= 0.4601$) y no fermentadores ($p= 0.9428$), los niveles de vibrio se mantuvieron en los límites aceptables para cultivo el cual no debe ser mayor a 10^3 UFC/mL. En la figura se evidencia que la concentración de vibrios fermentadores el tratamiento con monocultivo (T0) presentó una mayor variabilidad de UFC/mL comparado con el tratamiento con policultivo (T1). Lo contrario sucedió con la concentración de vibrios no fermentadores, el tratamiento con monocultivo (T0) presentó una menor variabilidad de UFC/mL comparado con el tratamiento con policultivo (T1) (Figura No. 5). Las especies no fermentadoras se consideran más patógenas para camarones, por lo que una menor variabilidad en su concentración se considera una condición deseable en el cultivo de camarón.

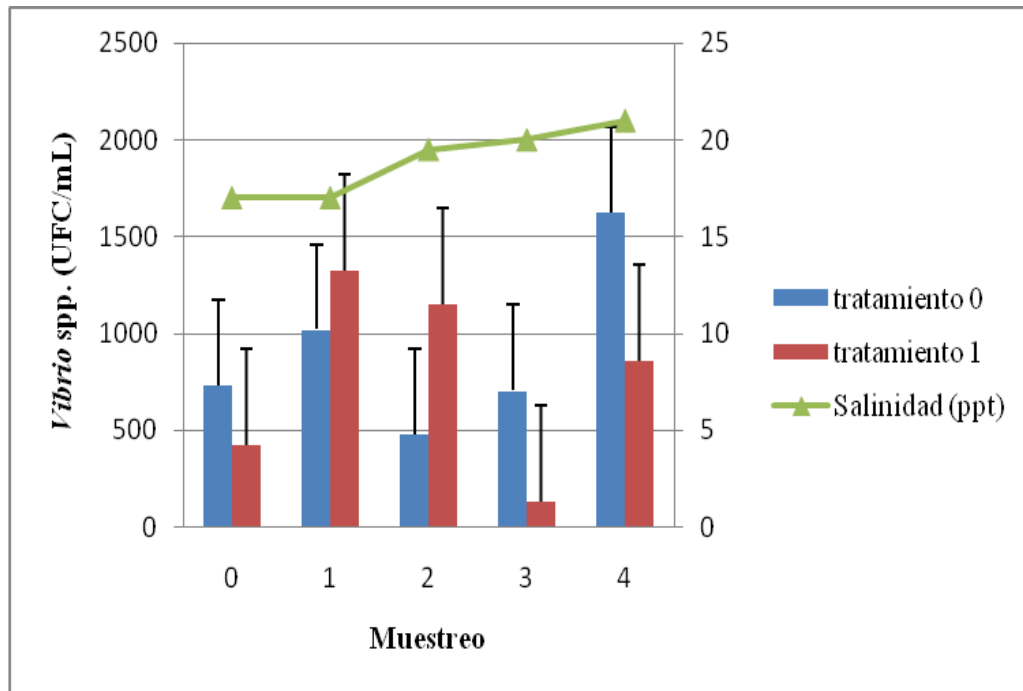


Figura No. 4. Concentración total de vibrios (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos. T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia, en relación a la salinidad. (Trabajo de campo, 2016)

