



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS DE GRADO

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *VIBRIO SPP* EN NAUPLIOS Y
LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A**

AUTOR

Alvarado Domínguez Kelly Elizabeth

DIRECTOR DE TESIS

DR. WALTER BRIONES PACHECO, M.SC

GUAYAQUIL - ECUADOR

2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TESIS DE PREGRADO

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *VIBRIO SPP* EN NAUPLIOS Y
LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

ÁREA DE PRODUCCIÓN

AUTOR

Alvarado Domínguez Kelly Elizabeth

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Walter Briones Pacheco, M.Sc

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNA**

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **BRIONES PACHECO WALTER**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE VIBRIO SPP EN NAUPLIOS Y LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A”** realizado por la estudiante **ALVARADO DOMINGUEZ KELLY ELIZABETH**; con cédula de identidad N° **0930943204** de la carrera **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA** Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Walter Briones Pacheco

Guayaquil, 25 de Agosto del 2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE VIBRIO SPP EN NAUPLIOS Y LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A**”, realizado por la estudiante ALVARADO DOMINGUEZ KELLY ELIZABTEH, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Mvz. Llaguno Lazo Glenda, M.Sc.
PRESIDENTE

Dra. Mieles Soriano Gloria, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Dr. Briones Pacheco Walter, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Dr Arcos Alcivar Fabricio, M.Sc.
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 15 de Agosto del 2020.

DEDICATORIA

A Dios quien ha sido guía en todo momento, quien ha cuidado de mí y de familia a lo largo de mi vida.

A mi madre quien me ha dado su amor y apoyo incondicional, ha confiado en mis capacidades, enaltecido mis fortalezas y me ha ayudado a llegar a mis metas.

A mi abuela que, aunque no esté conmigo físicamente, hizo de mí una niña segura y con ganas de llegar alto siempre superándome a mi misma.

A mi enamorado, que no ha permitido que baje los brazos y quien me ha brindado su mano de formas infinitas y desinteresada.

A mi tutor quien hizo esto posible, confió en esta investigación y en mis capacidades.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Wanbri S.A y su equipo, quien prestó sus instalaciones para la realización de este estudio.

A los docentes que me tuvieron bajo su tutela, quienes han corregido con grandes aciertos, haciendo de este trabajo, salga mejor de lo esperado.

AUTORIZACIÓN DE AUTORÍA INTELECTUAL

Yo Kelly Elizabeth Alvarado Domínguez, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE VIBRIO SPP EN NAUPLIOS Y LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A**” para optar el título de **Médico Veterinario y Zootecnista**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, Agosto 15 del 2020

Kelly Elizabeth Alvarado Domínguez

C.I. 0930943204

CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR	3
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	4
DEDICATORIA	5
AGRADECIMIENTO	6
AUTORIZACIÓN DE AUTORÍA INTELECTUAL	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICES DE FIGURAS.....	12
Resumen	13
Abstract.....	14
APROBACIÓN DEL ABSTRACT	15
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1. Antecedentes del problema	16
1.2. Planteamiento y formulación del problema	18
1.2.1. Planteamiento del problema de investigación:	18
1.2.2. Formulación del problema	19
1.3. Justificación de la investigación	19
1.4. Delimitación de la investigación	20
1.5. Objetivo general	21
1.6. Objetivos específicos	21
1.7. Hipótesis	21
2. Marco teórico.....	22
2.1. Estado del arte.....	22
2.2. Bases teóricas.....	22
2.2.1. Avances en la Acuicultura y manejo ambiental.....	22
2.2.2. Efecto de <i>Vibrio harveyi</i> en la sobrevivencia de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i>	23
2.2.3. Efecto de la temperatura sobre la susceptibilidad del camarón blanco <i>Penaeus vannamei</i> a <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	25
2.3. Bases teóricas.....	25
Microbiología veterinaria	26
Bacteriología veterinaria.....	26
Método microbiológico	27
Medios de cultivos.....	27

2.3.1. Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología	28
2.3.2. Camarón análisis en fresco, herramienta de diagnóstico.	29
Importancia de parámetros productivos.....	29
Temperatura.....	29
pH	30
Salinidad	30
Oxígeno.....	31
2.4. Marco legal.....	32
3. Materiales y Métodos	34
3.1 Enfoque de la investigación	34
3.1.1 Tipo de investigación.....	34
3.1.2. Diseño de investigación	34
3.2 Metodología	34
3.2.1 Variables	34
3.3. Recursos	35
3.4. Materiales y equipos	36
3.5. Métodos y técnicas.....	38
TCBS.....	39
Chromagar Vibrio	39
3.6. Población y muestra.....	43
3.7. Análisis estadístico.....	43
4. Resultados.....	44
4.1. Identificación especies de Vibrios mediante agares TCBS y Chromagar Vibrio para el diagnóstico de Vibriosis.	44
4.2. Evaluación el contaje de UFC/ml en cultivo de larvas de diferentes estadios de <i>Litopenaeus vannamei</i> post tratamiento.....	46
4.3. Establecer los factores de riesgos asociados a la presencia de Vibriosis	49
5. Discusión	50
6. Conclusiones.....	53
7. Recomendaciones	53
8. Referencias.....	55
9. Anexos	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificar especies de Vibrios en PL.....	44
Tabla 2. Identificar especies de Vibrios en Nauplio.....	45
Tabla 3. Identificar especies de Vibrios en Agua.....	45
Tabla 4. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 1 en agar TCBS ..	46
Tabla 5. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 1 en agar Chromagar Vibrio	46
Tabla 6. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 5 en agar TCBS ..	47
Tabla 7. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 5 en agar Chromagar Vibrio	47
Tabla 8. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 7 en agar TCBS ..	48
Tabla 9. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 7 en agar Chromagar Vibrio	48
Tabla 10. Medidas de tendencia central de la variable temperatura estanque 1	49
Tabla 11. Medidas de tendencia central de la variable oxigeno estanque 1	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 12. Medidas de tendencia central de la variable pH estanque 1	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 13. Medidas de tendencia central de la variable temperatura estanque 2	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 14. Medidas de tendencia central de la variable oxigeno estanque 2	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 15. Medidas de tendencia central de la variable pH estanque 2	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 16. Medidas de tendencia central de la variable temperatura estanque 3	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 17. Medidas de tendencia central de la variable oxigeno estanque 3	¡Error! Marcador no definido.

Tabla 18. Medidas de tendencia central de la variable pH estanque 3 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 19. Medidas de tendencia central de la variable temperatura estanque 4 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 20. Medidas de tendencia central de la variable oxígeno estanque 4 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 21. Medidas de tendencia central de la variable pH estanque 4 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 22. Medidas de tendencia central de la variable temperatura estanque 5 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 23. Medidas de tendencia central de la variable oxígeno estanque 5 **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 24. Medidas de tendencia central de la variable pH estanque 5 **¡Error! Marcador no definido.**

ÍNDICES DE FIGURAS

Anexo 1 realización de barrido en una placa	59
Anexo 2 realización de diluciones	59
Anexo 3 colocación de muestra	60
Anexo 4 toma de Oxígeno y pH.....	60
Anexo 5 agares utilizados para muestreo	61
Anexo 6 recolección de muestra de larvas.....	61
Anexo 7 muestras diluidas	62
Anexo 8 recepción de muestras de agua	62
Anexo 9 registro de parámetros	63
Anexo 10 observación de crecimiento de colonias en medios de cultivos	63

Resumen

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la presencia de *Vibrios spp en larvas de camarón*. Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio Wanbri S.A., entre los meses Febrero y Marzo del año 2020. Se seleccionaron dos tipos de cultivos, donde se realizó el análisis de agua, nauplios y larvas de *Litopenaeus vannamei*, y se observó el crecimiento de colonia, para lo cual se llevó el registro de varios factores importantes en la línea como T°, oxígeno, pH, y salinidad. Se tomaron muestras de 5 tanques de agua en pre y post tratamiento, muestras de nauplios y muestras en fases larvales del PI 1 a PI 7. Las técnicas de siembra utilizados en el cultivo fueron, 10^{-1} en el Agar Chromagar Vibrio y 10^{-4} en el Agar TCBS, obteniendo crecimiento en todas las fases analizadas, distinguiendo por coloración el género de Vibrio. Los Vibrios que se presentaron en el Agar TCBS fueron el *Vibrio Parahaemolyticus* con colonias color verde y *Vibrio Cholerae* con colonias color amarillas, obteniendo 0% de *Vibrio Harveyi*, descartando la luminiscencia. En el Agar Chromagar Vibrio, se presentó el *Vibrio Alginolyticus* con colonias color cremas o incoloras, el *Vibrio Vulnificus* con colonias color celestes y finalmente el *Vibrio Parahaemolyticus* con colonias color lila. Se consideró también el conteo de las UFC/ml y aunque varios géneros de Vibrios se presentaron, los resultados no fueron significativos para la determinación del diagnóstico de Vibriosis, confirmando la ausencia de la enfermedad.

