



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

**EVALUACIÓN DE LA ACLIMATACIÓN DE *Artemia  
franciscana* y *A. parthenogenetica* UTILIZADAS EN EL  
MERCADO ECUATORIANO**

**TESIS DE GRADO**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la  
obtención del título de  
**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**AUTOR  
LECARO MENDOZA HELLEN ALEJANDRA**

**TUTOR  
DR. BRIONES PACHECO WALTER MSc**

**GUAYAQUIL-ECUADOR**

**2021**



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

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

Yo, Dr. Walter Briones Pacheco, MSc., docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACLIMATACIÓN DE *ARTEMIA FRANCISCANA* Y *A. PARTHENOGENÉTICA* UTILIZADAS EN EL MERCADO ECUATORIANO”**, realizado por la egresada LECARO MENDOZA HELLEN ALEJANDRA; con cédula de identidad N°0951651009 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,

---

**Dr. Walter Briones Pacheco, MSc.**

DIRECTOR DE TESIS

Guayaquil, 28 de marzo del 2021.



**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: “**EVALUACIÓN DE LA ACLIMATACIÓN DE *ARTEMIA FRANCISCANA* Y A. *PARTHENOGENÉTICA* UTILIZADAS EN EL MERCADO ECUATORIANO**”, realizado por la egresada LECARO MENDOZA HELLEN ALEJANDRA, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

\_\_\_\_\_  
Dr. Yoong Kuffó Washington, M.Sc

**PRESIDENTE**

\_\_\_\_\_  
Ing. Rugel González Octavio, MPC  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

\_\_\_\_\_  
Dr. Briones Pacheco Walter, M.Sc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

Guayaquil, 10 de junio del 2021

## **Dedicatoria**

A Dios por su amor y misericordia que me da vida, salud, entendimiento, me conforta y me fortalece.

A la memoria de mi bisabuelo Pablo Orrala y abuelos Washington Lecaro y Emilio Mendoza. Sin duda alguna nos merecíamos más tiempo, abrazos, conversaciones, consejos y momentos juntos, más el tiempo que compartimos y sus enseñanzas son recuerdos que atesoro en mi mente y en mi corazón.

A mi mamá Mariuxi Mendoza por ser mi fortaleza, ejemplo a seguir y guía, esto no sería posible sin tu apoyo incondicional, compañía y amor. Te admiro y te amo.

## **Agradecimiento**

A mis hermanos Mauricio y Ariel por su compañía y amor, son mi mayor fuente de inspiración y alegría, los amo.

A mi Tita por ser la mejor maestra que he tenido, gracias por sus enseñanzas y cariño, y a mi abuelita Violeta por todos sus cuidados y paciencia.

A mis tíos Ubaldo Mendoza y Washington Lecaro, por su confianza y apoyo.

Al Sr. Alejandro Bosso y la Sra. Clara Terán por su apoyo y consideración con mi familia, y a sus maravillosas hijas María Clarita y Amy por convertirse en las hermanas que siempre quise tener.

A mi enamorado Daniel Alvarado, por motivarme a seguir mis sueños, por sus consejos, ayuda y paciencia. Gracias amor.

A mis amigos Ericka Quinatoa, Jhony Jarrín, Andrés García y Valeria Caiza por las alegrías y tristezas compartidas durante estos años de estudio y por hacer mejores y más divertidos los días en la universidad, tienen todo mi afecto y consideración.

A mi tutor Dr. Walter Briones por compartir sus conocimientos, confianza y apoyo para culminar este trabajo de investigación.

A la Universidad Agraria del Ecuador, en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y sus docentes por enseñar con dedicación y profesionalismo.

Al Laboratorio y camaronera Wanbri S.A. y a su personal por la oportunidad y predisposición.

### **Autorización de Autoría Intelectual**

Yo Hellen Alejandra Lecaro Mendoza, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre **“EVALUACIÓN DE LA ACLIMATACIÓN DE ARTEMIA FRANCISCANA Y A. PARTHENOGENÉTICA UTILIZADAS EN EL MERCADO ECUATORIANO”** para optar el título de **MEDICO 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, 28 marzo del 2021

---

HELLEN ALEJANDRA LECARO MENDOZA  
C.I. 0951651009

## Índice general

PORTADA.....	1
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN.....	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento.....	5
Autorización de Autoría Intelectual.....	6
Índice general.....	7
Índice de tablas.....	10
Índice de figuras.....	11
Resumen.....	12
Abstract.....	13
1. Introducción.....	15
1.1. Antecedentes del problema.....	17
1.2. Planteamiento y formulación del problema.....	19
1.2.1. Planteamiento del problema.....	19
1.2.2. Formulación del problema.....	19
1.3. Justificación e importancia del estudio.....	19
1.4. Delimitación de la investigación.....	19
1.5. Objetivo general.....	20
1.6. Objetivos específicos.....	20
1.7. Hipótesis.....	20
2. Marco teórico.....	21
2.1. Estado del arte.....	21
2.2. Bases teóricas y científicas.....	23
2.2.1. Clasificación sistemática.....	23
2.2.2. Artemia.....	23
2.2.2.1. Distribución geográfica.....	23
2.2.2.2. Alimentación.....	24
2.2.2.3. Contenido nutricional.....	24
2.2.3. Características morfológicas.....	25
2.2.4. Estadios.....	26
2.2.5. Ciclo de vida.....	27
2.2.6. Modalidades reproductivas.....	28

2.2.6.1.	Reproducción ovovivípara.....	28
2.2.6.2.	Reproducción ovípara.....	28
2.2.7.	Características de los cistos.....	29
2.2.8.	Parámetros físico-químicos para eclosión de quistes de artemia en laboratorio.....	30
2.2.9.	Criterios de calidad de Artemia.....	31
2.2.9.1.	Porcentaje de eclosión.....	31
2.2.9.2.	Eficiencia de eclosión.....	32
2.2.9.3.	Biomasa.....	32
2.2.9.4.	Tasa de eclosión.....	32
2.2.9.5.	Calidad bacteriológica.....	33
2.3	Marco Legal.....	33
3.	Materiales y métodos.....	36
3.1.	Enfoque de la investigación.....	36
3.1.1.	Tipo de investigación.....	36
3.1.2.	Diseño de investigación.....	36
3.2.	Metodología.....	36
3.2.1.	Variables.....	36
3.2.1.1.	Variable independiente.....	36
3.2.1.2.	Variable dependiente.....	36
3.2.1.3.	Operacionalidad de las variables.....	37
3.2.2.	Metodología de la investigación.....	38
3.2.2.1.	Localización del estudio.....	38
3.2.3.	Población y muestra.....	38
3.2.4.	Recolección de datos.....	38
3.2.4.1.	Recursos.....	38
3.2.4.2.	Métodos y técnicas.....	39
3.2.5.	Análisis estadístico.....	45
4.	Resultados.....	46
4.1.	Estimación de la cantidad de nauplios de artemia a través del periodo de incubación y porcentaje de eclosión.....	46
4.2.	Determinación cuantitativa de cepas de <i>Vibrio sp.</i> en artemia.....	47
4.3.	Evaluación de la aclimatación según la marca, procedencia, género, % de eclosión y presencia de <i>Vibrio sp.</i> .....	49
5.	Discusión.....	52
6.	Conclusiones.....	56



7. Recomendaciones .....	57
8. Bibliografía .....	59
9. Anexos .....	64

## Índice de tablas

Tabla 1. Variables dependientes e independientes .....	37
Tabla 2. Características de las cepas que crecen en Agar TCBS .....	44
Tabla 3. Estimación del porcentaje de eclosión de <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> .....	46
Tabla 4. Eficiencia eclosión de <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> .....	47
Tabla 5. Cuantificación de colonias de <i>Vibrio sp.</i> en agar TCBS .....	47
Tabla 6. Cuantificación de UFC/ml de <i>Vibrio sp.</i> en agar TCBS.....	48
Tabla 7. Comparación del porcentaje de eclosión obtenido con los valores referenciales de cada marca. ....	49
Tabla 8. Comparación de la eficiencia de eclosión obtenida con los valores referenciales de cada marca. ....	49
Tabla 9. Evaluación de artemia según la procedencia. ....	50
Tabla 10. Evaluación de artemia según el género y especie.....	51

## Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo del procesamiento de <i>Artemia sp.</i> .....	64
Figura 2. Estimación del porcentaje de eclosión de <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> . .....	65
Figura 3. Eficiencia eclosión <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> . ...	65
Figura 4. Cuantificación de UFC/ml de <i>Vibrio sp.</i> en agar TCBS.....	66
Figura 5. Comparación del porcentaje de eclosión obtenido con los valores referenciales de cada marca. ....	66
Figura 6. Comparación de la eficiencia de eclosión obtenida con los valores referenciales de cada marca. ....	67
Figura 7. Evaluación del porcentaje de eclosión de <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> según la procedencia.....	67
Figura 8. Evaluación de la eficiencia de eclosión de <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> según la procedencia.....	68
Figura 9. Evaluación del porcentaje, eficiencia de eclosión y UFC/ml en <i>Artemia franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> . ....	68
Figura 10. Área de artemia: Área de siembra y área de cosecha. ....	69
Figura 11. Parte del proceso de desencapsulación: Decapsulación, agitación y enjuague. ....	69
Figura 12. Toma de parámetros con el oxigenómetro. ....	70
Figura 13. Observación al microscopio de diferentes estadios de artemia durante el periodo de incubación. ....	70
Figura 14. Preparación de agar TCBS. ....	71
Figura 15. Técnica de barrido del macerado de artemia sobre la superficie del agar con asa de vidrio. ....	71
Figura 16. Muestras colocadas en la incubadora. ....	72
Figura 17. Observación de crecimiento de colonias en Agar TCBS. ....	72

## Resumen

La artemia es un organismo primitivo, de fácil aclimatación debido a su eficiente sistema osmorregulatorio que le permite realizar cambios fisiológicos compensatorios en función de las modificaciones del medio en que se encuentre. Se considera imprescindible en la dieta de fases larvales de peces y crustáceos, debido a su alto valor nutricional en cuanto a proteínas, carbohidratos, pigmentos carotenoides y lípidos en concentraciones variables. Es un recurso de elevado valor económico, resultados variables y susceptible a contaminación con patógenos que podrían afectar al cultivo, por esto se requiere estandarizar procesos, y medir la efectividad de los mismos para mejorar la productividad y rentabilidad, ya que generalmente se realizan de forma empírica. En este estudio se evaluó a *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenetica* mediante la cuantificación de *Vibrio sp* en agar TCBS y estimación del porcentaje y eficiencia de eclosión, siendo esta última especie superior en los dos primeros criterios. En *Artemia franciscana* clase A, B, y C y *Artemia parthenogenética* se estimó el porcentaje de eclosión (85.05%; 49.74%; 38.86%; 81.89%) y eficiencia de eclosión (189.812,77; 134.828,19; 99.118,95; 195.585,90 nauplios/gramo); se evaluó cada una de las marcas en cuanto a presencia de *Vibrio sp* siendo la marca E la que mayor carga bacteriana tuvo, al comparar los resultados obtenidos con los valores referenciales de cada marca se determinó que la marca A obtuvo resultados superiores a los esperados, mientras que respecto a la procedencia, la Artemia del Lago Eeyty/Ulzhay obtuvo un mayor porcentaje de eclosión (88.19%) y la artemia procedente del Gran Lago Yarovoye la mayor eficiencia de eclosión (211.453,74 n/g).

**Palabras clave:** *Artemia Franciscana*, *Artemia Parthenogenética*, Eficiencia de Eclosión, Porcentaje de Eclosión, *Vibrio sp*.

## Abstract

Artemia is a primitive organism, easily acclimatized due to its efficient osmoregulatory system that allows it to make compensatory physiological changes depending on the changes in the environment in which it is found. It is considered essential in the diet of the larval stages of fish and crustaceans, due to its high nutritional value in terms of proteins, carbohydrates, carotenoid pigments and lipids in variable concentrations. It is a resource of high economic value, variable results and susceptible to contamination with pathogens that could affect the crop, for this it is necessary to standardize processes, and measure their effectiveness to improve productivity and profitability, since they are generally carried out in an empirical manner. In this study, *Artemia franciscana* and *Artemia parthenogenetica* were evaluated by quantifying *Vibrio* sp on TCBS agar and estimating the percentage and hatching efficiency, the latter species being superior in the first two criteria. In *Artemia franciscana* class A, B, and C and parthenogenetic *Artemia*, the hatching percentage (85.05%; 49.74%; 38.86%; 81.89%) and hatching efficiency (189812.77; 134828.19; 99118.95; 195585.90 nauplii / gram) were estimated; Each of the brands was evaluated in terms of the presence of *Vibrio* sp, being brand E the one with the highest bacterial load, when comparing the results obtained with the reference values of each brand it was determined that brand A obtained results superior to those expected. while regarding the origin, the *Artemia* from Lake Eeyty / Ulzhay obtained a higher percentage of hatching (88.19%) and the brine shrimp from Great Lake Yarovoye the highest hatching efficiency (211453.74 n / g).

**Keywords:** *Artemia Franciscana*, *Artemia Parthenogenetica*, Hatching

Efficiency, Hatching Percentage, *Vibrio* sp.