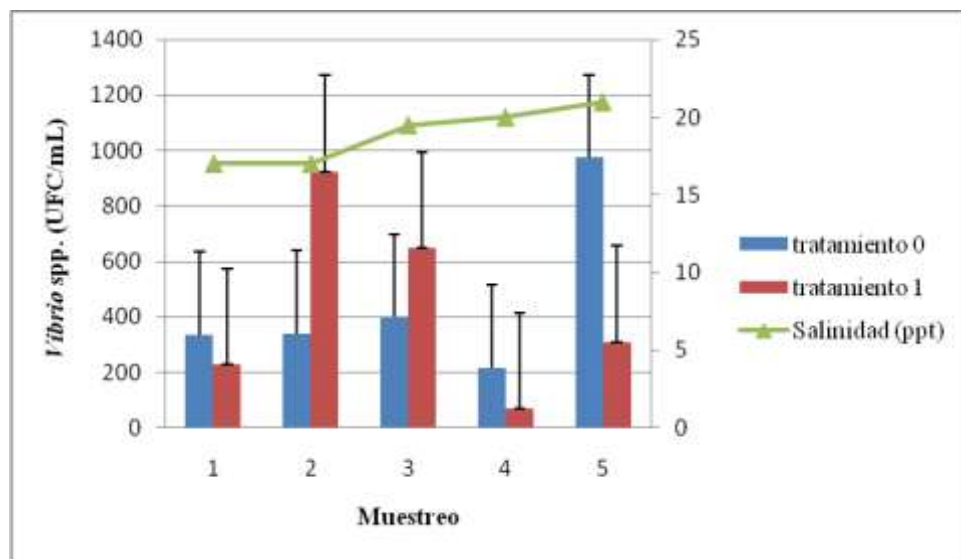
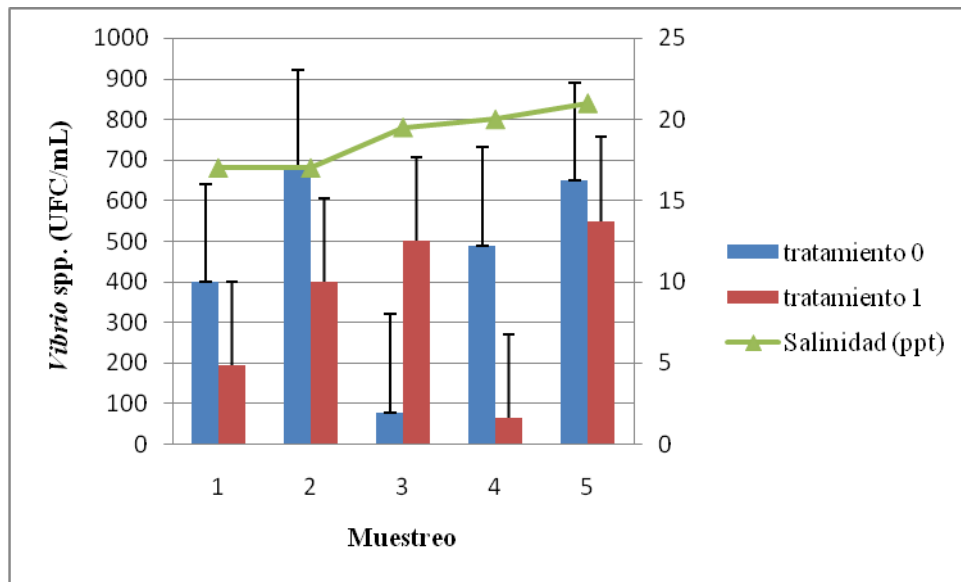


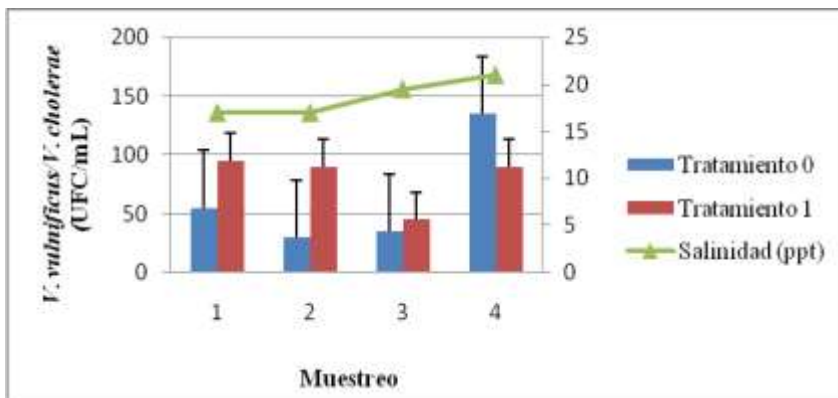
Figura No. 5. Concentración de vibrios fermentadores y no fermentadores (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos. T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo camarón – tilapia, en relación a la salinidad (trabajo de campo, 2016)

7.2 Clasificación de *Vibrio* spp. por especie

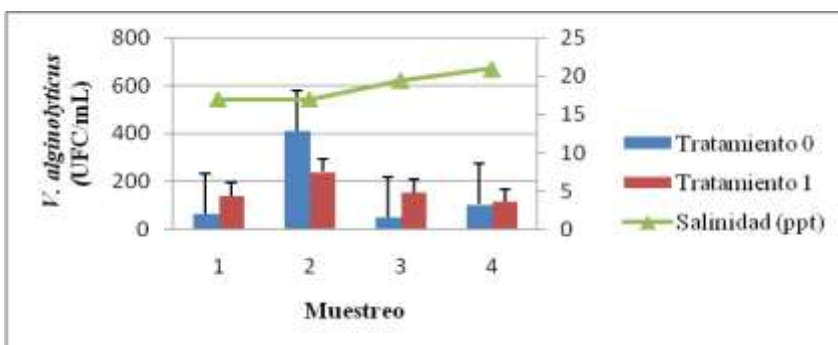
En las muestras de agua sembradas en CHROMagar™ se identificaron dos especies de vibrio en base a su coloración, siendo estas: *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*, no obteniendo una diferenciación entre *V. vulnificus* y *V. cholerae*. En la (Figura No. 6) se observa la concentración de cada especie, en ambos tratamientos.