Palabras clave: Enfermedad, *Litopenaeus vannamei*, cultivo, Vibrio, Vibriosis.

Abstract

This research work aims to determine the presence of *Vibrios* spp in shrimp larvae. This research was carried out in The Wanbri S.A. Laboratory, between the months of February and March of the year 2020. Two types of crops were selected, where the analysis of water, nauplios and larvae of *Litopenaeus vannamei* was carried out, and the growth of the colony was observed, for which the record of several important factors in the line was kept, such as T °, oxygen, pH, and salinity. Samples were taken from 5 water tanks in pre and post treatment, samples of nauplios and samples in larval stages from PI 1 to PI 7. The sowing techniques used in the cultivation were, 10^{-1} in the Chromagar Vibrio Agar and 10^{-4} in the TCBS Agar, obtaining growth in all the analyzed phases, distinguishing the *Vibrio* genus by coloring. The *Vibrios* that were presented in the TCBS Agar were *Vibrio Parahaemolyticus* with green colonies and *Vibrio Cholerae* with yellow colonies, obtaining 0% of *Vibrio Harveyi*, ruling out luminescence. In the Chromagar Vibrio Agar, *Vibrio Alginolyticus* with cream or colorless colonies, *Vibrio Vulnificus* with light blue colonies and finally *Vibrio Parahaemolyticus* with lilac colonies, were presented. The UFC/ ml count was also considered and although several genuses of *Vibrios* were presented, the results were not significant for the determination of the diagnosis of Vibriosis, confirming the absence of the disease.

Key words: Disease, *Litopenaeus Vannamei*, Culture, *Vibrio*, Vibriosis



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL ABSTRACT

Yo, **EVANGELISTA TORRES WASHINGTON ALEJANDRO**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de ENGLISH TEACHER, **CERTIFICO** que he procedido a la **REVISIÓN DEL ABSTRACT** del presente trabajo de titulación: “**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *VIBRIO SPP* EN NAUPLIOS Y LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*, EN WANBRI S.A.**” , realizado por la egresado **ALVARADO DOMINGUEZ KELLY ELIZABETH**; con cédula de identidad N° 0930943204 de la carrera **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**, de la **UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**, el mismo que cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente;

Ing. WASHINGTON EVANGELISTA MSc,
Docente de inglés
wevangelista@uagraria.edu.ec

Guayaquil, 24 de Agosto del 2020

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes del problema

Una de las actividades productivas de mayor desarrollo ha sido el cultivo de camarón, el cual es exportado a diferentes mercados como Estados Unidos, Europa y otros. El Ecuador tuvo sus inicios en los años 1958 – 1959 en la provincia del El Oro, siendo los pioneros, los señores Alfonso Grunauer, Robinson Serrano y Jorge Káiser. (Silva, 2014)

El Ecuador es muy rico naturalmente, es el principal exportador de varios productos pesqueros y agrícolas entre los cuales destacan: banano, atún, tilapia, camarón, plátano, entre otros. Los peneidos es uno de los recursos marinos más rentables y con gran demanda del mercado, en el Ecuador representa el segundo de exportación detrás del petróleo. (Silva, 2014).

Los camarones peneidos en cultivos, son afectados por varias enfermedades causadas por agentes infecciosos como virus, bacterias, hongos y parásitos. Sin embargo, el incremento de enfermedades también depende de los cambios en las condiciones ambientales y los desequilibrios nutricionales. (Yunga , 2014)

Dentro de estos, quizás las menos comprendidas son las ocasionadas por bacterias y en especial las ocasionadas por bacterias extracelulares, para las que muchos aspectos de su patogénesis permanecen desconocidos. (Perez, Nuñez, Villagomez, & Rubio, 2014)

En camarones, la Bacteriología nos ayuda a cuantificar la cantidad y el tipo de las bacterias presentes en órganos u otros tejidos de nauplios, larvas y postlarvas, así como en el agua o en las instalaciones del cultivo. (Almanza, Barracco, & Lightner, 2015)

Los métodos de identificación utilizados se basan en técnicas bioquímicas y moleculares. La técnica bioquímica se fundamenta en el aislamiento de bacterias en medios de cultivo específicos para los distintos géneros y cepas (agares TCBS, Marino, entre otros). La herramienta molecular RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) se fundamenta en la secuenciación de nucleótidos de fragmentos del genoma de las bacterias. Estos fragmentos son amplificados y visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa (Centro nacional de acuicultura e Investigaciones marinas, 2018).

Por su parte, (Lightner, Redman, Pantoja, & Schofield, 2015) menciona que el 60% de las patologías que se presentan en la acuicultura del camarón están vinculadas con virus y 20% a bacterias; el restante se distribuye entre hongos y parásitos

Las bacterias del género *Vibrio*, se han reportado a menudo como patógenas oportunistas para camarón, tanto en la fase de larvicultura como en engorde. En cada una de estas etapas algunos *Vibrios* se han perfilado como más frecuentes, de esta manera se ha reconocido la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. damsela*, principalmente en estanques de engorda de camarón, así como de *V. harveyi* y *V. splendidus* se han detectado mayormente en el cultivo larvario. (Gil, 2015)

La Vibriosis se puede definir como una enfermedad ocasionada por bacterias del género *Vibrio* en organismos acuáticos. Esto, por consiguiente, también es válido para infecciones ocasionadas por este género en camarones, independientemente del estadio de desarrollo de éstos. (FAO, s.f)

1.2. Planteamiento y formulación del problema

1.2.1. Planteamiento del problema de investigación:

En el Ecuador, hasta la fecha no es consciente de la manera en que las enfermedades bacterianas pueden perjudicar gravemente a los cultivos de camarón, y el gran impacto económico que este acarrea. La rápida ampliación y la industrialización del sector camaronero, son causas por las cuales la mayoría de los patógenos se han ido movilizando desde su lugar de origen a otras regiones (Anjel, 2013).

Es por esto que resulta de gran importancia implementar monitoreo y métodos de diagnóstico como microbiología o herramientas moleculares como el PCR que se ha presentado como buena alternativa para determinar las distintas enfermedades que se pueden presentar en la acuicultura en el Ecuador. (Oviedo, 2014)

Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en el laboratorio. El agar en la microbiología es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo, los cuales deben estar exentos de todo microorganismo contaminante para facilitar la identificación, crecimiento y desarrollo de otros microorganismos que crecen en sustancias alimenticias artificiales preparadas en laboratorios, denominados cultivo. (Bou, Fernandez-Olmos, García, Sáez-Nieto, & Valdezate, 2015)

Por otra parte (Moss, Arce, & Lightner, 2016) mencionan que pese a la importancia económica del camarón de cultivo, la industria mundial sigue infestada de enfermedades. Existe un sin número de estrategias que un

productor de camarones puede emplear para moderar el daño de cultivos por plagas, incluido el uso de específico libre de patógenos (SPF), camarones criados de manera selectiva y la adopción de prácticas de bioseguridad en la granja.

Actualmente existen más de 10.000 medios de cultivo diferentes, cada uno con nutrientes y factores de crecimiento necesarios, que, aunque tengan muchas y diferentes condiciones, como humedad, temperatura, oxígeno, aislamiento, alcalinidad y más, tienen como objetivo principal, el desarrollo y crecimiento de las bacterias. (Bou, Fernandez-Olmos, García, Sáez-Nieto, & Valdezate, 2015)

1.2.2. Formulación del problema

¿Cuál es el impacto de la presencia de *Vibrios* en cultivos de *Litopenaeus vannamei* en sus diferentes estadios y que podemos implementar para la detección o prevención de enfermedades?

1.3. Justificación de la investigación

El diagnóstico de la situación actual y la identificación de la carga bacteriana que interviene en el desempeño de la producción de camarones, es de mucha relevancia para las mejoras en el manejo de la producción. Es por esto que este estudio recalca la alta incidencia de esta enfermedad en el sector, siendo de mucha utilidad para la industria pecuaria.

Dentro de las enfermedades de origen bacteriano, destacan las Vibriosis ocasionadas por bacterias patogénicas y oportunistas encontradas en el agua y en sedimento, así como en la microbiota intestinal de los camarones (Redman & Lightner, 2017).

Hace 30 años, no estaban disponibles las oportunidades de capacitación formal, ante las enfermedades. La vibriosis que afecta al cultivo del camarón marino se han convertido en un problema económico de proporción global. Entre las patologías que afectan al Peneido, las de origen bacteriano y viral son las que más afectan a los animales cultivados, nos mencionan (Redman & Lightner, 2017)

En un estudio realizado por (Berry, Park, & Lightener, 2015) nos indican que en camarones importados de China, Ecuador y México obtenidos en mercados mayoristas y minoristas previamente congelados, se presentaron resistencias a antibióticos de *Vibrio* spp.