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

**APROBACIÓN DEL ABSTRACT**

Yo, WASHINGTON EVANGELISTA TORRES, 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: **“EVALUACIÓN DE LA ACLIMATACIÓN DE ARTEMIA FRANCISCANA Y A. PARTHENOGENÉTICA UTILIZADAS EN EL MERCADO ECUATORIANO”** realizado por el estudiante **LECARO MENDOZA HELLEN ALEJANDRA**; con cédula de identidad N° 0951651009 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, 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 Torres MSc.**

wevangelista@uagraria.edu.ec

Guayaquil, 18 de Marzo del 2021

## 1. Introducción

La artemia es un crustáceo filtrador no selectivo de gran adaptabilidad y distribución cosmopolita, su alimentación se basa en materia orgánica particulada inferior a 50  $\mu\text{m}$ , microalgas, detritus, cianobacterias y bacterias. Son organismos capaces de sobrevivir en un amplio rango de temperatura, concentración de sal y oxígeno debido a su capacidad de regulación osmótica (Ledesma, 2017).

Sánchez (2017) indica que el ciclo de vida de este crustáceo está conformado por tres fases que son quiste, larva (nauplio, metanauplio y juvenil) y finalmente el adulto que puede llegar a medir de 10 a 15 mm y se estima que deben transcurrir 15 mudas en aproximadamente veinte días hasta llegar a esta etapa.

Poseen dimorfismo sexual evidente, la hembra alcanza un mayor tamaño y en el segmento genital desarrollan una protuberancia denominada ovisaco en el cual puede almacenar los huevos u ovocitos, mientras que los machos poseen un par de hemipenes (Nuñez y Talavera, 2017).

Según Morant (2016) el género artemia es de gran prolificidad, lo que permite su cría en laboratorio, su reproducción puede ser ovovivípara cuando los huevos siguen un desarrollo embrionario completo dando lugar a Nauplios que nacen directamente de la hembra, u ovípara, cuando los huevos interrumpen su desarrollo y forman un corion protector rígido y semipermeable dando lugar a quistes en estado de diapausa. El medio en que se desarrollan influenciará a que se dé uno de estos tipos de reproducción.

Los quistes en estado de diapausa son la principal forma comercial de la artemia, este estado implica la reducción profunda del metabolismo con lo que se

detiene el desarrollo del embrión y le da un amplio rango de tolerancia a la radiación ultravioleta y al estrés causado por variaciones de temperatura, desecación, hipoxia hasta recibir una señal exógena que pone fin a la latencia (MacRae, 2016).

Delbos, Schwarz, y Ovissipour (2019) resaltan la importancia de la estandarización en los procesos de producción (decapsulación y eclosión) y almacenamiento ya que ligeras variaciones podrían principalmente afectar la tasa de eclosión, la composición nutricional y el tamaño final de los nauplios cosechados, además estos se deben llevar a cabo bajo estrictas normas higiénicas y de bioseguridad por el alto riesgo de contaminación patógena.

El uso de artemia como alimento vivo en la larvicultura es de gran importancia, se incorpora en las dietas de peces y crustáceos por el gran valor nutritivo, cuerpo blando, disponibilidad, abundancia, tamaño óptimo, ciclo de vida corto y movilidad que poseen. Son buenas fuentes de proteínas, carbohidratos y lípidos, no obstante sus concentraciones son variables, aspecto que puede mejorarse mediante el uso de la bioencapsulación o enriquecimiento (Loayza, 2017).

Bermudes, Medina, Nieves, y Piña (2017) destacan que al otorgar a los organismos acuáticos una alimentación óptima en los estadios larvales se garantiza el desarrollo, crecimiento y supervivencia. Lizanda (2018) menciona que el uso de la artemia en la acuicultura ha permitido manejar una mayor cantidad de animales, por lo tanto, un aumento en el rendimiento de la producción.

Es importante ejercer un control de calidad de los quistes que serán empleados para la alimentación de los organismos acuáticos ya que la artemia es un vector potencial para la introducción de parásitos como helmintos, hongos, levaduras, virus y bacterias, entre estos destaca principalmente el desarrollo de *Vibrio spp*



Lenormand y otros (2018) los cuales son parte de la microbiota normal de *L. vannamei*, sin embargo el medio en que se desenvuelven propicia la proliferación de estos patógenos oportunistas ocasionando mortalidad, baja sobrevivencia y pérdidas económicas al larvicultor (Aguirre, López, y Vázquez, 2013).

El presente estudio evaluó diferentes marcas de artemia que se comercializan en el mercado ecuatoriano.

### **1.1. Antecedentes del problema**

En Ecuador la camaronicultura es una de las actividades de mayor relevancia en cuanto a ingresos de divisas por exportaciones ocupando el segundo lugar después del petróleo, esta industria registro un crecimiento del 12.1% en el 2019 Banco central del Ecuador (2020), siendo Asia el principal destino con el 62% de las exportaciones, seguido de Europa con el 18%, EEUU 16%, América 3% y finalmente África con el 1% (Cámara Nacional de Acuacultura, 2020).

El 90% de la producción de larvas en laboratorios se destinan para cubrir la demanda del mercado local, el 10% restante es exportado, la aceptación en el mercado extranjero se debe a altos estándares de calidad que aseguran un tamaño óptimo, buen sabor y bajos porcentajes de mortalidad. Por otra parte Paredes y Villacrés (2019) indican que el 100% de las importaciones de cistos de *Artemia* sp. se destinan para el cultivo de larvas y que Ecuador importó aproximadamente 220.000,00 Kg de quistes de origen norteamericano en el 2019.

La producción intensiva de larvas de camarón ha mejorado con el transcurso de los años mediante la implementación de sistemas de cultivo basados en el conocimiento de los requerimientos nutricionales y de la fisiología del sistema

digestivo de las larvas Elghoul y Gonzáles (2016). Según Ordoñez (2017) la artemia es insustituible en la nutrición de los estadios larvales de camarones del género *Litopenaeus vannamei* debido a que las dietas artificiales no cumplen con los altos requerimientos proteicos y energéticos y que el uso de alimentos procesados para reemplazarla causan un incremento en los niveles de materia orgánica alterando la calidad del agua; sin embargo Santos, Hernández, Mendoza, y Pérez (2011) indican que con disminuir el 50% del uso de *Artemia sp.* en la producción de un millón de larvas de *L. vannamei* se pueden disminuir hasta en un 26% los costos de producción.

El uso de nauplios eclosionados de cistos de artemia son de gran utilidad en la nutrición de los camarones ya que el crecimiento y sobrevivencia de los organismos en las primeras etapas de producción dependen en gran medida de la calidad del alimento vivo, este tipo de alimento es suministrado principalmente en etapas de zoea y mysis que son críticas en el desarrollo larvario.

La alta demanda, poca oferta y la escasez por agotamiento de las fuentes naturales, hacen que sea considerado como el recurso que más encarece la producción de larvas en laboratorio, es por esto que se requiere de eficiencia en cuanto a periodos de incubación, cantidad de nauplios por gramo y limpieza bacteriológica, los mismos que son muy variables y dependen de las condiciones del cultivo. Cabe destacar que según Cárdenas y López (2017) este alimento se ha empleado desde el año 1930 y que su precio ha tenido un constante aumento llegando a costar en la actualidad \$100,00 el kg que genera un gran impacto económico y dependencia a los productores ya que sigue siendo empleado por los buenos resultados que permite obtener.

## **1.2. Planteamiento y formulación del problema**

### **1.2.1. Planteamiento del problema**

El presente trabajo de investigación pretende conocer el rendimiento que se puede obtener de diferentes marcas de artemia, además de realizar el análisis bacteriológico en agar TCBS para determinar la presencia de *Vibrio sp.*.

### **1.2.2. Formulación del problema**

¿Cuál de las diferentes especies de *Artemia* tiene una aclimatación óptima en cuanto a parámetros de calidad de eclosión y determinación de *Vibrio sp?*

## **1.3. Justificación e importancia del estudio**

El presente estudio determinó la aclimatación de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética* en cuanto a criterios de calidad de eclosión y determinación cuantitativa de *Vibrio sp.*, ya que en los laboratorios se realiza de forma empírica, sin estandarización de procesos, parámetros físico-químicos y sin la medición de la efectividad de este proceso.

## **1.4. Delimitación de la investigación**

Este estudio se realizó en el laboratorio y camaronera Wanbri SA, ubicado en el Km 1.9 sector Mar Bravo, Salinas. Esta empresa produce y cultiva larvas de camarón del género *Litopenaeus vannamei*, así como artemia y algas que se usan en la alimentación de los mismos.

### **1.5. Objetivo general**

Evaluar la aclimatación de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética* utilizadas en el mercado ecuatoriano.

### **1.6. Objetivos específicos**

- Estimar la cantidad de nauplios de artemia a través del período de incubación y porcentaje de eclosión.
- Determinar en forma cuantitativa cepas de *Vibrios* de las artemias.
- Evaluar la aclimatación según marca, la procedencia, género, porcentaje de eclosión y presencia de *Vibrio*.

### **1.7. Hipótesis**

La optima aclimatación de *Artemia franciscana* y *A. parthenogenetica* permite obtener altos porcentajes y eficiencias de eclosión.

## 2. Marco teórico

### 2.1. Estado del arte

Paredes y Villacrés (2019) en una encuesta dirigida a 85 laboratorios de larvas de camarón ubicados en las provincias de Santa Elena, Manabí, El Oro, Guayas y Esmeraldas determinaron que el 67% de estos laboratorios emplean entre 0.4 y 4.1 Kg de artemia por cada millar de larva producida, sin embargo, se manifiesta que el porcentaje de eclosión varía entre 60 a 95%.

Moreno, Morales , Méndez , Álvarez , y Meruane (2019) evaluaron el efecto de tres niveles de salinidad (13, 15 y 20) en varios tiempos de incubación (12, 16, 20 y 24 horas) en la producción de *Artemia sp.* donde no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de salinidad, tiempos de incubación y el porcentaje de quistes eclosionados, determinando así que el desarrollo embrionario es independiente de la salinidad pero que a las 12 horas de incubación hay predominio de pre nauplios y se observa los nauplios a las 16 horas de incubación, datos que permiten la cosecha de los nauplios en menor tiempo aprovechando mejor su contenido energético; información que concuerda con Delbos, Schwarz, y Ovissipour (2019) quienes reportan que a pesar de que generalmente se emplea de 18 a 24 horas de incubación, a las 16 horas ya se puede cosechar los nauplios maximizando el aprovechamiento de su calidad nutricional.

Por otra parte Wrigt (2019) menciona que INVE ha desarrollado un producto que permite obtener el máximo rendimiento con su tecnología SEP-Art, que mediante el revestimiento magnético no tóxico de los cistos de Artemia logra obtener la separación total del nauplio de la cáscara del cisto.

En un estudio comparativo realizado por Guzmán (2019) entre la alimentación con nauplios de *Artemia sp* y el nemátodo *Panagrolaimus sp*, se evaluó la supervivencia, altura de vellosidades intestinales y apariencia del hígado; determinando que no hubieron diferencias significativas respecto a la altura de vellosidades intestinales, sin embargo las larvas alimentadas con *Artemia sp*. presentaron una mayor cantidad de vacuolas lipídicas y la supervivencia fue significativamente superior.

En una investigación realizada por Strahsburger, Retamales, Estrada, y Seeger (2016) durante el monitoreo del estado sanitario de un tanque de cultivo de *Artemia salina* se pudo determinar mediante el uso de agar cromogénico la presencia de *Salmonella spp*. la misma que es indeseable en productos acuícolas, por lo que se recomienda que estos monitoreos se realicen con otros agares cromogénicos periódicamente para prevenir y controlar la colonización por bacterias patógenas.

Ossorio (2017) en su estudio realizó la bioencapsulación con el probiótico *Streptomyces sp* cepa RL8 a nauplios II de *Artemia franciscana* en concentraciones de  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml<sup>-1</sup> y un tratamiento control para determinar su supervivencia al ser expuestos a la cepa patógena CAIM-170 de *Vibrio parahaemolyticus* en concentraciones de  $10^5$  y  $10^7$  UFC /ml<sup>-1</sup>. Obtuvo porcentajes de supervivencia de nauplios de 88.75% y 86.25% en los tratamientos inoculados con  $10^6$  y  $10^8$  UFC/ml<sup>-1</sup> de cepa RL8 y 57.5% en el tratamiento de control. Demostrando que la bioencapsulación incrementa la supervivencia de los nauplios de artemia y son de utilidad para la alimentación de larvas de camarón.

## **2.2. Bases teóricas y científicas**

### **2.2.1. Clasificación sistemática**

Phyllum Artrópoda; clase Crustácea; subclase Branchiopoda; orden Anostraca; familia Artemiidae; género *Artemia* (Ledesma, 2017).

Según Ledesma (2017) se ha atribuido la especie de acuerdo al lugar de origen denominándose *Artemia salina* a la que se ha encontrado en Lymington, Inglaterra; *Artemia tunisiana* en Europa; *Artemia franciscana* de América del norte, central y Sur; *Artemia persimilis* en Argentina; *Artemia urmiana* en Irán; *Artemia monica* en Mono Lake, Ca-USA; *Artemia parthenogénica* en Europa, Asia y África.