En esta investigación se dio prioridad a la concentración de UFC/mL de *V. parahaemolyticus*, causante de la enfermedad necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND/EMS), que se caracteriza por provocar mortalidades masivas de hasta el 100% de la producción y es una enfermedad de declaración obligatoria por la Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE]. Durante el período de investigación el *V. parahaemolyticus* se mantuvo dentro de los límites considerados de bajo riesgo, aunque no se presentó una diferencia estadística significativa entre tratamientos ($p= 0.0555$) (Figura 7).

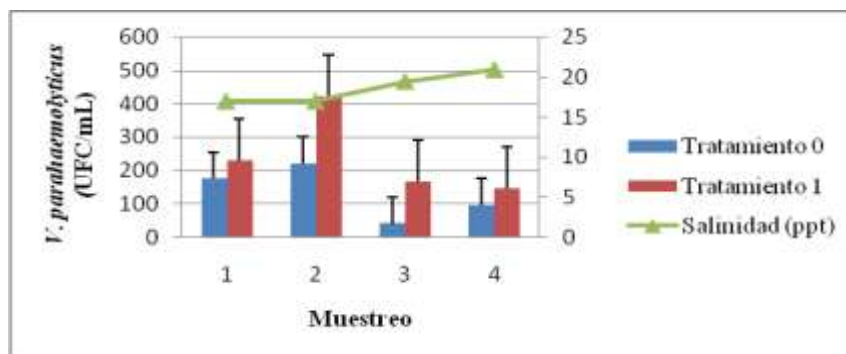
Las bacterias del género *Vibrio* han sido registradas como patógenas oportunistas para el cultivo de camarón, tanto en la fase larvaria como en la fase de engorda, causando mortalidades y lento crecimiento de los organismos (Gómez, s.f.).



Vibrio vulnificus/Vibrio cholerae (UFC/mL)



Vibrio alginolyticus (UFC/mL)



Vibrio parahaemolyticus (UFC/mL)

Figura No. 6. Concentración por especie de vibrios (UFC/mL) en el agua de los dos tratamientos. T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia, en relación a la salinidad. (Trabajo de campo, 2016)

7.3 Comunidades fitoplanctónicas en el agua de cultivo

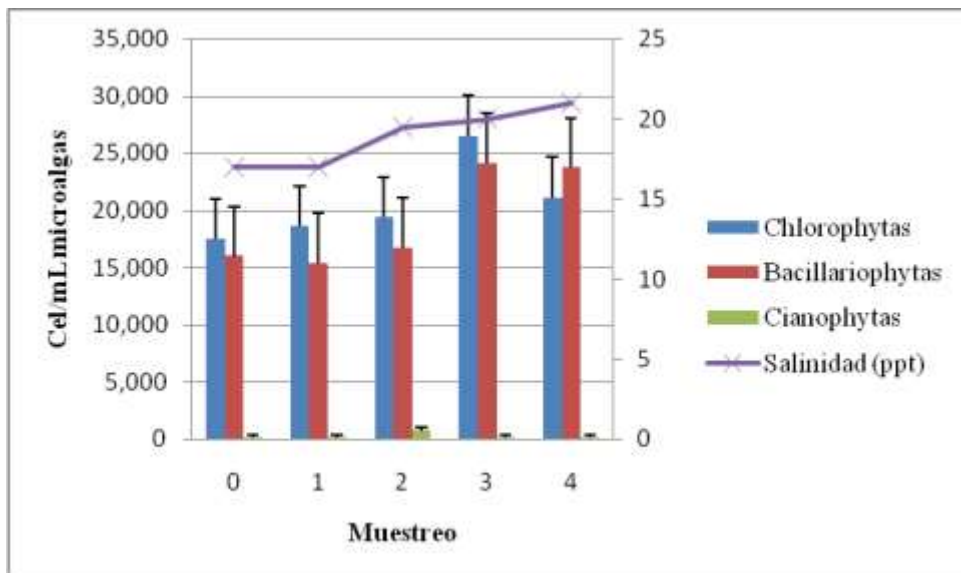
Durante la investigación se analizó la concentración de cel/mL de microalgas en el agua de cultivo. Las Chlorophytas fueron las micro algas dominantes en el tratamiento con policultivo durante el período de investigación evidenciando así el efecto de la tilapia *Oreochormis* sp. Se detectó una diferencia altamente significativa entre tratamientos ($p= 0.0005$), en la figura también se observa una mayor variabilidad de cel/mL en el tratamiento con policultivo (T1) comparada con el tratamiento con monocultivo (T0) (Tabla No. 3); (Figura No. 7).