El tratamiento más común usado para los camarones sospechosos de estar infectados con *Vibrio* spp. se basa, principalmente, en el uso de antibiótico. Pero también se reporta que una alternativa para combatir las Vibriosis y que ha demostrado ser eficaz en los estudios realizados es la utilización de medidas preventivas como los métodos de diagnóstico. (Chavez, 2016)

Es por esta misma razón que (OIE, 2019) menciona que en los sitios de producción acuícola se debe considerar las interrupciones dentro del ciclo, ya que el reposo y restauración del medio ambiente son generalmente muy útiles para la producción. El vacío sanitario interviene en los ciclos de infección constante, eliminando las fuentes de una enfermedad en un criadero.

1.4. Delimitación de la investigación

Con la finalidad de evaluar los procesos que se llevaron a cabo en el laboratorio se establecerá el método de diagnóstico de cultivo bacteriano.

- **Espacio:** El proyecto se implementará en el laboratorio Wanbri S.A ubicado en Mar Bravo, península de Santa Elena
- **Tiempo:** el plazo estimado será de 2 meses
- **Población:** Se utilizará larvas de camarón sembradas en Nauplios proveniente de una maduración comercial

1.5. **Objetivo general**

Determinar la presencia de *Vibrio spp.* En medios de cultivos selectivos en nauplios y larvas de *Litopenaeus vannamei*.

1.6. **Objetivos específicos**

- Identificar especies de *Vibrios* mediante agares TCBS y Chromagar *Vibrio* para el diagnóstico de Vibriosis.
- Evaluar el conteo de UFC/ml en cultivo de larvas de diferentes estadios de *Litopenaeus vannamei* post tratamiento.
- Establecer los factores de riesgos asociados a la presencia de Vibriosis.

1.7. **Hipótesis**

La implementación de procedimientos microbiológicos en el cultivo de camarones provocaría un gran impacto y aminoraría posibles pérdidas económicas en la industria pecuaria.

2. Marco teórico

2.1. Estado del arte

Mediante la implementación de métodos de diagnóstico en los laboratorios, se permite conocer la importancia de la utilización de estos en la identificación de patógenos con la finalidad de mejorar la productividad y calidad del producto final.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Avances en la Acuicultura y manejo ambiental

(Gomez, Roque, & Soto, 2016) Autores del capítulo ocho “Vibriosis en camarones y su diagnóstico” nos indican que:

En camarones de granja (cultivo de engorda) la vibriosis puede diagnosticarse presuntivamente, además de los signos macroscópicos anteriormente descritos, si los organismos tienen niveles de bacterias en la hemolinfa superiores a 10^3 UFC ml^{-1} y las colonias en agar TCBS son muy similares (baja diversidad) predominando una o dos tipos de colonias de un solo color o de dos colores pero en éste caso, una es más abundante; pueden ser o no luminiscentes. En el caso de que haya una diversidad de colonias más elevada, entonces es necesario considerar los resultados obtenidos en el análisis del hepatopáncreas. Si éstos valores son superiores a 10^5 UFC g^{-1} , probablemente haya una vibriosis; y si éstos son inferiores, es poco probable. En el caso que los valores en hemolinfa sean inferiores a 10^3 UFC ml^{-1} pero altos en hepatopáncreas (>) y la diversidad sea baja, probablemente tengamos una vibriosis; pero si la diversidad es alta, entonces es poco probable. Organismos sanos, o al menos sin vibriosis, podría considerarse aquellos en los que no hay

presencia de vibrios (cero colonias en TCBS) en la hemolinfa y los niveles en hepatopáncreas sean inferiores a 10^5 UFC g^{-1} pero con alta diversidad colonial.

(Gomez, Roque, & Soto, 2016) nos dan a conocer que los *vibrios* son un conjunto de bacterias oportunistas que ocasionan infecciones a los seres acuáticos del cultivo, la vibriosis es la enfermedad que estos causan, y es de las más frecuentes en la siembra de camarones peneidos.

La vibriosis puede presentarse o no dependiendo las UFC que se presenten en el medio de cultivo (TCBS), para esto es necesario evaluar los órganos que indicarán si esto es relevante o no, si las colonias son de alta o baja densidad presentes en la hemolinfa, determinará si son o no luminiscentes. En caso de que haya una variedad de colonias podríamos considerar los resultados que hayamos obtenido del análisis del hepatopáncreas, dependiendo si estos son elevados, indicaran que hay vibriosis, caso contrario, habrá ausencia de la enfermedad.

2.2.2. Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*

(Aguirre, López, & Vázquez, Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*, 2014) en su artículo de revista denominado: “Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*” nos indican que:

Los nauplios del grupo control y los infectados con *V. harveyi* (10^3 y 10^5 UFC/ml) presentaron sobrevivencias significativamente mayores al ser comparados con sus homólogos que fueron infectados a una dosis de 10^7

UFC/ml. Siendo el grupo control quien presentó la sobrevivencia mayor (Figura 1). Los subestadios desde Z I hasta M II que fueron infectados con una dosis de 10^3 UFC/ml no presentaron una sobrevivencia significativamente diferente ($p < 0,05$) al ser comparados con el grupo control (Figura 1). Sin embargo, los subestadios de Z I hasta M II, que fueron infectados con una dosis de 10^5 o 10^7 UFC/ml, tuvieron una sobrevivencia significativamente menor ($p < 0,05$) en comparación con sus homólogos del grupo control.

(Aguirre, López, & Vázquez, Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*, 2014) Mencionan que la producción de camarón es uno de los productos de mayor consumo en la alimentación humana, pero los cambios que se han implementado en el medio artificial de estos cultivos, son los que promueven al crecimiento de múltiples bacterias. Los *Vibrios* son bacterias que crecen con normalidad en los camarones peneidos, pero así mismo son oportunistas, es por esta razón que pueden ocasionar un sin número de enfermedades generando importantes pérdidas económicas en la producción.

En el presente estudio diferentes subestadios larvarios y postlarva fueron expuestos a tres dosis altas de *V. harveyi* por inmersión para determinar la variación en la sensibilidad de estos. En donde las larvas tuvieron una baja sobrevivencia en las dosis más altas, pero así mismo se observó que a medida que iba aumentando la edad de los animales, generaba más resistencia a dicha bacteria.

2.2.3. Efecto de la temperatura sobre la susceptibilidad del camarón blanco

Penaeus vannamei a *Vibrio parahaemolyticus*.

(Rivera & Domínguez, 2016) indican en su artículo denominado: “Efecto de la temperatura sobre la susceptibilidad del camarón blanco *Penaeus vannamei* a *Vibrio parahaemolyticus*” que:

La presencia de Vibriosis afectó la supervivencia de larvaria. La infección fue ocasionada debido a que el manejo de salud en la larvicultura no se realizó de forma convencional, también se atribuye a que los tratamientos térmicos a los que fueron sometidos los animales estaban por encima (33°C) y por debajo (27°C) del rango óptimo. Las colonias Luminiscentes se cuantificaron a partir del estadio larval mysis III.

(Rivera & Domínguez, 2016) Mencionan que estudios realizados con anterioridad, demuestran que las elevadas temperaturas reducen la respuesta inmune del camarón, ocasionando un incremento en su sensibilidad a cepas patógenas de *Vibrios*.

En este estudio demuestran que tan susceptibles son nuestros cultivos si no se manejan correctamente, y concluyen que incluso manteniendo las temperaturas por encima de 33°C disminuye la resistencia a la contaminación por *V. parahemolyticus*.