### **2.2.2. Artemia**

La artemia es un pequeño crustáceo branquiópodo, filtrador no selectivo Moraga, Ávila, y Vilaxa (2015), hay ocho cepas bisexuales o zigogénicas compuestas por hembras y machos y una cepa partenogénica conformadas únicamente por hembras (Ledesma, 2017).

También es conocido como camarón salado o “brine shrimp”, camarón salino, camarón de salmuera (Lannacone, y otros, 2016).

#### **2.2.2.1. Distribución geográfica**

La artemia es un organismo acuático cosmopolita que habita en ecosistemas costeros y continentales de elevada salinidad y condiciones extremas Moraga, Ávila, y Vilaxa (2015), siendo las actividades relacionadas con la acuicultura las

encargadas de su propagación llevándola a convertirse incluso en una especie invasora.

Ledesma (2017) señala que estos crustáceos habitan en lagos salinos naturales y en salinas artificiales en todo el mundo, logrando por su eficiente sistema osmorregulatorio sintetizar pigmentos respiratorios, tolerar amplios rangos de temperatura desde 6 a 35° y composición iónica del medio.

#### **2.2.2.2. Alimentación**

Los nauplios recién eclosionados se nutren de las reservas del saco vitelino, mientras que a partir de nauplio II se alimentan de detritos, materia orgánica particulada, microalgas, protozoos y bacterias (López, 2014).

Se consideran organismos filtradores no selectivos, particularidad que permite el enriquecimiento o bioencapsulación a través de la alimentación con probióticos, prebióticos, vitaminas, minerales, con el objetivo de mejorar su valor nutricional (Ossorio, 2017).

#### **2.2.2.3. Contenido nutricional**

Ordoñez (2017) señala que el contenido nutricional es variable entre cepas de artemia, el contenido energético se da en función a su alimentación, la artemia adulta que ha sido alimentada con microalgas contiene 5.854 cal/g y cuando es congelada pierde 0.754 cal/g, mientras que el contenido de ácidos grasos además de ser influenciado por la calidad del alimento también fluctúa con las condiciones ambientales.



Moraga, Ávila, y Vilaxa (2015) expresan que los ácidos grasos insaturados que poseen son indispensables para el desarrollo de funciones metabólicas de los organismos cultivados.

### **2.2.3. Características morfológicas**

Estos primitivos crustáceos tienen un cerebro rudimentario, alargado corazón tubular y un tubo digestivo lineal que termina en el ano. Los machos presentan una coloración blanco azulada, mientras que las hembras una coloración más rojiza, la misma que puede observarse más marcada en ambos sexos cuando hay infecciones parasitarias (Redón, 2015).

Poseen un cuerpo alargado dividido en tres segmentos: cabeza, tórax y abdomen, cubiertos por un exoesqueleto no calcáreo, la longitud varía en función de las cepas y el medio en que se desarrolle, el cuerpo de los machos adultos mide entre 8-10 milímetros (mm) y la hembra de 10-12 milímetros, mientras que los apéndices de ambos miden aproximadamente 4 mm (Lenormand, y otros, 2018).

Ledesma (2017) señala que a diferencia del macho la hembra no tiene apéndices en la región cefálica, sin embargo, se puede distinguir por la presencia de un saco o útero ubicado después del onceavo par de toracópodos. Tiene un par de ovarios tubulares que es donde se desarrollan los huevos, una vez que han madurado estos descienden a través de los oviductos al útero, la puesta puede darse de forma continua cada cuatro a seis días Redón (2015). Los machos en la región cefálica poseen un segundo par de antenas denominadas claspers que se caracterizan por ser prensiles y musculadas, mientras que en la región posterior del tórax se puede apreciar un par de penes retractiles.

#### 2.2.4. Estadios

El nauplio se caracteriza por un cuerpo y sistema digestivo poco desarrollado, solo cuenta con un ojo naupliar, el estadio I mide entre 400-500  $\mu\text{m}$ , las reservas del vitelo le otorgan un color pardo anaranjado y le permiten nutrirse ya que su sistema digestivo no es funcional y la boca y el ano se encuentran cerrados. El primer par de antenas o anténulas que poseen son de función sensorial y entre estas se encuentra un ojo naupliar, el segundo par le sirven para la locomoción y filtración del alimento, mientras que el tercer par son unas mandíbulas que le permiten tomar el alimento. Este estadio dura 24 horas (Ledesma, 2017).

El metanauplio, comprende el estadio II, Sánchez (2017) señala que su sistema digestivo es funcional, presentan apertura anal y puede filtrar partículas entre 1-40  $\mu\text{m}$ .

En la etapa juvenil se observa desarrollo del tronco donde aparecen apéndices lobulares los mismos que en la etapa adulta se van a diferenciar en toracópodos, dos ojos en la cabeza y dimorfismo sexual, el cual consiste en el desarrollo del ovisaco en la hembra, degeneración de las antenas para convertirse en órganos sensoriales y en el macho un par de pinzas que emplea para la cópula. A partir del estadio X se dan una serie de cambios morfológicos y funcionales (Ledesma, 2017).

Para llegar a la etapa de adulto deben transcurrir quince mudas, en esta etapa se observa principalmente la diferencia de tamaño, siendo el de la hembra mayor al del macho. Ledesma (2017) indica diferencias de tamaño de acuerdo a al tipo de población, las bisexuales llegan a medir hasta 10 mm, mientras que las partenogénicas hasta 20 mm. Su cuerpo es alargado, tienen un par de ojos complejos unidos a la cabeza por un pedúnculo ocular, su aparato digestivo es

lineal, tienen un par de antenas y once toracópodos desarrollados, estos constan con tres partes: telopoditos cuya función es locomotriz, endopoditos con función filtradora y exopoditos que actúan como branquias (Sánchez, 2017).

### **2.2.5. Ciclo de vida**

Fornés (2018) señala que las hembras en su estado adulto pueden presentar un ciclo de vida bisexual y asexual. La de tipo bisexual, zigogenética o anfigónica se da en poblaciones donde se encuentran hembras y machos ya que se requiere de la fertilización de los huevos, mientras que la asexual, también denominada telitoca o partenogénica se da en escenarios donde solo hay hembras. En ambas poblaciones las hembras pueden dar origen a una reproducción ovovivípara u ovípara, pudiendo alternarlas dependiendo las condiciones del medio en que se desarrolla.

En poblaciones bisexuales inicia con la precópula que consiste en la sujeción de la hembra entre el útero y el onceavo par de toracópodos con el par de antenas curvadas del macho, pueden permanecer en esta posición de monta por un tiempo variable mientras mueven sus toracópodos sincronizadamente. Seguido de esto viene la cópula en la cual la parte ventral del macho se dobla hacia adelante e introduce uno de los penes en la abertura del útero para así fertilizar los huevos. En las poblaciones partenogénicas, no se requiere de la fertilización de los huevos por parte de los machos y el desarrollo embrionario inicia cuando estos llegan al ovisaco (Fornés, 2018).

## **2.2.6. Modalidades reproductivas**

### **2.2.6.1. Reproducción ovovivípara**

Fornés (2018) destaca que esta consiste en el desarrollo del embrión en el interior del ovisaco de la hembra hasta la primera fase larvaria, resultando en la liberación de un nauplio nadador y generalmente se da en bajas salinidades.

### **2.2.6.2. Reproducción ovípara**

Moraga, Ávila, y Vilaxa (2015) indica que la reproducción ovípara se da cuando las hembras son sometidas a estrés biológico tales como elevada salinidad del medio (>150 ‰), cambios de temperatura y bajos niveles de oxígeno, abundante o escaso alimento, pH e iluminación, estos estímulos causan la activación de las glándulas de la cáscara ubicadas en el útero que secretan hematina y que recubren al embrión interrumpiendo su desarrollo en fase de gástrula avanzada con una gruesa y resistente envoltura externa denominada corion Fornés (2018), dando lugar así a la liberación de huevos císticos o quistes embrionarios, estos pueden dar una eclosión inmediata o entrar en estado criptobiótico o de diapausa reversible manteniéndose así viables por prolongado tiempo hasta que las condiciones sean favorables (Moraga, Ávila, y Vilaxa, 2015).

Ledesma (2017) señala que una vez que los huevos son liberados por la hembra, estos flotan en la superficie del agua y por efecto del viento y la corriente llegan hasta las orillas donde se secan y acumulan formando “bancos de quistes”, por la deshidratación el mecanismo criptobiótico se desactiva permitiendo a los cistos retomar su desarrollo embrionario cuando estos sean hidratados en adecuadas condiciones de eclosión.

### **2.2.7. Características de los cistos**

El embrión detiene su desarrollo embrionario en fase de gástrula y entra en un estado ametabólico reversible, la cáscara de los cistos se encuentra formada por cuatro estructuras que son: el corion, la membrana cuticular externa, cutícula embrionaria y membrana cuticular interna. El corión es la capa externa cuya función es otorgar resistencia a condiciones extremas, está formada por hematina que resulta de la descomposición de hemoglobina y quitina, esta capa puede ser disuelta mediante tratamientos oxidativos con hipoclorito; la membrana cuticular externa es la capa intermedia permeable y a su vez está conformada por más capas cuya función es actuar de filtro impidiendo el ingreso de moléculas de mayor tamaño a la del CO<sub>2</sub>; la cutícula embrionaria caracterizada por ser transparente y elástica, seguida de la membrana cuticular interna que es la que está en contacto con el embrión y durante el proceso de incubación se convierte en la membrana de eclosión (Ledesma, 2017).

Los cistos deshidratados toman forma bicóncava y se caracterizan por ser higroscópicos, el contenido de humedad varía entre 2-5%, su viabilidad no se ve comprometida en un rango de temperatura de -273°-90° C, siendo recomendable que a mayor temperatura menor tiempo de exposición, mientras que cuando los cistos están hidratados tienen una tolerancia más específica, su viabilidad se ve afectada con la muerte del embrión a temperaturas inferiores a 18°C y superiores a 40°C, mientras que periodos largos de exposición entre 32°- 40°C puede ocasionar retrasos en la tasa de eclosión, sin embargo se recomienda temperaturas entre -18° a 4°C para que la viabilidad de estos no se vea comprometida (Ledesma, 2017).

Ledesma (2017) menciona que una vez hidratados los cistos en un periodo de 1-2 horas toman forma esférica y por acción de la luz se reactiva el metabolismo que implica el inicio de la respiración, síntesis de proteínas y ARN y la degradación del vitelo Sánchez (2017), 15-20 horas más tarde el cisto se abre liberando al prenauplio que aún se encuentra rodeado de la membrana cuticular interna transformándose en nauplio I donde ya empieza a haber movimiento de sus apéndices, tiempo después esta membrana se abre liberando a un nauplio nadador.

### **2.2.8. Parámetros físico-químicos para eclosión de quistes de artemia en laboratorio**

La artemia es un crustáceo de fácil cultivo en laboratorio, sin embargo, cuando se hace en altas densidades hay parámetros que pueden ser una limitante, tales como temperatura, salinidad, pH, oxígeno, iluminación, densidad y limpieza bacteriológica de los quistes (Ledesma, 2017).

La temperatura es un factor importante en la eficiencia de la decapsulación y la tasa de eclosión Sánchez (2017), en cultivos la temperatura se mantiene entre 25-30°C, por debajo de este rango la eclosión se ralentiza, mientras que por encima se puede detener irreversiblemente el metabolismo de los cistos, por esta razón se emplean equipos como termostatos y calentadores para mantener una temperatura óptima y constante y así maximizar la producción de nauplios; se emplea agua de mar por cuestiones prácticas, sin embargo, lo ideal es emplear salinidades del 5‰ para obtener una mayor tasa de eclosión y que los nauplios tengan una mayor cantidad de reserva energética; el medio donde se da la eclosión de los huevos debe tener una composición iónica semejante a la del agua de mar y con un pH

entre 8-9; es óptimo mantener niveles de 2mg/L de oxígeno y se debe tener en cuenta la formación de espuma ya que podría atrapar a los nauplios y ocasionar daños (Ledesma, 2017).

En los tanques de producción se recomienda mantener una densidad de cinco gramos de cistos por litro de agua y una vez hidratados es esencial para obtener altas tasas de eclosión, mantener constantemente iluminación sobre la superficie del agua a una intensidad de 2000 lux. Es importante considerar que las temperaturas elevadas y altas densidades predisponen a la proliferación bacteriana, por esto se requiere de la desinfección de la superficie de los huevos ya que pueden estar contaminados con bacterias, hongos, levaduras, impurezas, entre otros (Ledesma, 2017).

### **2.2.9. Criterios de calidad de Artemia**

Por la variabilidad de los resultados que se ve influenciado por el origen de los cistos, el lote, proceso al que hayan sido sometidos, transporte, almacenamiento Naranjo (2015) y factores externos es necesario llevar un control de producción el cual comprende la trazabilidad de la materia prima, porcentaje y eficiencia de eclosión que son los indicadores de viabilidad, el manejo, desinfección y control bacteriológico (Birkett, 2017).

#### **2.2.9.1. Porcentaje de eclosión**

“Se refiere al número de nauplios que se originan a partir de un número conocido de cistos viables, sin considerar el grado de pureza como la presencia de arena, cistos vacíos, tierra, entre otros (Salgado, 2001)”.