Las Bacillariophytas se muestran como un segundo grupo de microalgas dominantes dentro del sistema. Es necesario indicar que en las piscinas se utilizan fertilizantes para el aumento de diatomeas las cuales son benéficas en el cultivo de camarón. Las Cianophytas se presentaron en una baja concentración, indicando una buena calidad del agua en las piscinas con el tratamiento experimental. En la figura se observa el comportamiento de la salinidad a través del tiempo, siendo un factor determinante en la concentración de microalgas debido a que no todas son capaces de sobrevivir a altas salinidades.

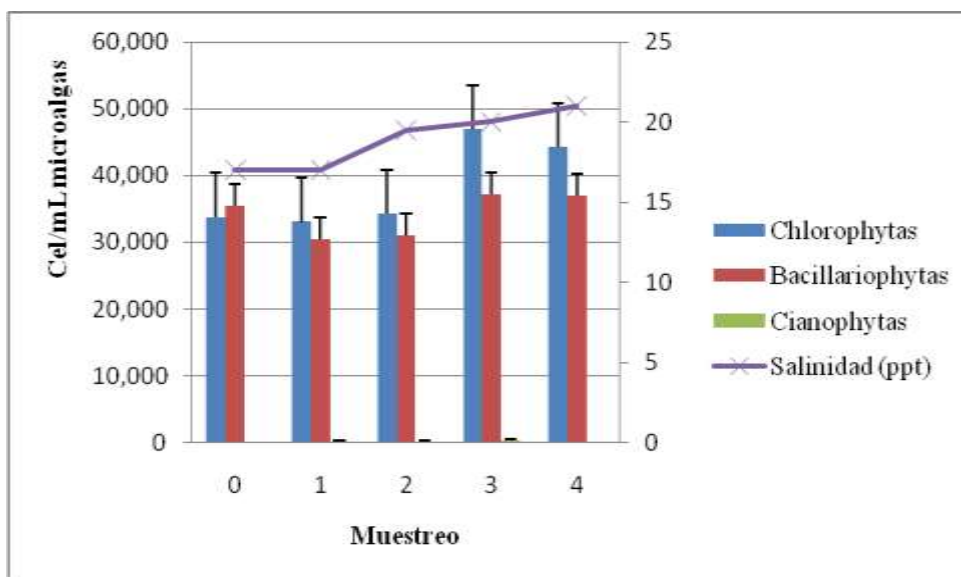
Tabla No. 3. Densidades de fitoplancton en el agua de los dos tratamientos T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo camarón – tilapia.

| Muestreo | Cel/ml Chlorophytas | Cel/ml Bacillariophytas | Cel/ml Cianophytas |
|------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
| 0 | 17,500 | 16,000 | 125 |
| 1 | 18,625 | 15,375 | 125 |
| 2 | 19,375 | 16,750 | 750 |
| 3 | 26,500 | 24,125 | 125 |
| 4 | 21,125 | 23,750 | 125 |
| Promedio Cel/ml | 20,625 | 19,200 | 250 |

| Muestreo | Cel/ml Chlorophytas | Cel/ml Bacillariophytas | Cel/ml Cianophytas |
|------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
| 0 | 33,750 | 35,425 | 0 |
| 1 | 33,000 | 30,375 | 125 |
| 2 | 34,250 | 31,000 | 125 |
| 3 | 46,875 | 37,125 | 375 |
| 4 | 44,250 | 37,000 | 0 |
| Promedio Cel/ml | 38,425 | 34,185 | 125 |



Cel/mL de especies de microalgas T0



Cel/mL de especies de microalgas T1

Figura No. 7. Concentración total de microalgas (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos.

T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia, en relación a la salinidad. (Trabajo de campo, 2016)

El tratamiento con policultivo muestra una diferencia de la transparencia del agua en relación al tratamiento con monocultivo, previo a la siembra de las tilapias. Durante el tratamiento con policultivo se observó que el agua mostró una coloración más verde en comparación al tratamiento con monocultivo (Figura No. 8).