2.3. Bases teóricas

En el cultivo del camarón existen muchas enfermedades causadas por distintos tipos de bacterias las cuales han sido causa de grandes pérdidas económicas para productores en todo el mundo, algunas de las más importantes son: Vibriosis, septicemia bacteriana, enfermedad de la macula oscura, NHP, entre

otros. Dentro de las enfermedades más comunes en nuestro país: la enfermedad de la Vibriosis causadas por las bacterias del genero Vibrio (Jawahar & Debasis , 2010)

En la acuicultura se preocupan no solo de la aparición de bacterias patógenas sino también a la dispersión debido a las escasas medidas profilácticas y de diagnóstico. La gran parte de las técnicas empleadas e investigaciones de laboratorios para diagnosticar enfermedades en camarones peneidos, han sido acopladas a la metodología tradicional usada en la industria pecuaria. (Pozo, 2012)

Microbiología veterinaria

La Microbiología veterinaria permite conocer bacterias y microbios que afectan directamente a los animales y los que afectan al hombre por el contacto directo con los animales. (Acha & Szyfres, 2016)

La microbiología veterinaria consiste en la profilaxis y el control de todos los agentes etiológicos para los cuales se establecen las medidas higiénicas sanitarias a fin de evitar la propagación de los microorganismos en los diferentes medios que puedan contribuir su hábitat, además se prioriza la atención directa a los animales para así prevenir las diferentes enfermedades que puedan causarles determinados microbios, esto conlleva al control de los diferentes agentes etiológicos la cual se realiza mediante la puesta en práctica de medidas contra-epizoóticas y el empleo de la inmunización ante aquellas enfermedades que lo permitan. (Beer, 2014)

Bacteriología veterinaria

La Bacteriología veterinaria limita su estudio a las bacterias como agentes etiológicos de muchas de las enfermedades infecciosas en los animales; está

incluida dentro del campo de la microbiología, esta última es la rama científica de la biología que estudia todo tipo de microbios o microorganismos vivos y no visibles a simple vista, lo que es necesario el uso del microscopio óptico o del electrónico. Entre los microorganismos se encuentran los protozoos, los hongos, las algas, las bacterias y los virus. (Soto & Morán, 2015)

Método microbiológico

Los vibrios son habitantes naturales del agua salobre y salada a nivel mundial. La enfermedad intestinal humana se ha asociado con el consumo de agua y mariscos contaminados. (Varela & Alfaro, 2018). El *Vibrio cholerae* es el agente etiológico de una diarrea secretora (cólera), que se propaga mediante la ingestión de agua y alimentos contaminados y por la vía fecal-oral. Otras varias especies de *Vibrios*, por ejemplo, *V. parahaemolyticus* y *V. fluvialis*, son la causa de gastroenteritis aguda. Además, varias especies de *Vibrios*, por ejemplo, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* y *V. damsela* se asocian con las infecciones extraintestinales, tales como infecciones de lesiones, septicemia, meningitis entre otras. Se ha demostrado que las infecciones de lesiones con *Vibrio* ocurren en especial si los pacientes tuvieron contacto con agua salada y salobre. (Briñez, Aranguren, & Salazar, 2013)

Medios de cultivos

Es un medio con nutrientes y condiciones necesarios para el desarrollo de microorganismos, usualmente se usan cajas Petri con el agar para el cultivo.

En microbiología diagnóstica existen cuatro tipos, según su utilidad:

(Cuevas, 2016)

Nutritivos: Permiten el desarrollo de la mayoría de los microorganismos, por ser comunes. Por ejemplo, el agua de peptona.

De enriquecimiento: abarca componentes complementarios para permitir el desarrollo de microorganismos exigentes, que no crecerían en un medio universal.

Selectivos: Contiene cierto componente que impide el desarrollo de microorganismos indeseados. Esto provoca que el microorganismo que se desea cultivar lo crezca con mayor facilidad.

Diferenciales: Contienen sustancias que ponen de manifiesto alguna característica de la especie o grupo de microorganismos.

2.3.1. Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología

Según (Morales-Covarrubias, 2016) en su artículo “Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología” nos indica que:

Las bacterias principalmente las del género *Vibrio*, son consideradas como patógenos oportunistas, localizadas principalmente en el tracto digestivo, branquias y cutícula de camarones penaeidos y ocasionalmente en hemolinfa, ya que, en presencia de otros factores estresantes, pueden desencadenar el desarrollo de infecciones en los organismos tales como Vibriosis, hepatopáncreas edematoso y necrótico con un alto grado de vacuolización en las células B en larvicultura y engorde. Este tipo de bacterias causa infecciones letales al interactuar con factores nutricionales, bióticos, abióticos, genéticos e inmunológicos.

2.3.2. Camarón análisis en fresco, herramienta de diagnóstico.

Nos indica: (Morales-Covarrubia, 2008) en su artículo: . Camarón análisis en fresco, herramienta de diagnóstico. Sobre la Vibriosis que:

El proceso infeccioso se presenta cuando las bacterias logran acceder al interior del organismo, se supone que una de las rutas naturales para ello, es a través del intestino medio y se extiende a los demás órganos vía hemolinfa, causando inicialmente lesiones tales como hepatopáncreas edémico y un alto grado de vacuolización de las células epiteliales de este órgano, terminando en una vibriosis sistémica.

Importancia de parámetros productivos

Temperatura

En un cultivo de camarones peneidos, la temperatura es uno de los parámetros más observados debido a la facilidad con que este se puede registrar, esto viene siendo uno de las principales limitantes de una serie de procesos biológicos y velocidad de reacciones químicas internos del organismo. (Aliaga, Miranda, & Zevallos, 2017)

Los camarones son animales poiquiloterms, es decir que su temperatura se asimila a la del medio ambiente. La variación de la temperatura ambiental tiene efectos profundos sobre su crecimiento, tasa de alimentación y metabolismo de los camarones, estando sujetas sus actividades (locomoción, alimentación, crecimiento, respiración, excreción, etc.) y supervivencia de estos organismos a la temperatura prevaleciente del medio. (Rodriguez , Lazareno, & Espinoza, 2017)

Al camarón, así como otros poiquiloterms, se les facilita el modo de vida, por vivir en el medio acuático, ya que la gran masa de agua de un estanque podría

propiciar un ambiente térmico particularmente estable. Los camarones presentan una zona restrictiva de tolerancia térmica y temperatura letal característica, que puede ser variada mediante la aclimatación experimental o por adaptación a largo plazo al hábitat con diferente límite térmico. La faja térmica de los camarones de aguas de clima tropical está comprendida entre 25-30 °C. (Bermudes, Nieves, & Roman , 2017)

pH

el pH es la medida de concentración de acidez (iones de Hidrógeno) en las piscinas. En la cría de camarones u otros animales acuáticos, la variación del pH en el agua fluctúa diariamente. Ello se debe a varias razones, pero, en primer lugar, el dióxido de carbono producido por los organismos acuáticos cuando respiran tiene una reacción ácida en el agua. El pH en la cría de los camarones aumenta igualmente durante el día a medida que el fitoplancton y otras plantas acuáticas eliminan el CO₂ del agua durante la fotosíntesis. Por otra parte, el pH disminuye durante la noche debido a la respiración y la producción de CO₂ por parte de todos los organismos. (Kubita, 2017)

Estudios científicos demuestran que el rango óptimo de pH del agua en el estanque de camarones debe oscilar entre 7.8 a 8.5. Por ende, resulta fundamental que los productores de camarón estabilicen el pH en este rango. Para obtener la mejor calidad de agua, la fluctuación máxima del pH diurno no debe exceder de 0.5. Es vital mantener un pH estable en un rango seguro ya que afecta al metabolismo y otros procesos fisiológicos del camarón.

Salinidad

la salinidad juega un rol importante en el rendimiento del cultivo de camarón marino. A menor salinidad el rendimiento es menor. El cultivo de camarón marino

a baja salinidad es una tendencia que continúa creciendo en todo el mundo. (Campos, 2015)

Oxígeno

Casi todos los procesos biológicos y químicos necesitan de oxígeno y sus concentraciones deben ser lo suficientemente adecuadas para mantener un ambiente saludable de crianza para el camarón. Los niveles críticos de oxígeno disuelto en el agua del estanque que están relacionados directamente con el bienestar o salud del camarón son: desde 0 - 1.0 mg/l, letal; 1 - 1.5 mg/l., letal con exposición prolongada; 1.7 -3.0 mg/l., pobre conversión alimenticia, crecimiento lento, disminución de la resistencia a las enfermedades si continúan expuestos. Al incrementar la temperatura, el camarón tiene que reponer mediante la ingesta de más alimento, la energía gastada con el incremento del metabolismo (más gasto en la respiración, locomoción, proceso de muda) afectando otra vez como en el caso de la temperatura su crecimiento y a la vez el factor de conversión alimenticia. El aumento de la respiración por efecto del incremento de la temperatura también hace que disminuya el oxígeno en el agua mucho más rápido, ocurriendo estrés y muerte de camarones en casos donde bajó el oxígeno por debajo de los rangos considerados de riesgo. (Boyd, 2018)

2.4. Marco legal

Código orgánico Integral Penal (COIP)

Artículo 251.- Delitos contra el agua. –

La persona que, contraviniendo la normativa vigente, contamine, deseque o altere los cuerpos de agua, vertientes, fuentes, caudales ecológicos, aguas naturales afloradas o subterráneas de las cuencas hidrográficas y en general los recursos hidrobiológicos o realice descargas en el mar provocando daños graves, será sancionada con una pena privativa de libertad de tres a cinco años. Se impondrá el máximo de la pena si la infracción es perpetrada en un espacio del Sistema Nacional de Áreas Protegidas o si la infracción es perpetrada con ánimo de lucro o con métodos, instrumentos o medios que resulten en daños extensos y permanentes

La asamblea nacional constituyente: Constitución política de la república del Ecuador

Art. 266.- Será objetivo permanente de las políticas del Estado el desarrollo prioritario, integral y sostenido de las actividades agrícola, pecuaria, acuícola, pesquera y agroindustrial, que provean productos de calidad para el mercado interno y externo, la dotación de infraestructura, la tecnificación y recuperación de suelos, la investigación científica y la transferencia de tecnología.