### **2.2.9.2. Eficiencia de eclosión**

Este criterio es de importancia económica ya que representa la cantidad de nauplios que se puede obtener Naranjo (2015). “Se define como el número de nauplios que se puede obtener a partir de un gramo de cistos comercializados y cultivados bajo condiciones estándares (Salgado, 2001)”.

### **2.2.9.3. Biomasa**

Hace referencia a la cantidad de masa naupliar en miligramos que se puede obtener de un gramo de cistos cultivados bajo condiciones estándares, la consideración de este criterio depende del tamaño del predador, siendo el tamaño de la presa una limitante (Salgado, 2001).

### **2.2.9.4. Tasa de eclosión**

Es el tiempo en el que transcurre una eclosión total, esto comprende el inicio de la eclosión hasta la liberación del instar I o nauplio Fornés (2018); permite conocer el momento en que aparece el primer nauplio y el momento en que el 90% de los cistos ha eclosionado, estableciendo el número de horas de diferencia entre los dos tiempos, denominándose también sincronía de eclosión. Esto indica que entre menos horas de diferencia hay mayor sincronía y nauplios de tamaños más homogéneos (Salgado, 2001).



### **2.2.9.5. Calidad bacteriológica**

Rojas (2018) enfatiza que es de suma importancia el monitoreo bacteriológico del alimento vivo suministrado para la detección temprana de patologías que afectan a los cultivos de organismos acuáticos, garantizando de esta manera altos porcentajes de sobrevivencia de los estadios larvales.

Orozco (2001) sostiene que en la superficie de los cistos de *Artemia sp.* se encuentran bacterias que pueden reactivarse durante el proceso de incubación, mantenerse después de la desinfección y al ser suministrados como alimento contaminar los cultivos, a esto Rolando (2015) argumenta que la *Artemia* es el vector más importante de *Vibrio parahaemolyticus*; por esto Birkett (2017) recomienda el uso de probióticos y desinfectantes, además de llevar controles bacteriológicos en agar Marino, Cromoagar, TCBS, y pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## **2.3 Marco Legal**

Asamblea Nacional (2008)

### **Capítulo segundo: Derechos del buen vivir**

**Art. 14.-** Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Plan Nacional de desarrollo 2017-2021. Toda una vida (2017)

**“Objetivo 5:** Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria”

**Política 5.6.-** Promover la investigación, la formación, la capacitación, el desarrollo y la transferencia tecnológica, la innovación y el emprendimiento, la protección de la propiedad intelectual, para impulsar el cambio de la matriz productiva mediante la vinculación entre el sector público, productivo y las universidades.

Reglamento a la ley de pesca y desarrollo pesquero (2016)

## **Capítulo XIV**

### **Potestad sancionatoria administrativa pesquera**

**Art 68.2.-** Acuicultura comercial es el cultivo de organismos acuáticos cuyo objetivo es maximizar las utilidades, practicado por productores de pequeña, mediana y gran escala que participan activamente en el mercado comprando insumos e involucrándose en la venta de su producción fuera de la granja.

**Art 68.3.-** Acuicultura de investigación es el cultivo de organismos acuáticos sin orientación comercial dirigido a diversificar la producción, mejorar el uso de recursos y disminuir el riesgo de eventos exógenos, practicado en laboratorios e instalaciones especiales destinadas a este propósito.

**Art 69.2.-** Quienes se dediquen a la actividad acuícola sólo podrán cultivar las especies autorizadas y deberán aplicar buenas prácticas de acuicultura y protocolos de bioseguridad y utilizar los insumos registrados ante la autoridad nacional competente. La captura de especies bioacuáticas en estado silvestre para ser utilizadas en la reproducción o cultivo, será regulada por el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca, previo informe técnico de la Autoridad Sanitaria Nacional.

## 3. Materiales y métodos

### 3.1. Enfoque de la investigación

#### 3.1.1. Tipo de investigación

La investigación es de tipo descriptiva y explicativa.

**Investigación aplicada:** Evaluar la aclimatación y presencia de *Vibrio sp.* en *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética* que se comercializan en Ecuador.

**Investigación de campo y laboratorio:** Se realizó el análisis de las muestras en la aérea de Artemia y en el área de bacteriología.

#### 3.1.2. Diseño de investigación

La investigación es de diseño no experimental, ya que no se manipularon las variables en estudio.

Investigación descriptiva ya que se detallaron las observaciones respecto a eficiencia de eclosión, porcentaje de eclosión, la presencia de *Vibrio sp.* y estos datos se relacionaron con las poblaciones en estudio.

### 3.2. Metodología

#### 3.2.1. Variables

##### 3.2.1.1. Variable independiente

Tipo de Artemia.

##### 3.2.1.2. Variable dependiente

- Periodo de incubación
- Porcentaje de eclosión

- Eficiencia de eclosión
- Salinidad
- pH
- Oxígeno disuelto
- Temperatura.
- Crecimiento bacteriano en agar TCBS: *Vibrio sp.*

### 3.2.1.3. Operacionalidad de las variables

**Tabla 1. Variables dependientes e independientes**

Nombre	Tipo	Denominación	Definición	Dimensión	Escala
Tipos de Artemia	Cualitativa	Independiente	Crustáceo filtrador de gran adaptabilidad.	<i>Artemia Franciscana</i> y <i>Artemia parthenogenética</i> .	Especies
Período incubación	Cuantitativa	Dependiente	Desarrollo de un quiste de Artemia, desde la incubación hasta la liberación del nauplio.	48 horas	Porcentaje y eficiencia de eclosión.
Temperatura Salinidad Oxígeno pH	Cuantitativa	Dependiente	Indicativos para evaluar o valorar una situación en particular.	25 - 30°C 33.33 ppt 2-5 mg/l 7.5 - 8.5	0; 12;24;36;48 horas
Porcentaje de eclosión	Cuantitativa	Dependiente	Número de nauplios que se originan a partir de una determinada cantidad de cistos	85 – 90%	Nauplios por gramo / huevos por gramo
Eficiencia de eclosión	Cuantitativa	Dependiente	Cantidad de nauplios que se puede obtener a partir de una determinada cantidad de cistos.	154.000,00 - 280000 n/g	Total de nauplios/gramos sembrados
Colonias de <i>Vibrio sp.</i>	Cuantitativa	Dependiente	Método para estimar la magnitud de la población total bacteriana.	10 <sup>3</sup> – 10 <sup>5</sup> UFC/ml	UFC/ml o g

**Fuente:** Lecaro, 2021

### **3.2.2. Metodología de la investigación**

#### **3.2.2.1. Localización del estudio**

El estudio se realizó en el laboratorio de larvas Wanbri SA, por el lapso de dos meses.

#### **3.2.3. Población y muestra**

El laboratorio y camaronera Wanbri S.A. cuenta con el área de artemia, la misma que posee un área de siembra y un área de cosecha con los insumos necesarios para su procesamiento.

Para este estudio se evaluaron seis marcas de artemia entre origen americano (*Artemia franciscana*) y ruso (*Artemia parthenogenética*) de diferentes calidades, se utilizó una libra de cistos de cada una para evaluar el porcentaje y eficiencia de eclosión y determinación de la presencia de *Vibrio sp* mediante agar TCBS.

Las diferentes marcas de artemia fueron tomadas del Informe de los certificados de registro sanitario unificado (RSU 2020 vigentes), proporcionado por el Ministerio de producción, comercio exterior, inversiones y pesca.

Las poblaciones del presente estudio provienen del Gran Lago salado ubicado en el estado de Utah, Estados Unidos; Gran Lago Ebeyty y Ulzhay en la región de Omsk y del Gran Lago Yarovoye en la región de Altay, Rusia.

#### **3.2.4. Recolección de datos**

##### **3.2.4.1. Recursos**

**Equipos de laboratorio:** pH metro, oxigenómetro, balanza, calculadora, incubadora, cabina de flujo, homogenizador, autoclave.

**Insumos de laboratorio:** Asas de siembra, pipetas de vidrio de 10 y 1 ml, agar TCBS, tubos eppendorf, micropipeta (10-100  $\mu$ l y de 100 a 1000  $\mu$ l), puntas plásticas (100 y 1000  $\mu$ l), mechero de alcohol, vaso de precipitación, maceradores, cajas petri.

**Reactivos:** Agua de mar filtrada, agua destilada, hipoclorito de sodio, hidróxido de sodio, peróxido de hidrógeno.

**Insumos de campo:** Tanques de incubación cónicos, mallas de 100  $\mu$ m, bolsa de recolección de 100  $\mu$ m, jarras, bandejas, baldes, mangueras.

**Recursos bibliográficos:** Libros, artículos científicos, reglamentos, páginas web.

### **Recursos Humanos**

**Director de tesis:** Dr. Walter Briones Pacheco, MSc. Docente de la cátedra de Acuicultura y Patología acuícola.

**Tutor estadístico:** Ing. Octavio Rugel Gonzalez, MPC.

**Investigador:** Hellen Alejandra Lecaro Mendoza

#### **3.2.4.2. Métodos y técnicas**

##### **3.2.4.2.1. Métodos**

#### **Metodología de muestreo**

Las muestras se recolectaron en el área artemia directamente de los tanques de incubación cónicos pertenecientes al mismo laboratorio, mientras que los parámetros físico químicos se tomaron in situ y una vez realizada la cosecha se realizó el cálculo del porcentaje y la eficiencia de eclosión, posterior a esto fueron receptadas y procesadas en el área de bacteriología.

### 3.2.4.2.2. Técnicas

#### Conteo de Cistos por gramo

- a) En una balanza de precisión se pesa un gramo de cistos de artemia; b) se colocan en un tanque con 15 L de agua; c) se remueve con la mano todo el cuerpo de agua para tener una adecuada distribución de los cistos en todo el volumen a muestrear; d) se toma tres muestras con una pipeta volumétrica graduada de 1 ml; e) se determina el promedio de las tres muestras y se multiplica por 15000 ml que contiene el tanque, obteniendo así el número de cistos/gramo.

$$h/g = promedio \times 15000 \text{ ml}$$

#### Procesamiento de quistes de *Artemia sp.*

Se debe iniciar con la preparación del área de artemia lo cual comprende la desinfección de mangueras, de los tanques de incubación cónicos con hipoclorito de sodio y neutralización de los mismos con ácido ascórbico para su posterior llenado y establecimiento de parámetros físico químicos, climatización del área y la preparación de la sustancia decapsuladora. Delbos, Schwarz, y Ovissipour (2019) expresan que el procesamiento de cistos de artemia consiste en: a) Desencapsulación, b) eclosión y c) cosecha. Ver figura 1.

- a) **Desencapsulación.** - Este proceso consiste en la separación química del corion dejando expuesta a la artemia viva, para esto se empleó 1 ½ de hipoclorito de sodio (NaClO) y 100 ml de hidróxido de sodio (NaOH) por cada libra de cistos de artemia. Consta de las siguientes fases: la hidratación, decapsulación y enjuague



- **Hidratación:** Esta fase permite la separación de los nauplios del corion, facilitando la decapsulación. Se inicia colocando los quistes de artemia en agua dulce a temperatura ambiente, una vez transcurrido una o dos horas se drena a través de una bolsa de recolección de 100  $\mu\text{m}$ .
  - **Decapsulación:** Una vez que los quistes hidratados se encuentren en el tanque de decapsulación se vierte la mitad de la solución decapsuladora (750 ml NaClO + 50 ml NaOH), esto debe durar de dos a tres minutos con constante agitación, un exceso de tiempo podría afectar directamente a la tasa de eclosión, para esto se debe considerar los cambios graduales del color de los quistes los cuales pasan de marrón a gris.
  - **Enjuague:** Se vierte el contenido del tanque de decapsulación en la bolsa de recolección de 100  $\mu\text{m}$ , se drena de inmediato y se enjuaga con abundante agua hasta que esta salga limpia y sin olor.
  - **Decapsulación:** Una vez más se coloca los quistes enjuagados en el tanque de decapsulación, se agrega el restante de la sustancia decapsuladora y se agita enérgicamente teniendo en cuenta los cambios graduales de color de marrón a naranja y finalmente a naranja brillante.
  - **Enjuague:** El contenido del tanque de decapsulación se vierte en la bolsa de recolección y se enjuaga con abundante agua hasta eliminar los residuos de la solución decapsuladora.
- b) **Eclosión.**- Los cistos enjuagados se colocan en el tanque de incubación cónico llenado previamente con agua de mar filtrada, se debe mantener una aireación constante para garantizar la suspensión de los quistes, los niveles de oxígeno disuelto se deben mantener > a 2 mg/L de agua durante el proceso de eclosión el cual fue de 48 horas.

- c) **Cosecha:** Se cierra la aireación por no más de 5 minutos dejando que los nauplios floten y sean atraídos hacia a superficie por tener fototropismo positivo, aquí se cosecharon por medio de una manguera y fueron recolectados y enjuagados en la bolsa de recolección.
- **Desinfección:** A la cosecha se le coloca 100 ml de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) por 15 minutos y con una malla se separa la espuma que se precipita en el tanque, luego se enjuaga con abundante agua hasta que no queden residuos del producto.
- d) **Almacenamiento.-** Se almacena los nauplios cosechados en refrigeración de 2 a 10°C.