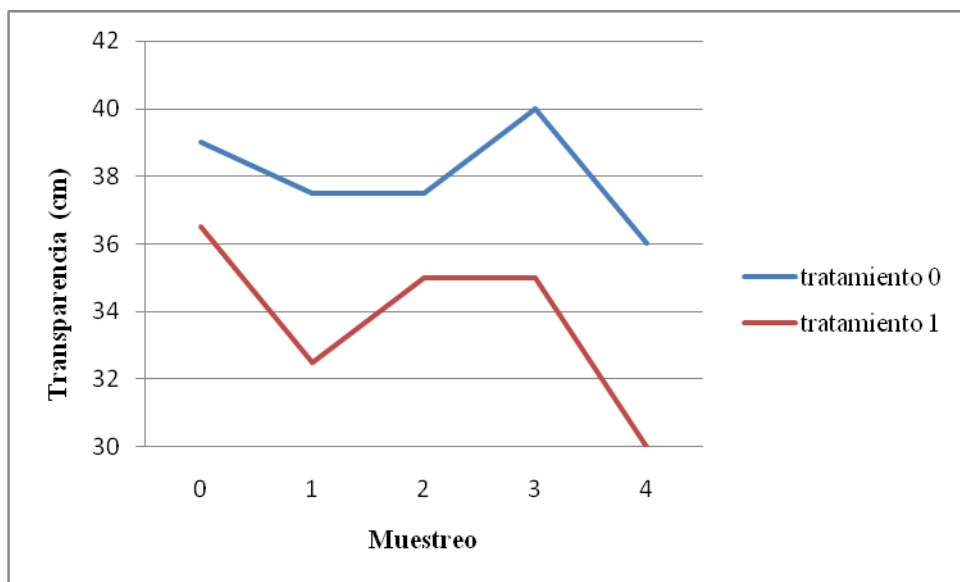


Figura No. 8. Transparencia (cm) en el agua de los dos tratamientos T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia. (Trabajo de campo, 2016)

8. CONCLUSIONES

- La implementación de un policultivo entre camarón blanco *Penaeus vannamei* y tilapia *Oreochromis* sp. no redujo significativamente la concentración de *Vibrio* spp. en el agua de cultivo de camarón. Por lo tanto se acepta la hipótesis nula.
- La implementación de un policultivo camarón – tilapia tuvo un efecto significativo sobre la composición fitoplanctónica del agua de cultivo.
- En el policultivo camarón – tilapia la concentración de Chlorophytas fue significativamente superior a la observada en el tratamiento con monocultivo mantenido a la misma salinidad, generándose un medio microalgal estable.

9. RECOMENDACIONES

- Comparar el efecto que tiene un policultivo (camarón y tilapia) utilizando diferentes densidades de tilapia para determinar la densidad que más favorezca al cultivo.
- Evaluar el efecto que tendría un sistema de policultivo, diseñando hapas para peces dentro las piscinas para camarón.
- Evaluar un policultivo entre camarón y el pez pululo (*Dormitator latifrons*) el cual se adapta fácilmente a altas salinidades, para determinar el efecto de otra especie de pez.
- Evaluar el efecto que tiene un policultivo entre camarón y tilapia en época de invierno para evitar que la salinidad afecte la sobrevivencia de tilapia.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aquahoy. (2009). *Filipinas: “Agua verde” incrementa la productividad del cultivo de camarón* [en línea]. Recuperado enero 14, 2017, de <http://www.aquahoy.com/es/156-uncategorized/7980-filipinas-agua-verde-incrementa-la-productividad-del-cultivo-de-camaron>
2. BD. (2013). *BD TCBS Agar* [en línea]. Recuperado enero 15, 2017, de <https://bd.com/resource.aspx?IDX=25732>
3. Bolaños, E.M., (noviembre de 2006). *Cultivo de camarón blanco Litopenaeus vannamei en la Finca Acuamaya, Salitrillo departamento de Jutiapa* [en línea]. Recuperado diciembre 17, 2016, de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/24/24_0064.pdf.
4. Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa [CESASIN]. (2003). *Técnicas de bacteriología, análisis en fresco, calidad del agua y buenas prácticas de manejo y bioseguridad en granjas camaroneras* [en línea]. Recuperado octubre 1, 2016, de <http://www.cesasin.com.mx/ManualCapacitacion.pdf>
5. Córdova, L. M., (2004). Manejo de la productividad natural en el cultivo del camarón [en línea]. Recuperado julio 1, 2017, de http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VII/archivos/32LuisMartinez.pdf.
6. Cruz, P. S., Andalecio, M. N., Bolivar, R. B., y Fitzsimmons, K. (2008). Ventajas del policultivo tilapia-camarón en la Isla Negros, Filipinas. *AQUA Cultura*, 2014 (100), 38 - 43.
7. Cuéllar, J. (2010) *Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón blanco Penaeus vannamei* [en línea]. Recuperado abril 17, 2017, de <http://aquaticcommons.org/16644/1/86.%20Various%20Institutions.%20MBP%202010%5B1%5D.pdf>