El Estado estimulará los proyectos de forestación, reforestación, sobre todo con especies endémicas, de conformidad con la ley. Las áreas reservadas a estos proyectos serán inafectables.

Las asociaciones nacionales de productores, en representación de los agricultores del ramo, los campesinos y profesionales del sector agropecuario,

participarán con el Estado en la definición de las políticas sectoriales y de interés social

Art. 270.- El Estado dará prioridad a la investigación en materia agropecuaria, cuya actividad reconoce como base fundamental para la nutrición y seguridad alimentaria de la población y para el desarrollo de la competitividad internacional del país

3. Materiales y Métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Investigación de tipo descriptiva, explicativa

Investigación aplicada: determinar la presencia de *Vibrios* en distintos estadios larvarios de *Litopenaeus vannamei*.

Investigación de campo y laboratorio: el análisis se realizará de las muestras de larvas y del agua en búsqueda de la presencia de *Vibrios*

3.1.2. Diseño de investigación

Estudio no experimental, porque no habrá manipulaciones de variables. Investigación descriptiva en la que se detallarán los hallazgos observados en relación a la presencia de *Vibrios*.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1 Variable dependiente

Presencia de *Vibrios* en distintos estados larvarios según los agares Agar TCBS, Agar Chromagar Vibrio

	DEPENDIENTES		
VARIABLE	TIPO	ESCALA	DESCRIPCION
Presencia de <i>Vibrios</i>	Cualitativa	Si No	Según el crecimiento de colonias

3.2.1.2 Variable independiente

- Especie del *Vibrio*

- Unidades formadoras de colonia
- Temperatura
- Oxígeno
- pH

INDEPENDIENTES			
VARIABLE	TIPO	ESCALA	DESCRIPCIÓN
Especie del Vibrio	Cualitativa	<i>v. alginolyticus</i> <i>v. vulnificus</i> <i>v. parahaemolyticus</i> <i>v. cholerae</i>	De acuerdo a la coloración que se presente en el agar, se determinará la especie de Vibrio.
Unidades formadores de colonias	Cuantitativo	10 ³ - 10 ⁵ UFC/ml	Número de colonias
Temperatura	Cuantitativo	31 °C – 34°C	Según lo indicado por el PEN pH y t°
Oxígeno	Cuantitativo	3.5 – 4.5 mg/lt	De acuerdo a lo indicado por el oxímetro
pH	Cuantitativo	7.0 – 8.5	Según lo indicado por el PEN pH y t°

3.3. Recursos

3.3.1. Recursos humanos:

Docente auspiciante: MVZ. Walter Briones Pacheco, MSc

Investigador: Kelly Alvarado Domínguez

Docente estadístico: Ing. David Octavio Rugel González

Personal del laboratorio: Wanbri S.A

3.3.2. Recursos económicos:

Los gastos resultantes de la investigación serán cubiertos parcialmente por la investigadora.

3.4. Materiales y equipos

3.4.1. Materiales de laboratorio

3.4.1.1. Para agua:

- Asas
- Mecheros
- Papel toalla
- Pipetas de 100µl y 1ml
- Puntas de 100µl y 1ml
- Frascos de muestras
- Agares (Chromagar Vibrio, TCBS)
- Cajas Petri desechables
- Sostenedores de azas
- Bandejas recolectoras
- Marcador
- Guantes
- Alcohol
- Incubadora
- Cámara de incubación
- Muestras de agua

3.4.1.2. Para Nauplios:

- Mecheros
- Azas
- Pipetas de 100 μ l
- Puntas de 100 μ l
- Eppendorf
- Solución salina
- Agares (Ca y TCBS)
- Sostenedores de azas
- Muestras de nauplios
- Palillos
- Coladores
- Bandejas recolectoras
- Marcador
- Agua
- Alcohol
- Agua autoclavada
- Incubadora

3.4.1.3. Para larvas:

- Asas
- Mecheros
- Tijeras
- Pipetas de 100 μ l
- Puntas de 100 μ l
- Eppendorf

- Solución salina
- Agares (Chromagar Vibrio, TCBS)
- Sostenedores de azas
- Muestras de larvas
- Palillos
- Coladores
- Bandejas recolectoras
- Marcador
- Guantes
- Agua destilada
- Alcohol
- Incubadora
- Cámara de incubación

3.4.1.4. Materiales de oficina

- Hojas papel bond
- Computadora
- Impresora

3.5. Métodos y técnicas

3.5.1. Metodología de muestreo

Las muestras se recolectaron de los tanques pertenecientes al mismo laboratorio, llevadas a tanques que se cuente con la disponibilidad o se las llevaba hasta el área de microbiología, en donde fueron receptadas y procesadas.

3.5.2. Análisis de Laboratorio

3.5.2.1. Preparación de agares

TCBS

- Se pesa 8,7 gramos Agar TCBS, 0,5 gramos de bacto agar y 1 gramo de CNa para preparar 100ml.
- En un beacker de 100 ml se agrega agua destilada
- se agrega lo que pesamos con anterioridad y con una varilla de vidrio agitamos hasta disolver el agar cuidando que no se pegue.
- Se procede a llevar a la hornilla eléctrica
- En el momento que empieza a hervir, el agar TCBS va a subir para evitar que esto suceda lo retiramos del fuego y lo dejamos enfriar hasta los 50°C.
- El agar enfriado hasta 50°C, está listo para ser depositado a las cajas Petri de vidrio o plástico.
- Guardamos las cajas de agar en la refrigeradora hasta su uso.

Chromagar Vibrio

- Se pesa 7,47 gramos Agar Chromagar y 2 gramos de CNa para preparar 100ml.
- En un beacker de 100 ml se agrega agua destilada
- se agrega lo que pesamos con anterioridad y con una varilla de vidrio agitamos hasta disolver el agar cuidando que no se pegue.
- Se procede a llevar a la hornilla eléctrica
- En el momento que empieza a hervir, el agar va a subir para evitar que esto suceda lo retiramos del fuego y lo dejamos enfriar hasta los 50°C.

- El agar enfriado hasta 50°C, está listo para ser depositado a las cajas Petri de vidrio o plástico.
- Guardamos las cajas de agar en la refrigeradora hasta su uso.

3.5.2.2. Para Agua:

Una vez las muestras fueron receptadas:

1. Se sacan los agares de la refrigeradora a calentar a temperatura ambiente
2. Se preparan los materiales a utilizar (azas, los mecheros, papel toalla, etc.)
3. Se toma las muestras de agua y se empieza a distribuir en los agares según corresponda, 100 µl de muestra en el agar TCBS, y 1ml en el Chromagar Vibrio
4. Se empieza a barrer en orden, priorizando los agares TCBS ya que son los que menos contenido tienen.
5. Se barre hasta sentir fricción, una vez realizado esto, se lleva a incubación a 33°C

3.5.2.3. Para Nauplios:

Una vez las muestras fueron receptadas

1. Se tienen eppendorf con 900µl de solución salina preparados con anterioridad para cuando lleguen las muestras
2. Se va al área a la recolección de los estanques que estén en disponibilidad.

3. Una vez llegan las muestras al laboratorio, se procede a colar los nauplios y se los enjuaga con agua previamente autoclavada.
4. se rotulan las muestras
5. Se procede a sacar los agares a utilizar Ca, TCBS para enfriar y se rotulan dependiendo el número de muestras
6. Se reúnen todos los nauplios con el palillo y se coloca en un eppendorf vacío. Así mismo se tienen eppendorf con solución salina para proceder a la dilución.
7. Se diluye 10^{-1} para los agares Ca y 10^{-2} para TCBS
8. Se preparan los materiales como azas para el barrido de la muestra, mecheros, sostenedores, pipetas, puntas, etc.
9. Se toma de cada una de las muestras de nauplios 100µl, se coloca en el agar TCBS 10^{-2} , mientras que para el agar Ca 10^{-1}
10. Se empieza a barrer cada agar hasta sentir fricción del aza, una vez hecho esto ya está listo y se procede a llevar a incubación a 33°C por 24 horas.