#### **Porcentaje y eficiencia de eclosión**

- a) Colocar toda la cosecha en un tanque con 15 L de agua; b) homogenizar el contenido y tomar 10 ml con ayuda de una pipeta; c) en un segundo tanque con 15 L de agua colocar los 10 ml tomados previamente; d) homogenizar y tomar con una pipeta de 1ml tres sub muestras y contar el número de nauplios; e) el promedio de estos recuentos se multiplica por 15000 que son los ml que hay en el segundo tanque, obteniendo así número de nauplios en 10 ml ; f) el número de nauplios en 10 ml se multiplica por 15000 que son los ml que hay en el primer tanque y se divide para diez, obteniendo así el número total de nauplios; g) el número total de nauplios se divide para la cantidad de gramos sembrados, así se obtiene la cantidad de nauplios/gramos; h) nauplios/gramo se divide para el numero de huevos/gramo y se multiplica por 100 y así se obtiene el porcentaje de eclosión.

$$\text{nauplios}/10\text{ml} = \text{promedio} \times 15000 \text{ ml}$$

$$\text{Total de nauplios} = \frac{\text{nauplios}/10\text{ml} \times 15000}{10 \text{ ml}}$$

$$\text{Eficiencia de eclosión} = \frac{\text{Total de nauplios}}{\text{Gramos sembrados}} = \text{nauplios}/\text{gramo}$$

$$\text{Porcentaje de eclosión} = \frac{\text{Nauplios}/\text{gramo}}{\text{Huevos}/\text{gramo}} \times 100$$

### **Toma de parámetro físico químicos**

Estos fueron registrados en un formato cada doce horas a partir de la siembra, los parámetros se tomaron directamente de los tanques de incubación: temperatura, pH, oxígeno y salinidad.

### **Análisis bacteriológico: Preparación del medio selectivo para *Vibrio sp.***

#### **Agar TCBS**

Procedimiento: a) Se pesa la cantidad de cada uno de los reactivos en función de la cantidad de placas (13.35 g de medio TCBS, 3 g de cloruro de sodio; b) se coloca los materiales previamente pesados en un matraz y se agrega 150 ml de agua destilada; c) se coloca un homogenizador y se lleva a ebullición en la estufa,

la solución no necesita ser llevada al autoclave; d) se vierte la solución en las placas, se deja enfriar y se guarda en refrigeración.

### **Análisis bacteriológico: Siembra en Agar TCBS**

Una vez concluida la cosecha se toma una muestra en recipientes estériles sin descartar el agua de tanque de incubación, estas se llevan al laboratorio de bacteriología a procesar: a) Se rotula las placas y los tubos eppendorf; b) se enjuaga los nauplios de artemia con agua de mar filtrada y esterilizada; c) se coloca los nauplios en el tubo eppendorf y se maceran; d) se hacen diluciones de  $10^{-2}$ ; d) se siembra directamente en la placa 100  $\mu$ l; e) se realiza la técnica de barrido en superficie con un asa de vidrio hasta que la placa seque totalmente; f) se llevan a incubación en posición invertida por un lapso de 24 horas a 37° C.

**Tabla 2. Características de las cepas que crecen en Agar TCBS**

<b>Cepas</b>	<b>Resultados de crecimiento</b>	<b>Limites referenciales</b>
<i>V. cholerae</i>	Zonas amarillas alrededor de las colonias	$\geq 10E+03$ (elevado)
<i>V. alginolyticus</i>	Colonias pequeñas color amarillo	
<i>V. parahaemolyticus</i>	Colonias de color verde a verde azulado.	$\geq 10E+02$ (alto-elevado)
<i>V. luminiscente</i>	Colonias luminiscentes	elevado-grave

**Fuente:** Becton Dickinson Franse SA (2003)

## **Análisis bacteriológico: Estimación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)**

Se realizó el conteo total de las Unidades Formadoras de Colonias que hayan crecido en cada placa. Para el cálculo de las UFC/ml o g se empleó la siguiente fórmula:

$$UFC/ml \text{ o } UFC/g = \frac{N^{\circ} \text{ de colonias por placa } \times \text{ Factor de dilución}}{\text{Volumen del inóculo}}$$

### **3.2.5. Análisis estadístico**

Para este estudio los datos recolectados de los muestreos se ingresaron en hojas de Excel para realizar un análisis descriptivo a través de tablas de frecuencia y gráficos descriptivos.

## 4. Resultados

### 4.1. Estimación de la cantidad de nauplios de artemia a través del periodo de incubación y porcentaje de eclosión.

Tabla 3. Estimación del porcentaje de eclosión de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética*.

	<b>% de eclosión</b>
<i>Artemia franciscana</i> Clase A	85,05
<i>Artemia franciscana</i> Clase B	49,74
<i>Artemia franciscana</i> Clase C	38,86
<i>Artemia parthenogenética</i>	81,89

**Fuente:** Lecaro (2021)

La tabla 3 indica el porcentaje de eclosión obtenido de los diferentes tipos de artemia empleados en el estudio, se evaluaron dos marcas de *Artemia franciscana* Clase A, una marca de *Artemia franciscana* Clase B y una de clase C, y dos marcas de *Artemia parthenogenética*; de las cuales se obtuvo que *Artemia franciscana* clase A fue la que mayor porcentaje de eclosión obtuvo con un promedio de 85.05%, seguido de *Artemia parthenogenética* con un promedio del 81.89%, *Artemia franciscana* Clase B 49.74% y finalmente *Artemia franciscana* clase C 38.86%.

**Tabla 4. Eficiencia de eclosión de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética***

	<b>Eficiencia de eclosión</b>
<i>Artemia franciscana</i> Clase A	189.812,77
<i>Artemia franciscana</i> Clase B	131.828,19
<i>Artemia franciscana</i> Clase C	99.118,95
<i>Artemia parthenogenética</i>	195.85,90

**Fuente:** Lecaro (2021)

La eficiencia de eclosión obtenida fue mayor en *Artemia parthenogenética* con un promedio de 195.585,90 nauplios/gramo (n/g); seguido de *Artemia franciscana* Clase A con un promedio de 189.812,77 n/g; *Artemia franciscana* Clase B con 131.828,19 n/g; y finalmente *Artemia franciscana* Clase C con 99.118,95 n/g.

#### 4.2. Determinación cuantitativa de cepas de *Vibrio sp.* en artemia.

**Tabla 5. Cuantificación de colonias de *Vibrio sp.* en agar TCBS**

	<b>Marca A</b>	<b>Marca B</b>	<b>Marca C</b>	<b>Marca D</b>	<b>Marca E</b>	<b>Marca F</b>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	22	15	1	6	256	9
<i>Vibrio cholerae/alginolyticus</i>	76	309	160	512	672	288
<i>Vibrio harveyi</i>	0	0	0	0	0	0

**Fuente:** Lecaro (2021)

Respecto a la cuantificación de colonias la Marca E fue la que mayor cantidad de colonias de *Vibrio parahaemolyticus* obtuvo con 256, mientras que la marca que menor cantidad de colonias de *Vibrio parahaemolyticus* obtuvo fue la marca C con una colonia. Por otra parte, la marca que mayor cantidad de *Vibrio cholerae/alginoliticus* obtuvo fue la marca E con 672 colonias, mientras que la que menor cantidad de estas colonias obtuvo fue la marca A con 76 colonias. Ninguna de las marca estudiadas tuvo la presencia de *Vibrio harveyi*.

**Tabla 6. Cuantificación de UFC/ml de *Vibrio sp.* en agar TCBS**

	Marca A	Marca B	Marca C	Marca D	Marca E	Marca F
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2,20E+04	1,50E+04	1,00E+03	6,00E+03	2,56E+05	9,00E+03
<i>vibrio cholerae/alginoliticus</i>	7,60E+04	3,09E+05	1,60E+05	5,12E+05	6,72E+05	2,88E+05
<i>Vibrio harveyi</i>	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

**Fuente:** Lecaro (2021)

La marca que presenta la mayor cantidad de UFC/ml en *Vibrio parahaemolyticus* es la E con 2,56E+05; seguido de la marca A con 2,20E+04; la marca B con 1,50E+04; marca F con 9,00E+03; marca D con 6,00E+03 y finalmente la marca C con 1,00E+03. En cuanto a la cuantificación de UFC/ml de *Vibrio cholerae/alginoliticus* la mayor fue la marca E con 6,72E+05; marca D 5,12E+05; marca B con 3,09E+05; marca F 2,88E+05; marca C 1,60E+05; Marca A con 7,60E+04.



#### 4.3. Evaluación de la aclimatación según la marca, procedencia, género, % de eclosión y presencia de *Vibrio sp.*

**Tabla 7. Comparación del porcentaje de eclosión obtenido con los valores referenciales de cada marca.**

	<b>% de eclosión obtenido</b>	<b>% de eclosión referencial</b>
Marca A	88,19	85%
Marca B	75,18	85%
Marca C	49,74	80%
Marca D	38,86	75%
Marca E	87,58	90%
Marca F	82,51	90%

**Fuente:** Lecaro (2021)

Los resultados de porcentaje de eclosión obtenidos en este estudio difieren con el porcentaje de eclosión referencial obtenido de la ficha técnica de cada marca, con la excepción de la marca A quien superó las expectativas obteniendo 3.19% más de los especificado por la marca.

**Tabla 8. Comparación de la eficiencia de eclosión obtenida con los valores referenciales de cada marca.**

	<b>Eficiencia de eclosión obtenido</b>	<b>Eficiencia de eclosión referencial</b>
Marca A	181.718,06	154.000,00
Marca B	211.453,74	220.000,00
Marca C	131.828,19	200.000,00
Marca D	99.118,95	180.000,00
Marca E	214.592,51	220.000,00
Marca F	165.033,03	280.000,00

**Fuente:** Lecaro (2021)

La marca B, C, D, E y F presentaron una menor eficiencia de eclosión en comparación con la eficiencia referencial de la presentación de cada producto, sin embargo la marca A tuvo una eficiencia superior por 27.718,06 nauplios/gramo.

**Tabla 9. Evaluación de artemia según la procedencia.**

	<b>% de eclosión</b>	<b>Eficiencia de eclosión (n/g)</b>
Gran Lago Salado	64,67	152.643,17
Lago Ebeyty / Ulzhay	88,19	181.718,06
Gran Lago Yarovoye	75,18	211.453,74

**Fuente:** Lecaro (2021)

La tabla 10 representa los promedios obtenidos según la procedencia de la artemia. La procedente del Lago Ebeyty / Ulzhay (88.19%) presenta un mayor porcentaje de eclosión en relación con la artemia proveniente del Gran Lago Yarovoye (75.18%) y del Gran Lago Salado (64.67%). Mientras que respecto a la

eficiencia de eclosión es superior en la artemia obtenida del Gran Lago Yarovoye con 211.453,74 n/g, seguida de la artemia procedente del Lago Ebeyty / Ulzhay con 181.718,06 n/g y la proveniente del Gran Lago Salado con 152.643,17 n/g.

**Tabla 10. Evaluación de artemia según el género y especie.**

	<b>Porcentaje de eclosión</b>	<b>Eficiencia de eclosión</b>	<b><i>Vibrio sp.</i> UFC/ml</b>
<i>Artemia franciscana</i>	64,67	152.643,17	4.76E+05
<i>Artemia parthenogenética</i>	81,69	196.585,90	2.12E+05

**Fuente:** Lecaro (2021)

La evaluación de la artemia según la especie dió como resultado que en promedio *Artemia parthenogenética* obtuvo un mayor porcentaje y eficiencia de eclosión, y en la sumatoria de la carga total de sus nauplios en *Vibrio sp.* es inferior a la cuantificada en *Artemia franciscana*.

## 5. Discusión

*Artemia sp* es un recurso de alta demanda en la industria acuícola, principalmente por su carácter indispensable e irremplazable en la nutrición larval de peces y crustáceos, la principal fuente de *Artemia franciscana* es El Gran Lago Salado, sin embargo debido a la escasez por agotamiento de este recurso se han introducido diferentes especies a partir del año de 1990, destacando la originaria de Rusia, área que sigue en desarrollo. Cabe destacar que entre especies hay diferencias muy marcadas tales como la morfología y biometría de cistos y nauplios, pigmentación del corión, composición nutricional especialmente en el contenido de ácido grasos, flotabilidad, requerimientos para decapsulación y enriquecimiento, porcentaje y tasa de eclosión (Tizol, 2006).

Cantos y Weir (2019) mencionan que en la actualidad la *Artemia* de origen americana se encuentra muy bien posicionada en el mercado ecuatoriano y tiene una gran aceptación por parte del larvicultor; por otra parte hay que considerar que se ha introducido en el mercado *Artemia* originaria de Rusia que tiene la misma calidad y su costo es ligeramente inferior. En una encuesta realizada a 34 laboratorios ubicados en la Península de Santa Elena determinó que el 59% de estos compra *Artemia* de origen americana, el 26% adquiere *Artemia* de origen rusa y el 15% adquiere *Artemia* proveniente de otros lugares.

Por su alta demanda es necesario establecer parámetros que permitan evaluar la calidad de estos productos ya que el valor económico es elevado teniendo un gran impacto en los costos de producción, así lo indica Pozo (2019) quien por corrida determino una inversión total de \$17.000,00; mientras que los

costos presentados por Quisphe (2019) indican que fueron de \$20.400,00, estos varían en función de la densidad de siembra, ya que generalmente según Browdy , Van, Stock, Flores, y Lee (2017) se emplea de 1-5 kg por millar de larvas de *L. vannamei*.