8. Cuéllar, J. (2013). *Vibriosis* [en línea]. Recuperado octubre 10, 2016, de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/vibriosis-in-shrimp-es.pdf>.
9. Cuéllar, J. (2014) *Guía técnica patología e inmunología de camarones penaeidos* [en línea]. Recuperado abril 17, 2017, de <https://es.slideshare.net/TheLolCore/patologia-e-inmunologia-de-camarones-penaeidos-segunda-edicion>
10. Dardón, B. (2015, 21 de abril). Produccion de camarón sale en busca de mercados [en línea]. *Prensa Libre*. Recuperado octubre 10, 2016, de <http://www.prensalibre.com/efectivo/produccion-de-camaron-sale-en-busca-de-mercados>
11. Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., y Bossier, P. (2007). Alternativas para el control de infecciones bacterianas en acuicultura / El caso de la vibriosis luminiscente. *AQUA Cultura*, 2014 (100), 30 - 37.
12. Drake, S. L. (2008). The ecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* from Oyster harvest sites in the Gulf of México. United States: North Carolina State University.
13. Food and Agriculture Organization [FAO]. (2014). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura: Oportunidades y desafíos*. Roma: Autor.
14. Fuentes, A. G. (2013). *La técnica de "agua verde"* [en línea]. Recuperado enero 14, 2017, de <http://blogacuicola.com/?p=3099>
15. Gomez, B., Roque, A., y Soto, S. (s. f.). *Avances en la acuicultura y manejo ambiental* [en línea]. Recuperado octubre 19, 2015, de [http://www.researchgate.net/publication/235636525_Vibriosis_en_camarones_y_su_diagnostico_\(vibriosis_in_shrimp_and_its_diagnosis\)](http://www.researchgate.net/publication/235636525_Vibriosis_en_camarones_y_su_diagnostico_(vibriosis_in_shrimp_and_its_diagnosis))

16. Gómez, G., Roque, A., y Guerra, A. (s. f.). *Enfermedades infecciosas más comunes en la camaricultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos* [en línea]. Recuperado julio 30, 2017, de https://www.researchgate.net/profile/Bruno_Gomez-Gil/publication/229150678_Las_Enfermedades_en_la_Camaricultura/links/09e41509bd22371a4b000000/Las-Enfermedades-en-la-Camaricultura.pdf?origin=publication_detail
17. Hernández, Barraza, C. A. (2011). Evaluación del crecimiento de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) en el policultivo con tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) bajo un sistema de recirculación de agua. *CienciaUat*, 5 (3), 41-45 .
18. Hernández Barraza, C., Loredó, J., Adame, J., y Fitzsimmons, K. M. (2012). Efecto de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre el crecimiento del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), en un sistema de policultivo secuencial. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40 (4): 936 – 942.
19. Herzberg, M. Z. (2016). Uso de probióticos y biorremediadores en el cultivo de camarón. *Revista Panorama Acuícola*, 80.
20. Holdridge, L. (1975). *Zonas de vida ecológicas de Guatemala: Memoria explicativa*. Guatemala: Dirección General de Recursos Renovables.
21. Kubitza, F. (2013). *Nutrición y sanidad en el cultivo de tilapia*. Argentina: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
22. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación [MAGA]. (2014). *Perfil comercial camarón* [en línea]. Recuperado enero 14, 2017, de <http://web.maga.gob.gt/download/perfil%20camaron.pdf>
23. Morales, M. (2004). Cultivo de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, aldea el Salitrillo, Municipio de Pasaco, depto. de Jutiapa, Guatemala. Seminario T. A. Universidad de San Carlos de Guatemala [USAC].

24. Navarro, A. V. (19 de julio de 2014). Síndrome de la Mortalidad Temprana MS/AHPNS) en camarones cultivados: Una revisión [en línea]. Recuperado febrero 8, 2017, de https://www.researchgate.net/publication/282942291_Sindrome_de_la_Mortalidad_Temprana_EM_S_AHPNS_en_camarones_cultivados_Una_revision.
25. Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE]. (2013). *Acute hepatopancreatic necrosis disease* [en línea]. Recuperado enero 14, 2017, de <http://www.oie.int/doc/ged/D14023.PDF>
26. Panorama Acuícola. (2009). *Vibriosis en la acuicultura del camarón* [en línea]. Recuperado febrero 13, 2015, de http://www.panoramaacuicola.com/articulos_y_entrevistas/2009/03/23/vibriosis_en_la_acuicultura_del_camaron.html
27. Rao, V. (s. f.) *Vibriosis en la acuicultura del camarón* [en línea]. Recuperado agosto 4, 2015, de <http://www.mvd.sld.cu/doc/pescayacuicultura/vibriosis-en-la-acuicultura-del-camaron.pdf>
28. Rojas, A., Haws, M. y Cabanillas, J. (2005) *Buenas Prácticas de manejo para el cultivo de Camarón* [en línea]. Recuperado febrero 15, 2017, de http://www.crc.uri.edu/download/PKD_good_mgt_field_manual.pdf
29. Rosario, M. del, Torre, H. de la, Reyes, D., y Muñoz, M. (s. f.). *Presencia de actividad antimicrobiana en el mucus del pez chame *Dormitator latifrons**. Ecuador: ESPOL.
30. Santana, J. M. (2014). *Evaluación de la concentración de los grupos de fitoplancton: Diatomeas, cianofitas y dinoflagelados y su relación con los parámetros físicoquímicos, en las aguas del río Estero Real, período junio-noviembre 2013* [en línea]. Recuperado octubre 4, 2016, de <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/189464/2/TESIS%20FINAL%20EVALUACION%20FITOPLANCTONICA.pdf>
31. Santiago, M., Espinosa, A., y Bermúdez, M. (2009). Uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 40 (32), 22 – 32.
32. Southeast Asian Fisheries Development Center [SEAFDEC]. (2007). *Info tips on mangrove-friendly shrimp farming*. Filipinas: InfoTips.