3.5.2.4. Para Larva:

Una vez las muestras fueron receptadas:

1. Se tienen eppendorf con 900µl de solución salina preparados con anterioridad para cuando lleguen las muestras
2. Una vez llegan las muestras al laboratorio, se procede a colar las larvas
3. se rotulan las muestras en tubos eppendorf
4. Se procede a sacar los agares a utilizar TCBS y Chromagar Vibrio para enfriar y se rotulan dependiendo el número de muestras

5. Se reúnen todas las larvas del colador con el palillo y se coloca en un eppendorf vacío. Así mismo se tienen eppendorf con solución salina para proceder a la dilución.
6. Se diluye 10^{-1} para el Chromagar Vibrio y 10^{-4} para TCBS
7. Se preparan los materiales como azas para el barrido de la muestra, mecheros, sostenedores, pipetas, puntas, etc.
8. Se toma de cada una de las muestras de larvas 100µl de la dilución, se coloca en el agar TCBS 10^{-4} , mientras, que para el Chromagar Vibrio 10^{-1}
9. Se empieza a barrer cada agar hasta sentir fricción del aza, una vez hecho esto ya está listo y se procede a llevar a incubación a 33°C por 24 horas.

3.5.2.5. Método para conteo de colonias

- Finalizado el tiempo de incubación, se realizó el recuento.
- Aquellas placas que tuvieron más de 250 colonias se reportan como “INCONTABLES”
- Una vez realizado el conteo se empleó la siguiente fórmula para el reporte

Tabla. Fórmula para conteo de colonias

UFCx FD / VI en ml	
UFC	Unidades formadoras de colonias
FD	Factor de dilución
VI en ml	Volumen del inoculo en ml

Fuente: investigación de campo
Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez,2020

3.6. Población y muestra

Se evaluó un ciclo completo de cultivo que llegó al laboratorio WANBRI S.A, del que se analizaron 5 tanques.

3.7. Análisis estadístico

Para este análisis se tabularon e ingresaron los datos recolectados del muestreo de los diferentes medios de cultivo en hojas de Excel y los resultados serán representados en tablas, gráficos y análisis de ODDS Ratio.

4. Resultados

4.1. Identificación especies de Vibrios mediante agares TCBS y Chromagar

Vibrio para el diagnóstico de Vibriosis.

Tabla 1. Identificar especies de Vibrios en PL

PL		Agar TCBS	Agar Chromagar Vibrio
Muestreo	Descripción de la muestra	Vibrios Cholerae (amarilla)	Vibrios Alginolyticus (cremas)
1	PI 1 TQ1		1752
2	PI 3 TQ2	380	
3	PI 5 TQ 4		654
4	PI 7 TQ 3		785

Fuente: investigación de campo

Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

Según los resultados obtenidos en el estadio post larva, se logró identificar las especies de vibrios con mayor frecuencia en los agares TCBS y Chromagar. Se determinó que dentro del estadio de post larva 1, el Vibrio con mayor presencia fue el Alginolyticus con 1752 colonias, reconocido por su tonalidad celeste en el agar chromagar. Siguiendo con pl 3, el Vibrio Cholerae con 380 colonias en el agar TCBS representado por su tonalidad amarilla. En el estadio post larva 5 con 654 colonias Alginolyticas que se caracterizan por su color crema blanquecina. Mientras que post larva 7 el Vibrio Anginolyticus se presentó con 785 colonias.

Tabla 2. Identificar especies de Vibrios en Nauplio

NAUPLIO		Agar TCBS		Agar Chromagar Vibrio			
Muestreo	Descripción de la muestra	Vibrios parahaemolyticus (verde)	Vibrios Cholerae (amarilla)	Vibrios Alginolyticus (cremas)	Vibrios Vulnificus (celeste)	Vibrios parahaemolyticus (lila)	Total vibrios parahaemolyticus (lila)
	N TQ1	92	2	0	65	34	126
	N TQ2	202	29	152	75	21	223
1	N TQ3	78	367	85	6	10	88
	N TQ4	97	6	624	65	762	859
	N TQ5	48	487	267	541	83	131

Fuente: investigación de campo

Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

La tabla 2 nos indica que el estadio Nauplios del tanque 1, 2 y 4 el Vibrio más frecuente fue el Parahaemolyticus con 126, 223 y 859 respectivamente. Mientras que en el tanque 3 quien resaltó fue el Vibrio Cholerae con 367 colonias y 541 colonias de Vibrio Vulnificus en el estanque 5.

Tabla 3. Identificar especies de Vibrios en Agua

NAUPLIO		Agar TCBS		Agar Chromagar Vibrio			
Muestreo	Descripción de la muestra	Vbrios parahaemolyticus (verde)	Vibrios Cholerae (amarilla)	Vibrios Alginolyticus (cremas)	Vbrios Vulnificus (celeste)	Vbrios parahaemolyticus (lila)	Total vibrios parahaemolyticus (lila)
	AGUA TRATADA	0	0	0	0	0	0
1	AGUA PLAYA	1	0	0	1	0	1

Fuente: investigación de campo

Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

Las especies de Vibrios presentes en el agua de playa fueron la Parahaemolyticus y Vulnificus, con una colonia cada una. Mientras que, en el análisis del agua tratada, no se presentó ningún Vibrio.

4.2. Evaluación el contaje de UFC/ml en cultivo de larvas de diferentes estadios de *Litopenaeus vannamei* post tratamiento.

Tabla 4. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 1 en agar TCBS

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10^4	1	0	0	0	0
10^4	16	0	0	3	13
Total Vibrio Parahaemolyticus	1,00E-01	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Total Vibrio cholerae	1,60E+00	0,00E+00	0,00E+00	3,00E-01	1,30E+00

Fuente: investigación de campo

Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

La Tabla 4 nos muestra el total de vibrios presentes en el estadio PI 1 de los cultivos según sus UFC/ml, mediante la utilización de agar TCBS. Presentándose en el tanque 1 la mayor concentración de *Vibrio Cholerae* y *Parahaemolyticus*.

Tabla 5. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 1 en agar Chromagar Vibrio

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10^1	1752	43	18	175	59
10^1	412	36	4	3	34
10^1	68	0	0	6	14
Total Vibrio Alginolyticus	1,75E+03	4,30E+01	1,80E+01	1,75E+02	5,90E+01
Total Vibrio Vulnificus	4,12E+02	3,60E+01	4,00E+00	3,00E+00	3,40E+01
Total Vibrio Parahaemolyticus	6,80E+01	0,00E+00	0,00E+00	6,00E+00	1,40E+01

Fuente: investigación de campo
Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez,2020

Se realizó el análisis de las UFC/ml en el cultivo de larvas en Estadio PI 1 sembrado en agar Chromagar Vibrio, presentándose un mayor número de colonias alginolyticus, vulnificus y parahaemolyticus en el tanque 1, como nos demuestra la tabla 5.

Tabla 6. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 5 en agar TCBS

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10⁴	0	0	0	0	0
10⁴	1	5	48	6	0
Total Vibrio Parahaemolyticus	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Total Vibrio cholerae	1,00E-01	5,00E-01	4,80E+00	6,00E-01	0,00E+00

Fuente: investigación de campo
Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez,2020

La Tabla 6 nos muestra el total de vibrios presentes en el estadio PI 5 de los cultivos según sus UFC/ml, mediante la utilización de agar TCBS. Presentándose en el tanque 3 la mayor concentración de Vibrio Cholerae.

Tabla 7. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 5 en agar Chromagar Vibrio

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10¹	728	656	156	60	207
10¹	380	168	102	53	41
10¹	18	50	364	152	97
Total Vibrio Alginolyticus	7,28E+02	6,56E+02	1,56E+02	6,00E+01	2,07E+02

Total Vibrio Vulnificus	3,80E+02	1,68E+02	1,02E+02	5,30E+01	4,10E+01
Total Vibrio Parahaemolyticus	1,80E+01	5,00E+01	3,64E+02	1,52E+02	9,70E+01

Fuente: investigación de campo
Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

Se analizó las UFC/ml en el cultivo de larvas en Estadio PI 5 sembrado en agar Chromagar Vibrio, presentándose un mayor número de colonias alginolíticas en el tanque 1, colonias vulnificas en el tanque 1 y colonias parahaemolyticas en el tanque 3, como nos demuestra la tabla 7.

Tabla 8. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 7 en agar TCBS

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10⁴	0	24	0	0	0
10⁴	25	15	0	27	0
Total Vibrio Parahaemolyticus	0,00E+00	2,40E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
Total Vibrio cholerae	2,50E+00	1,50E+00	0,00E+00	2,70E+00	0,00E+00

Fuente: investigación de campo
Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

Se realizó el análisis de larvas de 5 tanques en estadio PI 7, los cuales se identificaron que el Vibrio Parahaemolyticus fue más recurrentes en el tanque 2 y V. Cholerae en el tanque 4 en el agar TCBS como lo indica la Tabla 8.