Fornés (2018) evaluó *Artemia franciscana* clase A bajo condiciones estándares y obtuvo un porcentaje de eclosión máximo de 89.58%, además determinó que la cantidad de cistos por gramo fue inferior al especificado en el producto; así mismo Orozco y Palacios (2005) en su estudio obtuvieron un promedio de 86.47% de eclosión y 218.940,00 nauplios/gramo en una marca clase A, también evaluó una marca clase C donde obtuvieron un promedio de 61.47% de eclosión y 135.840,00 nauplios/gramos, esto a pesar de ser superior a los obtenidos en este estudio están por debajo de los valores referenciales de la casa comercial, con excepción de la eficiencia de eclosión que fue superior en la artemia clase C, Pastorino (2003) recalca que generalmente los resultados obtenidos de las diferentes marcas difieren con los expuestos en las fichas técnicas correspondientes.

Por otra parte Luna, Soriano, y Figueroa (2014) evaluaron la calidad de cistos de *Artemia franciscana* bajo condiciones estándares y obtuvo el 84.5% de eclosión y 262.468,00 cistos por gramo, esto sin especificar el tipo de artemia. Estos resultados difieren con los obtenidos en este estudio que son inferiores y es más notorio en la Artemia Clase C con el 38.86% y 99.118,95 n/g muy por debajo de los valores referenciales; se debe considerar que las condiciones y horas del cultivo no son las mismas que en los estudios en comparación, así mismo hacen falta estudios donde se evalúe *Artemia parthenogenética* y *Artemia franciscana* clase B.

Luna, Soriano, y Figueroa (2014) destacan que los porcentajes de eclosión superiores al 70% son admisibles ya que en el mercado se puede encontrar cistos con porcentajes de eclosión  $\leq 50\%$ , tal como se dio en Artemia clase B en este estudio, estos bajos rendimientos pueden deberse a que no son de producciones recientes, llevan un prolongado periodo de almacenamiento en condiciones inadecuadas, mezcla de cistos que han sido recolectados en distintas ocasiones y por lo tanto tendrán diversas edades y habrán estado bajo diversas condiciones físico químicas que alteran su viabilidad; además Sánchez (2017) menciona que dependiendo de la cepa las bajas temperaturas del cultivo disminuyen la eficiencia y aumentan los tiempos de eclosión.

Por otro lado en una encuesta realizada en Ecuador por Paredes y Villacrés (2019) a 85 laboratorios de diferentes provincias determinaron que en el 87% de estos se realiza un control respecto a los porcentajes de eclosión de artemia debido al alto impacto económico que tienen en los costos de producción y que estos varían entre el 60 al 95% Fornés (2018) explica que la variabilidad de los resultados en cuanto a viabilidad, uniformidad y valor nutricional está influenciado por el origen de los cistos, técnica de recolección, procesamiento, envasamiento, tiempo de almacenamiento, tiempo de exposición a las reacciones químicas que se dan durante el proceso de decapsulación de los cistos, morfometría de los cistos y nauplios, condiciones de la diapausa, condiciones ambientales, manejo Luna, Soriano, y Figueroa (2014), además Browdy, Van, Stock, Flores, y Lee (2017) hacen énfasis en la capacidad de transmisión de *Vibrio sp.* del cual es un vector.

Respecto a los lagos de procedencia de los cistos se destaca que a pesar de haber mejorado con el transcurso de los años las técnicas de recolección, haber implementado diferentes programas de investigación, explorar nuevas fuentes de

este recurso , estos lagos están bajo la influencia de diferentes condiciones meteorológicas y abióticas Van, y otros (2009), por lo tanto las cosechas y sus características son fluctuantes e impredecibles Van, Abatzopoulos, Beardmore, Clegg, y Sorgeloos (2001) y la adaptación a estas condiciones causan variaciones en la calidad de la descendencia, los cistos (Hachem, Amel, Mhamed, y Mohamed, 2008).

En cuanto a la cuantificación de *Vibrio sp.* Viteri (2015) registró en nauplios de artemia mediante agar TCBS una concentración mínima de  $4.90E+04$  UFC/g y una concentración máxima de  $6.16E+06$  UFC/g; Negrete, Monroy, y Romero (2008) obtuvieron en etapa de recolección valores de  $5.00E+07$  y en la etapa de producción  $3.00E+06$ . A diferencia del presente estudio donde *Artemia franciscana* obtuvo una cuantificación total de  $4.76E+05$ , mientras que *A. parthenogénica*  $1.17E+05$ , donde a pesar de la variación de un solo exponente del cual podría deberse a la cantidad de diluciones, los resultados señalan que *Artemia sp.* tiene una elevada carga de *Vibrio sp.* y que con su adición en la dieta causará un incremento tanto en las larvas como en el agua de cultivo de *L. vannamei*.

## 6. Conclusiones

*Artemia parthenogenética* ha demostrado tener una óptima aclimatación permitiendo obtener altos porcentajes y eficiencias de eclosión.

Se requiere de eficiencia en cuanto al uso de este recurso que ha demostrado tener resultados muy variables, por lo tanto se debe evaluar continuamente.

A pesar de ser de gran adaptabilidad es necesario otorgar condiciones óptimas de cultivo que faciliten la aclimatación mediante el control de parámetros físico químicos, en especial de la temperatura.

Ambas especies se caracterizan por tener una alta carga de *Vibrio sp.* por lo que su inclusión en la dieta de estadios larvales de *L. vannamei* representa un alto riesgo de introducción de patógenos al medio.



## 7. Recomendaciones

Se recomienda el uso de *Artemia parthenogenética* y *Artemia franciscana* clase A, ya que con mayores porcentajes de eclosión permiten obtener mayor rentabilidad en cuanto a biomasa naupliar para beneficio de la cría larvaria; no obstante es necesario realizar baños de inmersión a los nauplios con el objetivo de bajar la carga bacteriana, para esto se puede utilizar peróxido de hidrógeno de 50 volúmenes, yodo Argentyne al 10%, formol al 37.5%, ácidos orgánicos.

Establecer un control bacteriológico del agua de cultivo como de los nauplios ya que durante el proceso de incubación se dan condiciones que favorecen a la proliferación bacteriana, para esto se puede emplear probióticos, así mismo se recomienda realizar estudios de cuantificación de *Pseudomona sp.* y hongos.

El uso de biomasa de nauplios de *Artemia* libre de *Vibrio sp.* es una opción para la sustitución total o parcial de los cistos de *Artemia*, ya que estos no requieren de una infraestructura en particular, mano de obra y uso de químicos; sin embargo es necesario considerar los costos.

Evaluar Artemias de otro origen tales como Vietnam, Alemania, Bélgica, China, Tailandia, Argentina y Brazil.

El periodo de incubación no debe superar las 24 horas de cultivo para un máximo aprovechamiento nutricional del Instar 1.

Mantenimiento estable de parámetros con énfasis en la temperatura mediante recirculación de agua temperada o cubrir con plástico los tanques cónicos para

mantenerla ya que de esto depende un buen resultado tanto en porcentaje como en eficiencia de eclosión.

Evaluar la tasa de eclosión en base al periodo de incubación de las diferentes especies de Artemia para determinar las horas de incubación necesarias para su cosecha.

## 8. Bibliografía

- Aguirre , G., López , E., & Vázquez , M. (2013). Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Scientia Agropecuaria*, 121-127.
- Asamblea Nacional . (2008). *Constitución del Ecuador*.
- Banco central del Ecuador. (15 de Marzo de 2020). *Cuentas nacionales trimestrales del Ecuador resultados de las variables macroeconómicas 2019*. Obtenido de <https://contenido.bce.fin.ec/documentos/PublicacionesNotas/Catalogo/CuentasNacionales/cnt65/ResultCTRIM110.pdf>
- Becton Dickinson Franse SA. (15 de Septiembre de 2003). *Instrucciones de uso de medios en placa listos para usar* . Obtenido de <https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA-254432.pdf>
- Bermudes , J., Medina , A., Nieves , M., & Piña , P. (2017). Effect of temperature and salinity on larval survival and development of *Litopenaeus vannamei*. *Revista MVZ Córdoba*, 5844-5853.
- Birkett , J. (2017). *Desafíos del EMS en Ecuador*. Santa Elena : Aqua Expo.
- Browdy , C., Van , P., Stock , C., Flores , D., & Lee , R. (2017). El suministro de *Artemia* es un cuello de botella potencia para el crecimiento acuícola . *Aquacultura La Voz Oficial del Sector* , 20-22.
- Cámara Nacional de Acuicultura . (05 de Marzo de 2020). *Estadísticas CNA*. Obtenido de <http://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>
- Cantos , M., & Weir , N. (2019). *Plan de negocios para la comercialización de cistos de Artemia a laboratorios de larvas en la Península de Santa Elena en el año 2019*. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil .
- Cárdenas , X., & López , A. (2017). *Evaluación técnica y económica del reemplazo de Artemia spp. por zooplancton en larvicultura de camarón (Penaeus vannamei)*. Honduras : Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano .
- Cornejo , H. (2016). *Eclosión de huevos de Artemia (Artemia franciscana, Kellogg) a nivel de laboratorio en la Universidad Nacional Agraria Managua, Nicaragua* . Managua : Universidad Nacional Agraria .
- Cumbicus , D., & Ruiz , A. (2018). Ciclo de proliferación de cepas bacterianas de *Vibrio spp* y *Pseudomonas spp* en juveniles de concha prieta (*Anadara tuberculosa*). *Revista Espacios*, 14.
- Delbos , B., Schwarz, M., & Ovissipour , R. (2019). *Artemia culture for intensive finfish and crustacean larviculture*. *Virginia Cooperative Extension*, 19-26.

- Elghoul, M., & Gonzáles , K. (2016). *Análisis situacional de la producción y exportación de larvas de camarón desde Ecuador durante el año 2015-2016*. Guayaquil : Universidad Católica Santiago de Guayaquil .
- Fornés , J. (2018). *Estudio de viabilidad de la producción de biomasa adulta de artemia (A. franciscana) como alimento vivo o congelado para acuariofilia*. Valencia: Universitat politecnica de Valencia .
- GAD Municipal de Salinas. (15 de Septiembre de 2020). *Salinas alcaldía*. Obtenido de Geografía: <https://www.salinas.gob.ec/index.php/salinas/geografia/106-salinas>
- Guzmán , I. (2019). *Uso del nemátodo Panagrolaimus sp. como sustituto a la Artemia en la alimentación de larvas del Jurel (Seriola rivoliana), Valenciennes, 1833*. La Paz : Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- Hachem , B., Amel , R., Mhamed, C., & Mohamed , S. (2008). Determination of biological characteristics of Artemia salina (Crustacea: Anostraca) population from Sabkhet Sijoumi (NE Tunisia). *Transitional Waters Bulletin*, 65-74.
- Lannacone, J., Alvaríño , L., Valle , V., Ymaña , B., Argota , G., Fimia , F., . . . Castañeda , L. (2016). Toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino Artemia franciscana (Crustacea: Artemiidae). *Revista de Toxicología* , 31-38.
- Ledesma , O. (2017). *Evaluación de la toxicidad de los combustibles (MAGNA, PREMIUM Y DIESEL) mediante bioensayos utilizando Artemia franciscana como bioindicador*. Quintana Roo: Universidad de Quintana Roo.
- Lenormand , T., Nougúé, O., Jabbour, R., Arnaud, F., Dezileau, L., Chevin, L., & Sánchez, M. (2018). Resurrection ecology in Artemia. *Evolutionary Applications*, 76-87.
- Lizanda , M. (2018). *Artemia como vehículo de sustancias bioactivas/antibióticos en cuicultura: encapsulación mediante nanopartículas de zeína* . Valencia: Universidad Católica de Valencia .
- Loayza, W. (2017). *Crecimiento y sobrevivencia en la primera etapa de alevinaje de Trichomycterus rivulatus (SUCHE) alimentados con Nauplio de Artemia salina y Daphnia pulex en condiciones controladas*. Puno: Universidad Nacional del Altiplano.
- López , C. (2014). *Evaluación financiera y económica de la onversión en un proyecto para la producción y comercialización de cistos de Artemia salina descapsulados, alimento para la crianza de peces ornamentales*. Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala .
- Luna , J., Soriano , M., & Figueroa , J. (2014). Calidad de quistes de Artemia Franciscana (Crustacea: Anostraca) y del camarón duende Streptocephalus mackini (Crustacea: Anostraca) como alternativa para la alimentación inicial de larvas de peces. *Mesoamericana*, 13.