33. Soto, S., Gómez, B., Lozano, R., Betancourt, M., y Morales, M. (2015). Pruebas de campo muestran que *Vibrio parahaemolyticus* es el agente causal de la AHPND en camarones de cultivo de Noroeste de México. *Panorama acuícola*, 20 (6), 8 - 13.
34. Tendencia, E. A., y Peña, M. R. de la. (2010). Effect of different sizes of saline red tilapia hybrid *Oreochromis niloticus* Linnaeus x *O. mossambicus* Peters on the growth of luminous bacteria *Vibrio harveyi*. *Phillip Agric Scientist*, 93 (4), 463-467.
35. United States Department of Agriculture [USDA]. (s. f.). *Manual para el diagnóstico de enfermedades del camarón* [en línea]. Recuperado octubre 19, 2015, de <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/DIAGNOSTICOENFCAMARONUSDA.pdf>
36. Vallejos, S. V. (s.f.). *Guía de consulta-diversidad vegetal-facena (UNNE)*. [en línea]. Recuperado octubre 15, 2016, de <http://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/estudio%20ALGAS.pdf>.

11. ANEXO

| | [vibrio Fermentador] | | [vibrio no fermentador] | | [Total Vibrio] | [Total Vibrio] |
|-----|-----------------------|---------------|--------------------------|---------------|----------------|----------------|
| Día | tratamiento 0 | tratamiento 1 | tratamiento 0 | tratamiento 1 | tratamiento 0 | tratamiento 1 |
| 0 | 400 | 195 | 335 | 230 | 735 | 425 |
| 4 | 680 | 400 | 340 | 925 | 1020 | 1325 |
| 11 | 80 | 500 | 400 | 650 | 480 | 1150 |
| 21 | 490 | 65 | 215 | 70 | 705 | 135 |
| 27 | 650 | 550 | 975 | 310 | 1625 | 860 |

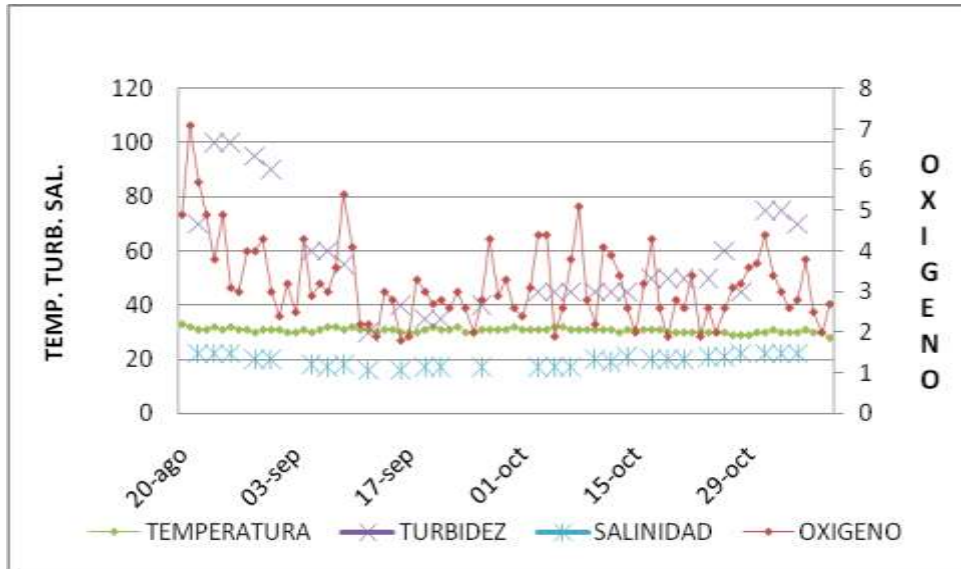
Anexo No. 1. Muestras de *Vibrio* spp. en agua de cultivo sembradas en agar TCBS (Trabajo de campo, 2016)