Tabla 9. Evaluar contaje de UFC/ml en cultivo de larvas PI 7 en agar Chromagar Vibrio

Factor de dilución	TQ 1	TQ 2	TQ 3	TQ 4	TQ 5
10¹	348	236	0	468	201
10¹	708	576	1152	560	345
10¹	256	360	40	228	78
Total Vibrio Alginolyticus	3,48E+02	2,36E+02	0,00E+00	4,68E+02	2,01E+02

Total Vibrio Vulnificus	7,08E+02	5,76E+02	1,15E+03	5,60E+02	3,45E+02
Total Vibrio Parahaemolyticus	2,56E+02	3,60E+02	4,00E+01	2,28E+02	7,80E+01

Fuente: investigación de campo

Elaborado por: Kelly Alvarado Domínguez, 2020

Se realizó el análisis de larvas de 5 tanques en estadio PI 7, en el cual se identificó que la mayor cantidad de Vibrio Vulnificus con 1152 colonias, se presentó en el tanque 3, seguido del Vibrio Alginolyticus con 468 colonias pertenecientes al tanque 4, finalizando con el Vibrio Parahaemolyticus con 360 colonias en el tanque 2 sembradas en el medio de cultivo agar Chromagar Vibrio, como lo indica la Tabla 9.

4.3. Establecer los factores de riesgos asociados a la presencia de Vibriosis

Tabla 10. Medidas de tendencia central de la variable temperatura, oxígeno y pH:

Temperatura	Oxígeno	pH
33.63	3.63	7.7

Una vez obtenidos todos los resultados tomados en los 5 tanques bajo las mismas condiciones, se presenta que la temperatura se mantiene en 33.63. De la misma manera el oxígeno en 3.63 y el pH en 7.7, dichos valores se mantienen dentro del rango recomendado en un ambiente controlado para este tipo de producción, los datos obtenidos para esta variable no presentaron dispersión alguna.

Resultados de significancia del odds Ratio asociado a los factores de riesgo temperatura, oxígeno y pH con el diagnóstico de Vibriosis

Una vez establecidos los factores de riesgos asociados a la presencia de Vibriosis, se pudo determinar que las variables temperatura, oxígeno y pH, se mantuvieron óptimas para la producción. La temperatura siendo una de la más importantes por su rol dentro del crecimiento y desarrollo de los estadios larvarios, puede favorecer al crecimiento bacteriano es por esto que se lleva un control bacteriológico, esta se mantuvo entre 32 a 34°C durante el tiempo de estudio, esta misma temperatura puede favorecer al crecimiento de vibrios, de la misma manera los niveles de oxígeno con un rango de 3.5 – 4.5 mg/lit, finalmente el nivel de pH que se conservó neutro (7.3 – 7.5) resultando el adecuado.

A pesar de que hubo la presencia de Vibrios en los 5 estanques usados para la realización del estudio, ninguna de las variables (temperatura, oxígeno y pH) fue un factor de riesgo probable para la presencia de Vibriosis, ya que en ningún tanque analizado tuvo la suficiente carga bacteriana para determinar que en ellos se presentó la enfermedad (Vibriosis).

5. Discusión

La vibriosis es una enfermedad de tipo bacteriana que afecta gravemente a cultivos de camarones peneidos, tiene implicaciones socio-económicas y de salud pública. El primer punto de detección de esta enfermedad se lo realiza mediante la utilización de pruebas de laboratorio, como microbiología. En el estudio de (Aguirre, Lopez, & Vazquez , Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*, 2013) los signos fuertes de enfermedad generados por la presencia de Vibrios en P11 fueron: lesiones y necrosis en los apéndices, letargia o malformaciones del cuerpo. Las mismas que se presentaron en nuestro estudio, pero en una menor cantidad, estas no

fueron cuantificadas. En el estudio de (Ching & Portal, 2016) realizado en 2 camaronas desde la etapa de cultivo larval hasta los primeros días de cultivo en campo, realizaron un muestreo en PI 5 obtenidas de tanques de cultivos de laboratorio a 30‰ de salinidad, el cultivo microbiológico se realizó a partir de macerados de larvas y colocados en agar TCBS, para posteriormente contar y registrar las UFC, en este análisis obtuvieron los niveles más altos de Vibrios con 442 400 UFC amarillas y 20 933 UFC verdes, a diferencia del presente trabajo en donde también se realizó el cultivo microbiológico, en donde obtuvimos 48 UFC verdes, sin registrar colonias amarillas, manteniendo una salinidad de 33. Los resultados mostrados en mi trabajo a comparación del anteriormente mencionado, se nota una variabilidad muy marcada, esto se debe a el tipo de dilución que se use, ya que a medida que uno vaya adelantando o haciendo mayores diluciones, la carga va a ir disminuyendo en el momento de la siembra, por lo tanto eso es lo que influye para que en el mismo estadio que ellos realizaron, se haya obtenido una mayor carga bacteriana que en mi estudio. Por otro lado, estudios han demostrado que la temperatura y salinidad juegan funciones importantes en la ocurrencia del Vibrio Cholerae. (Leyton & Riquelme, 2017) mencionan, en general, los vibrios tienden a ser más comunes en aguas cálidas, en particular cuando las temperaturas exceden los 17°C, tomando en cuenta la manipulación y control de la temperatura y salinidad de la producción acuícola, determinamos que la ocurrencia de este Vibrio es asociado y favorecido a la temperatura productiva que se mantiene superior a los 25°C. sin embargo (Rodriguez, Gomez, & Rivas, 2014) en su estudio titulado **“Evaluación de la presencia de Vibrio parahaemolyticus en camarón blanco (Litopenaeus vannamei) silvestre estuarino en el sur de Sinaloa y norte de**

Nayarit, mediante análisis microbiológico y PCR” registraron los parámetros de salinidad y temperatura, observando que las temperaturas más elevadas se obtuvieron en los meses de mayo a agosto de 29.9 a 34.5°C estando involucrados en el desarrollo de la bacteria (*V. Parahaemolyticus*) ya que durante estos meses se presentó esta bacteria en las muestras analizadas de camarón blanco (*Litopenaeus Vannamei*). Nuestros datos coinciden con lo reportado por la (FAO, 2016) quienes mencionan que las infecciones por *V. Parahaemolyticus* y *V. Vulnificus* se relacionan con los cambios físicos, químicos y biológicos. se mantuvo la misma temperatura sin embargo no hubo presencia de la bacteria en las mismas cantidades.

6. Conclusiones

Se concluye que en el agar TCBS se observaron colonias de *Vibrio Parahaemolyticus* y *Vibrio Cholerae*, aunque estuvieron presentes, no fueron lo significativo para determinar el diagnóstico de Vibriosis, el agar Chromagar Vibrio se presentaron colonias de *Vibrios Alginolyticus*, *Vibrio Vulnificus* y *Vibrio Parahaemolyticus*, pero de igual manera su crecimiento no determinó la presencia de la enfermedad.

El estadio en el que más se presentaron colonias fue PI1 con 24 colonias amarillas en el Tanque 1, y 27 colonias verdes en el Tanque 4. En el medio de cultivo Chromagar Vibrio, el que más presentó colonias alginolíticas fue en PI1, Tanque 1 con 1752 colonias cremas, vulnificas en PI1 con 412 colonias color celeste, y finalmente parahaemolíticas con 364 colonias lilas del Tanque 3.

De acuerdo a los factores de riesgo establecidos el de mayor importancia sin dudar es la temperatura, ya que esta puede no solo brindar el ambiente propicio a nuestro cultivo, sino también beneficiar al crecimiento de *Vibrios* en distintas especies.

7. Recomendaciones

Considerando que la prevención y control es uno de los aspectos más importantes dentro de la producción, se recomienda la implementación de métodos de diagnóstico de enfermedades, en los laboratorios y camaroneras del sector pecuario.

Los niveles de temperatura se mantuvieron dentro de los valores óptimos durante todo el ciclo de cultivo, aun así, favoreciendo al crecimiento de *vibrios*, se

recomienda que en la próxima investigación se evalúe los niveles mínimos o máximos que permite alcanzar la producción para conocer más sobre el desarrollo de esta enfermedad.

La importancia de evaluar no solo el agua en el que serán sembrados los nauplios, y las larvas en sus diferentes estadios, sino también incluir en el análisis, la alimentación, algas, artemias, etc, que están involucrados en la producción acuícola.