- MacRae, T. (2016). Stress tolerance during diapause and quiescence of the brine shrimp, *Artemia*. *Springer*, 9-18.
- Moraga , P., Ávila , R., & Vilaxa , A. (2015). Salinidad y temperatura óptimas para reproducción ovípara y desarrollo de *Artemia franciscana*. *IDESIA*, 85-92.
- Morant , I. (2016). *Efecto de los nanoplasticos sobre la supervivencia, crecimiento y fisiología de Artemia parthenogenetica*. Burjassot: Universitat de Valencia.
- Moreno, J., Morales , M., Méndez , C., Álvarez , C., & Meruane, J. (2019). Optimization of techniques and procedures for the production and management of live feed used in the larval culture of the freshwater shrimp *Cryphiops caementarius* (Decapoda:Palaemonidae). *Latin american journal of aquatic research*, 791-797.
- Naranjo , J. (2015). *Proyecto de factibilidad para la importación y comercialización al mercado ecuatoriano de materia prima Cistos de Artemia, para el sector larvicultor, producto camarón*. Guayaquil: Universidad Tecnológica Empresarial de Guayaquil.
- Negrete , P., Monroy , C., & Romero , J. (2008). Evaluación de la calidad bacteriológica del alimento vivo (*Artemia*, *Daphnia*, *Tenebrio* y *Tubifex*) para peces en los sitios de su recolección, producción y venta. *Veterinaria México*, 255-268.
- Núñez, J., & Talavera, J. (2017). *Las poblaciones de invertebrados en charcas supralitorales de Canarias: Estudio de la charca Anquialina del Médano (Tenerife)*. San Cristobal de La Laguna: Universidad de la Laguna.
- Ordoñez , E. (2017). *Revisión acerca de alternativas de alimentacion para reemplazar la artemia salina en el cultivo de larvas de camarón*. Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Orozco , C. (2001). *Manejo bacteriano del cultivo de Artemia franciscana Kellog, 1906: Aislamiento , caracterización y efecto en el cultivo larvario de Artemia, de bacterias heterótrofas aerobias asociadas a quistes comerciales de Artemia*. La Paz: Centro de INvestigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Orozco , W., & Palacios , A. (2005). *Calidad de eclosión de cistos de Artemia: Estudio técnico de la marca Bio Marine premium y Bio Marine clase C, bajo los parámetros de calidad de agua del laboratorio de levantamiento larvario Delimar S.A., Jiquilillo, Chinandega*. Managua : Universidad Centroamericana .
- Ossorio , P. (2017). *Bioencapsulación de Streptomyces sp. RL8 en nauplios de Artemia franciscana y estudio de su resistencia contra Vibrio patógeno*. Santa Clara : Universidad Central "Martha Abreu" de las villas .
- Paredes , C., & Villacrés, L. (2019). *Plan de negocios de la empresa APRACOM S.A. con su nueva línea de producción y comercialización de artemia como alimento vivo para laboratorios de larvas de camarón en el litoral ecuatoriano*. Guayaquil : Escuela Superior Politécnica del Litoral .

- Pastorino , X. (2003). *Caracterización morfológica y reproductiva de la población de Artemia persimilis (crustacea branchiopoda: Anostraca) de la laguna Colorada Chica*. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires .
- Plan Nacional de desarrollo 2017-2021. Toda una vida . (2017).*
- Pozo, P. (2019). *Valoración de costos de producción y la determinación del precio de venta en la empresa VIACUA S.A. cantón Santa Elena, provincia de Santa Elena, año 2018*. Santa Elena : Universidad Estatal Península de Santa Elena .
- Quisphe, S. (2019). *Costos de producción y la determinación del precio en la empresa MITOLAB S.A., cantón Salinas, provincia de Sanata Elena, año 2018*. Santa Elena: Universidad Estatal Península de Santa Elena.
- Redón , S. (2015). *Parasitismo por Cestodos en Artemia spp. y su implicación en la invasión biológica de Artemia franciscana en la región mediterránea*. Valencia : Universitat de Valencia .
- Reglamento a la ley de pesca y desarrollo pesquero. (2016).*
- Rojas , R. (22 de Junio de 2018). AQUAHoy. Obtenido de Curso de Bacteriología aplicada al cultivo de organismos marinos: <https://www.aquahoy.com/noticias/general/31887-aquapacifico-realizara-2-curso-de-bacteriologia-aplicada-al-cultivo-de-organismos-marinos>
- Rolando , E. (2015). *Caracterización microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistemas de producción comercial es de postlarvas (Litopenaeus vannamei), Mar Bravo, Santa Elena . La Libertad : Universidad Estatal Península de Santa Elena .*
- Salgado, I. (2001). *La Artemia y su cultivo en el Perú*. Piura: Universidad Nacional de Piura.
- Sánchez, A. (2017). *Efecto de la temperatura sobre el tiempo y la eficiencia de descapsulación y eclosión en el crustáceo euritermo Artemia sp*. Lejona: Universidad del país Vasco.
- Santos , J., Hernández , M., Mendoza , R., & Pérez , C. (2011). Evaluación nutrimental del flan de calamar como alimento para larvas de langostino *Macrobrachium rosenbergii* (De man). *Universidad y Ciencia* , 63-71.
- Strahsburger, E., Retamales , P., Estrada , J., & Seeger, M. (2016). Microdot method: used with chromogenic agar is a useful procedure for sanitary monitoring in aquaculture. *Latin american journal of aquatic research*, 742-749.
- Tizol , R. (2006). *Contribución a la caracterización molecular, citogenética, morfométrica y bioquímica del camarón de salmuera Artemia de Cuba y Sur de México . La Paz : Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.*
- Van , G. (2002). *Artemia: Basic and applied biology*. Switzerland: Springer.

- Van , G., Abatzopoulos , T., Beardmore , J., Clegg , J., & Sorgeloos , P. (2001). *Artemia: Basic and applied biology*. En G. Van , *Zoogeography* (págs. 1177-224). Switzerland : Springer .
- Van , G., Ilinichna , L., Ivanovich , A., Grigorevno, E., Marden , B., & Sorgeloos , P. (2009). A survey of *Artemia* resources of southwest Siberia (Russian Federation). *Taylor and Francis* , 117-148.
- Viteri , E. (2015). *Caracterización microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistemas de producción comerciales de post larvas (Litopenaeus vannamei), mar Bravo - Santa Elena* . Santa Elena : Universidad Estatal Península de Santa Elena .
- Wright , J. (8 de Agosto de 2019). *Artemia, el "polvo mágico que alimenta una industria multimillonaria"*. Obtenido de Globas Aquaculture Alliance : <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/artemia-el-polvo-magico-que-alimenta-una-industria-multimillonaria/?headlessPrint=AAAAPIA9c8r>

## 9. Anexos

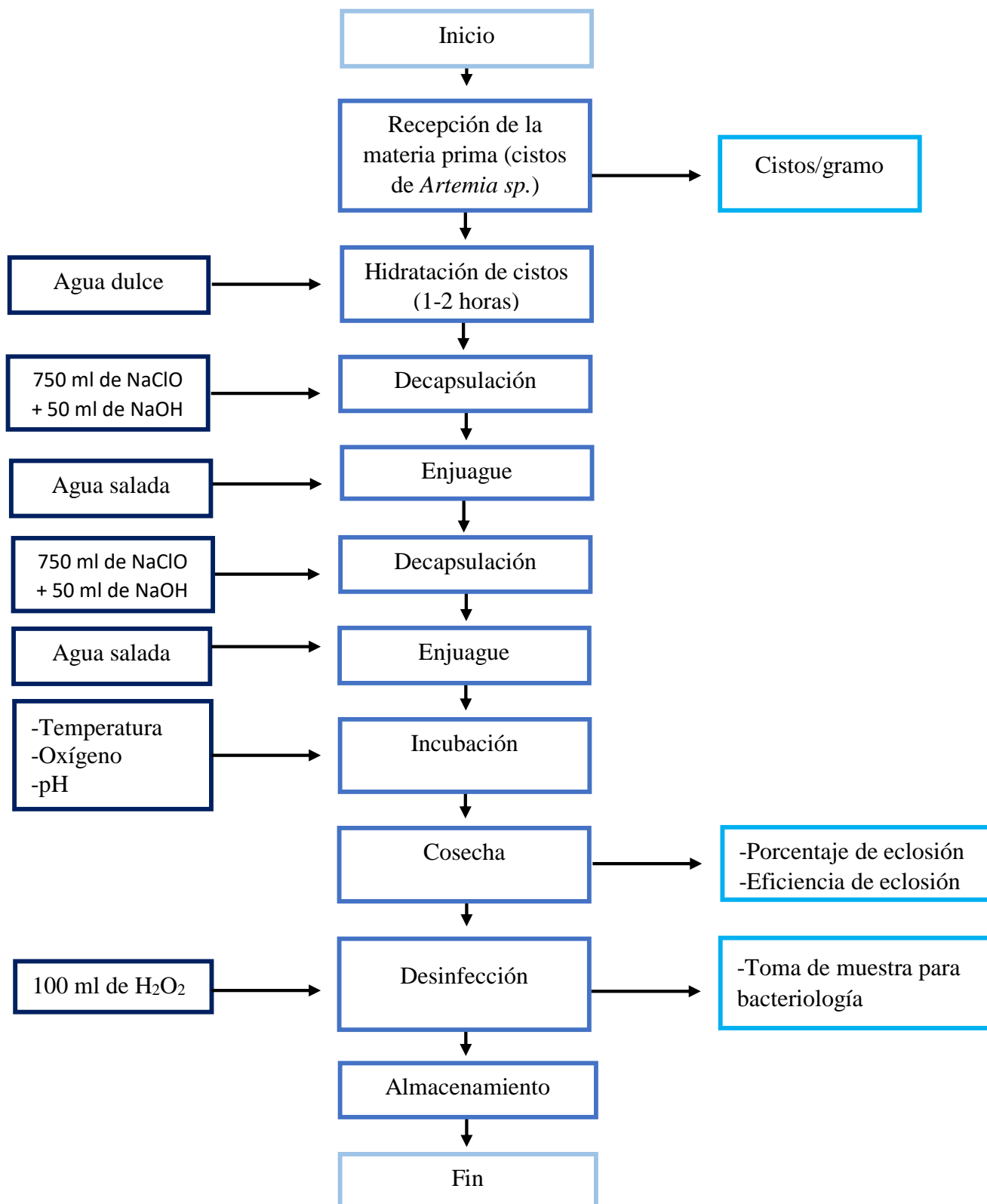
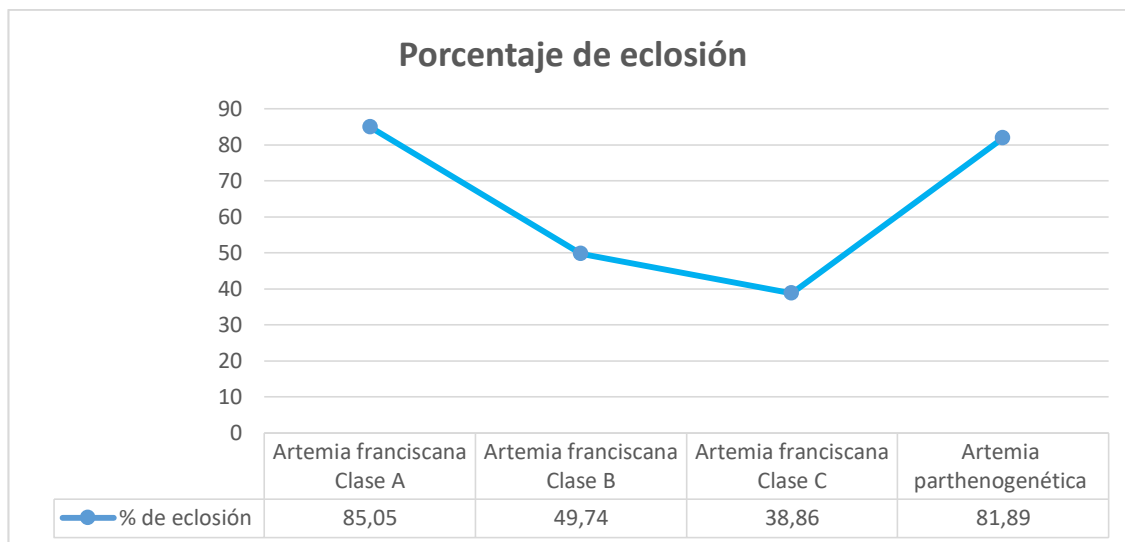


Figura 1. Diagrama de flujo del procesamiento de *Artemia sp.*

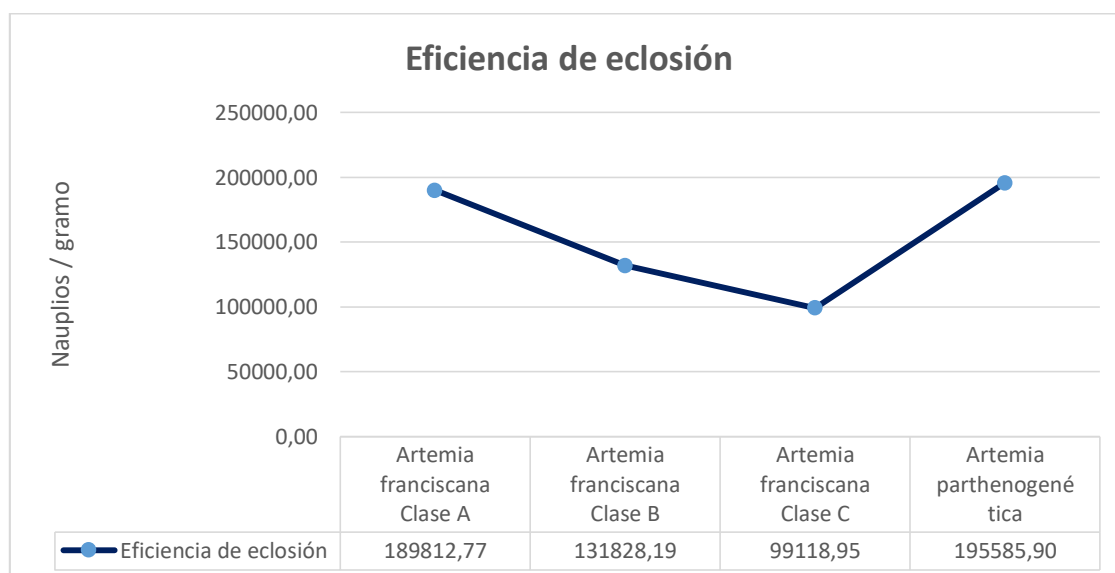
Fuente: Lecaro (2021)