| Día | Tratamiento | Cel/ml Chlorophytas | Cel/ml Diatomeas | Cel/ml Cianophytas |
|-----|-------------|---------------------|------------------|--------------------|
| 0 | T0 | 17,500 | 16,000 | 125 |
| 0 | T1 | 33,750 | 35,425 | 0 |
| 7 | T0 | 18,625 | 15,375 | 125 |
| 7 | T1 | 33,000 | 30,375 | 125 |
| 14 | T0 | 19,375 | 16,750 | 750 |
| 14 | T1 | 34,250 | 31,000 | 125 |
| 21 | T0 | 26,500 | 24,125 | 125 |
| 21 | T1 | 46,875 | 37,125 | 375 |
| 28 | T0 | 21,125 | 23,750 | 125 |
| 28 | T1 | 44,250 | 37,000 | 0 |

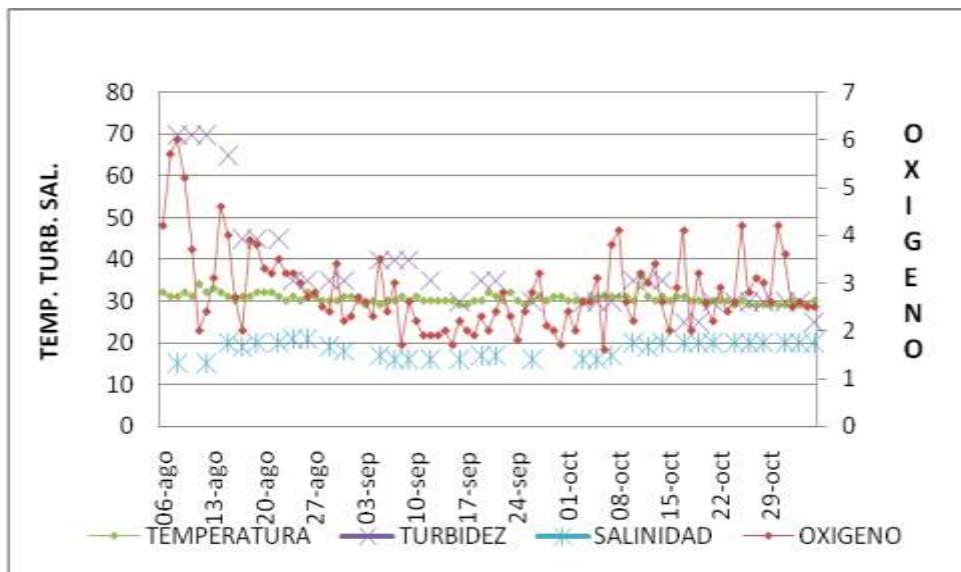
Anexo No. 2. Especies de microalgas y concentración (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos. T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia. (Trabajo de campo, 2016)

| Hypothesis Test: Paired Observations | |
|--------------------------------------|---|
| 0.000 | hypothesized value |
| 20,625.000 | mean tratamiento 0 |
| 38,425.000 | mean tratamiento 1 |
| -17,800.000 | mean difference (tratamiento 0 - tratamiento 1) |
| 3,797.203 | std. dev. |
| 1,698.161 | std. Error |
| 5 | N |
| 4 | Df |
| -10.48 | T |
| .0005 | p-value (two-tailed) |

Anexo No. 3. Análisis estadístico con el programa MegaStat 2007. De la concentración de Chlorophytas (cel/mL) en el agua de los dos tratamientos. T0= control, monocultivo de camarón. T1= policultivo experimental camarón – tilapia. (Trabajo de campo, 2016)



Prarametros ciclo B T0



Prarametros ciclo B T1

Anexo No. 4. Parámetros de cultivo Acuamaya S.A. Ciclo B (Trabajo de campo, 2016)

Para la preparación de 400 mL de agua se utilizó la siguiente metodología:

- Medir 200 mL de agua de agua desmineralizada
- Medir 200 mL de agua salada
- Pesar 35.6 gr de agar TCBS
- Posteriormente colocar la mezcla en baño maría calentar hasta ebullición y hervir de 1 a 2 minutos.
- Distribuir en placas de Petri estériles.

Anexo No. 5. Preparación de Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa TCBS
de acuerdo a las instrucciones del fabricante

- Medir 200 mL de agua desmineralizada para 15 gramos de CHROMagar™ Vibrio.
- Poner a calentar en baño María hasta el punto de ebullición, secar y dejar que se ponga tibio.

Anexo No. 6. Preparación de CHROMagar™ Vibrio, de acuerdo
a las instrucciones del fabricante