8. Referencias

- Acha, P., & Szyfres, B. (2016). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 1(580), 161 - 165.
- Aguirre, G., Lopez, E., & Vazquez, M. (2013). Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Scientia Agropecuaria*, 4, 121 - 127.
- Aliaga, R., Miranda, J., & Zevallos, J. (2017). Aislamiento e identificación de *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 en pescados y moluscos bivalvos procedentes de un mercado pesquero de Lima, Perú. *Aquatic*, 21(3).
- Almanza, M. J., Barracco, M. A., & Lightner, D. (2015). Patología e inmunología de camarones penaeidos. (V. Morales, & J. Cuéllar, Edits.) II, 18.
- Anjel, J. C. (Agosto de 2013). Identificación de bacterias del género *Vibrio*. *The center for food security and public health*, 1 - 4. Recuperado el 7 de Septiembre de 2019
- Arzola, J. (2013). Supervivencia de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a diferentes salinidades y temperaturas. *SciELO*, 3 - 6.
- Beer, J. (Junio de 2014). Bacterias causantes de enfermedades por alimento. *Microbiología Veterinaria*, 16 - 22.
- Bermudes, F., Nieves, M., & Roman, C. (diciembre de 2017). Efecto de la temperatura y salinidad en el crecimiento larval de *Litopenaeus vannamei*. *Biología marina y oceanografía*, 52(3), 611 - 615.
- Berry, T., Park, D., & Lightner, D. (2015). Comparison of the Microbial Quality of Raw Shrimp from China, Ecuador, or Mexico at Both Wholesale and Retail Levels. *PudMed*.
- Bou, G., Fernandez-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J., & Valdezate, S. (2015). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 601 - 608.
- Boyd, C. (2018). Dinámica del oxígeno disuelto. *Global Aquaculture*, 3.
- Briñez, B., Aranguren, F., & Salazar, M. (2013). Fecal samples as DNA source for the diagnosis of Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP) in *Penaeus vannamei* broodstock. *Diseases of Aquatic organisms*, 55(69), 72.
- Camacho, J. (2019). Supervivencia y respuesta inmunitarias de juveniles *Litopenaeus vannamei* mejorados genéticamente infectados con *Vibrio* sp. y *Pseudomonas* sp. *Redalyc*, 5 - 9.
- Campos, M. (2015). Variables físico-químicas y biológicas del agua de cría. 4.
- Cárcamo, N. (2014). Efecto de la temperatura sobre la actividad de los mecanismos del sistema inmune en *Litopenaeus vannamei* inoculados con WSSV. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2 - 3.

- Centro nacional de acuicultura e Investigaciones marinas. (2018). *Microbiología*. Santa Elena, Ecuador. Recuperado el 7 de Septiembre de 2019
- Chavez, J. (2016). Vibriosis en el camaron blanco. *Scielo*, 7 - 10.
- Ching, C., & Portal, V. (2016). Control de bacterias *Vibrio* spp. en larvas del camaron marino mediante el uso de agua con baja salinidad. *Nicovita*, 5.
- Cuevas, L. B. (2016). Patógenos que afectan en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*. *Redalyc*, 40 - 41.
- FAO. (2016). Evaluación del riesgo de *Vibrio vulnificus* en las ostras crudas . 56 - 58.
- FAO. (s.f). Evaluación de riesgos de *Vibrio* spp. en pescados y mariscos. 6.
- Gil, B. G. (Septiembre de 2015). Bacteriología de camarones. 11 - 19.
- Gomez, B., Roque, A., & Soto, S. (2016). Vibriosis en camarones y su diagnóstico. (A. Ruiz, C. Berlanga, & M. Betancourt, Edits.) *AquaCultura*.
- Jawahar, A., & Debasis, S. (2010). Influence of Salinity and Management Practices on the Shrimp (*Penaeus monodon*) Production and Bacterial Counts of Modified Extensive Brackishwater Ponds. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9(91), 98.
- Kubita, F. (2017). El parámetro de calidad del agua a menudo ignorado: pH. *Global Aquaculture*, 4.
- Leyton, Y., & Riquelme, C. (2017). Vibrios en los sistemas marinos costeros. *biología marina y oceanografía*, 3(43), 441-456.
- Lightner, D., Redman, R., Pantoja, C., & Schofield, P. (2015). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *PubMed*, 35 - 36.
- López, K. (2014). Evaluación del riesgo microbiológico a *Vibrio* spp. en alimentos de origen marino en México. *Scielo*, 56(3), 2-4.
- Morales, V. (2008). Incidencia de *Vibrio* en los diferentes estadios de cultivo de camaron blanco (*Penaeus vannamei*) en un laboratorio de producción de larva en la Paz. *Redalyc*, 23 - 29.
- Morales-Covarrubia, M. (2008). Camarón análisis en fresco. (V. Rodas, Ed.) 117 - 134.
- Morales-Covarrubias, M. (2016). Enfermedades Bacterianas. *Scielo*, 119 - 120.
- Moss, S., Arce, D., & Lightner, D. (2016). The role of selective breeding and biosecurity in the prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. *PudMed*, 7.

- Mugnier, C. (2013). Evaluación de los parámetros biológicos, fisiológicos, inmunológicos y nutricionales en camarones *Litopenaeus stylirostris* afectados por vibriosis. *AquaCultura*, 27 - 30.
- OIE. (2019). Vacío sanitario en acuicultura. Cap. 4.6; Art. 4.6.1.
- Osorio, L. (2019). *Vibriosis en camarón blanco del pacífico Penaeus vannamei*, 2 - 3.
- Oviedo, J. (2014). Acuicultura de camarones y ambiente. *Investigación y Ciencia*, 16.
- Peña, N. (2015). Vibrios en los sistemas marinos costeros. *Scielo*, 26(1), 2 - 3.
- Peña, N. (2016). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Scielo*, 4.
- Perez, L., Nuñez, J. F., Villagomez, D., & Rubio, M. (2014). Inocuidad bacteriológica en camarón para exportación. *Veterinaria México*, 36(4), 411 - 423.
- Pozo, J. (2012). Analisis microbiologico y caracterizacion de poblaciones bacterianas en sistemas de engorde de camaron durante un ciclo de cultivo. *Redalyc*, 2 - 3.
- Redman, R., & Lightner, D. (2017). Opportunities for training in shrimp diseases. *PudMed*, 14.
- Rivera, R., & Domínguez, C. (2016). Efecto de la temperatura sobre la susceptibilidad del camarón blanco *Penaeus vannamei* a *Vibrio parahaemolyticus*. *Scielo*, 10.
- Rodriguez , R., Lazareno, M., & Espinoza, L. (2017). Temperatura optima y preferencia termica del camaron de rio *Macrobrachium tenellum* en la costa tropical del pacifico mexicano. 3.
- Rodriguez, J., Gomez, E., & Rivas, A. (2014). Evaluación de la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) silvestre estuarino en el sur de Sinaloa y norte de Nayarit, mediante análisis microbiológico y PCR. *Biociencias*, 11.
- Rosado, A. (2018). Resistencia antimicrobiana de bacterias del género vibrio en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) en centros de cultivos en la región Tumbes. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 6 - 7.
- Silva, H. (2014). Fenotipo de cepas de vibrio aisladas de la hemolinfa. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 13-15.
- Soto, M., & Morán, M. (Junio de 2015). Temperatura controlada en tanques de larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Aquacultura*, 8.

- Suárez, M. (2015). Distribución de *Vibrio* spp. en agua y sedimentos de estanques productores de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Red de Revistas Científicas de América Latina*, XXV(4), 293 - 299.
- Varela, A., & Alfaro, R. (2018). Review on pharmacological aspects to be considered for the use of antibiotics in shrimp farming. 29(1), 38.
- Yunga , J. (2014). Análisis Biológicos en el Cultivo del Camarón *Litopenaeus Vannamei*. *Redalyc*, 7 - 12.

9. Anexos

Anexo 1 realización de barrido en una placa



Anexo 2 realización de diluciones



Anexo 3 colocación de muestra



Anexo 4 toma de Oxígeno y pH



Anexo 5 agares utilizados para muestreo



Anexo 6 recolección de muestra de larvas



Anexo 7 muestras diluidas



Anexo 8 recepción de muestras de agua



Anexo 9 registro de parámetros

LABORATORIO Y CAMARONERA WANBRI S.A
CONTROL DIARIO DE PARAMETROS

Fecha: 14/05/2020

DÍA	TEMPERATURA (GRADOS)												ALUMINIO (ppm)			
	02:00	04:00	06:00	08:00	10:00	12:00	14:00	16:00	18:00	20:00	22:00	24:00	02:00	04:00	06:00	08:00
1	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
2	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
3	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
4	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
6	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
7	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
8	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
9	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
10	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
11	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
12	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
13	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
14	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
15	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
16	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
17	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
18	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
19	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35
20	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	35	35	35	35

Responsable Datos: DAVIDY CASTROBA - GARCIA

Anexo 10 observación de crecimiento de colonias en medios de cultivos