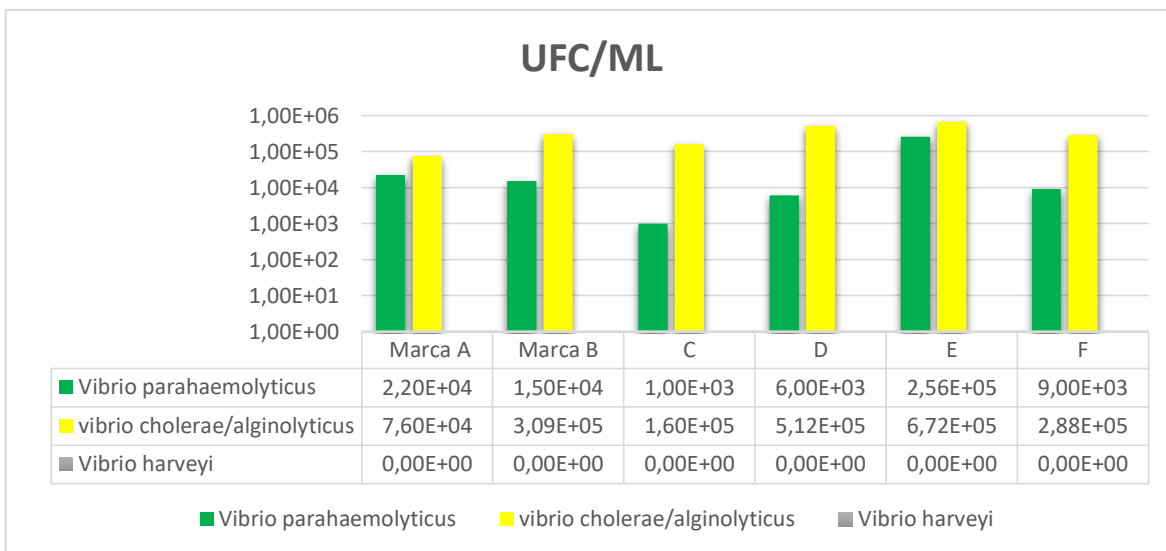
**Figura 2. Estimación del porcentaje de eclosión de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética*.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



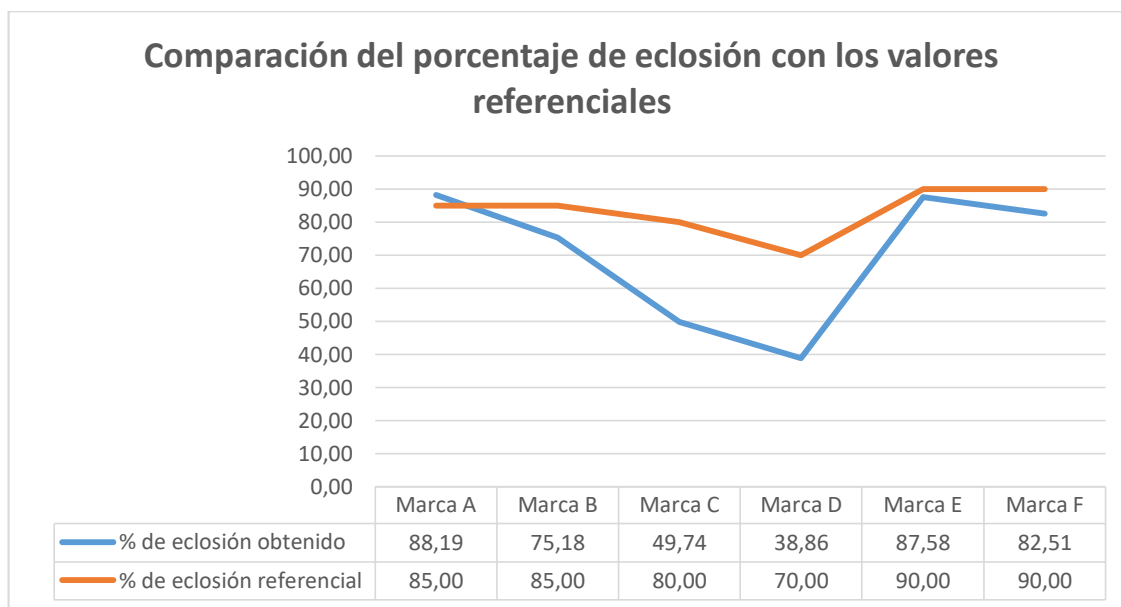
**Figura 3. Eficiencia de eclosión de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética*.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



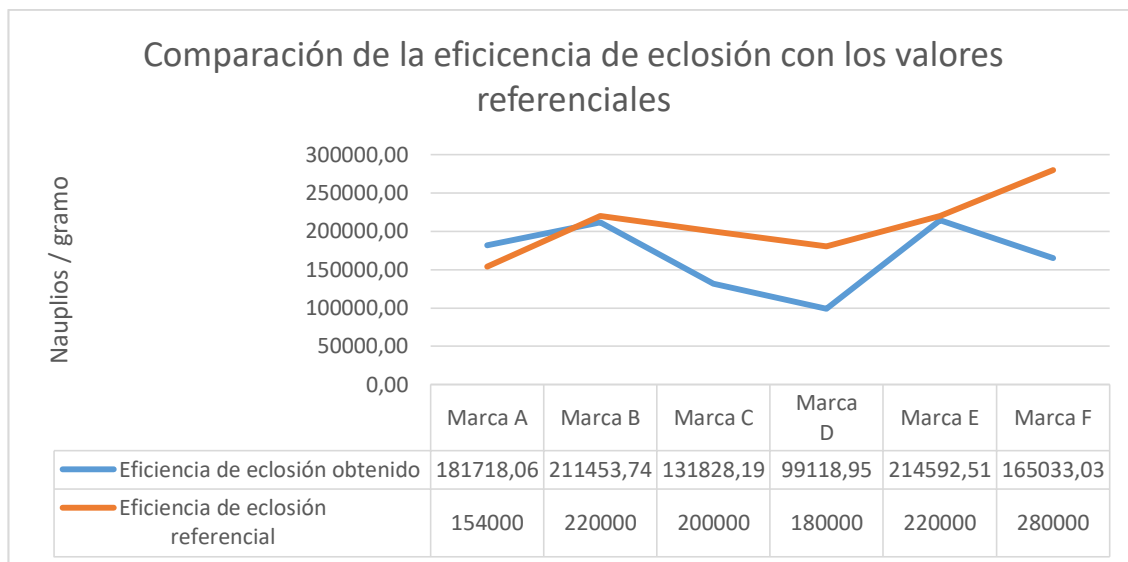
**Figura 4. Cuantificación de UFC/ml de *Vibrio sp.* en agar TCBS**

Fuente: Lecaro (2021)



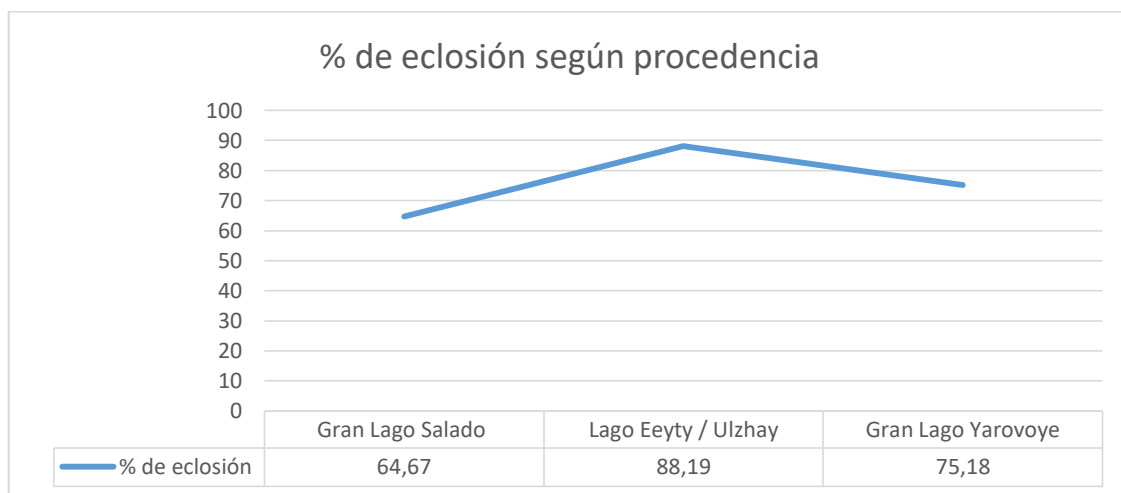
**Figura 5. Comparación del porcentaje de eclosión obtenido con los valores referenciales de cada marca.**

Fuente: Lecaro (2021)



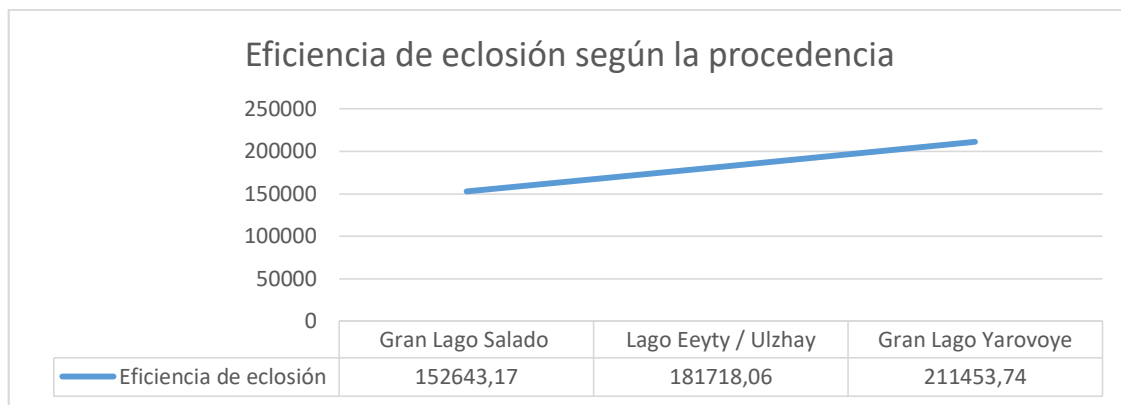
**Figura 6. Comparación de la eficiencia de eclosión obtenida con los valores referenciales de cada marca.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



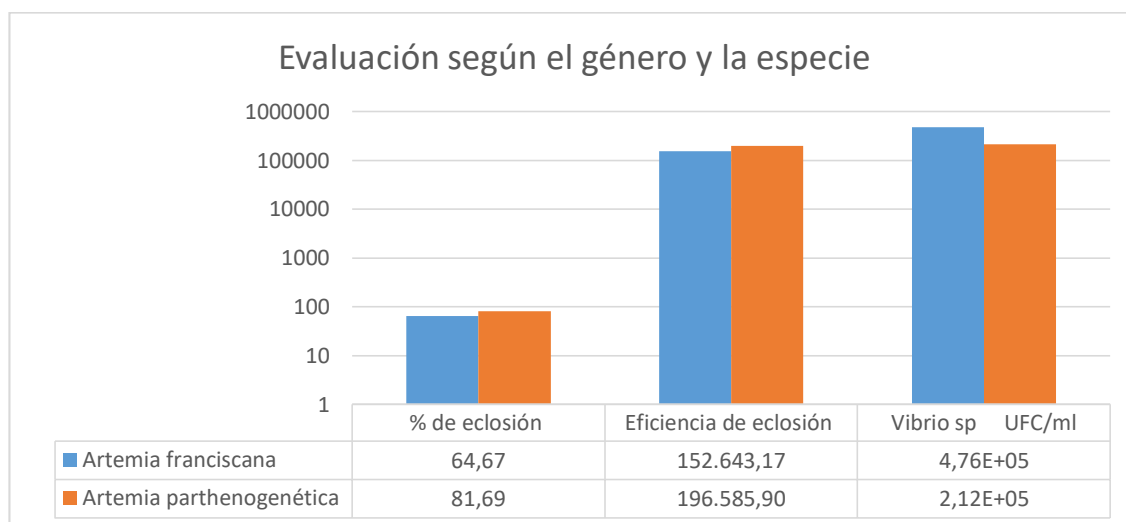
**Figura 7. Evaluación del porcentaje de eclosión de Artemia franciscana y Artemia parthenogenética según la procedencia.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 8. Evaluación de la eficiencia de eclosión de *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética* según la procedencia.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 9. Evaluación del porcentaje, eficiencia de eclosión y UFC/ml en *Artemia franciscana* y *Artemia parthenogenética*.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 10. Área de artemia: Área de siembra y área de cosecha.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 11. Parte del proceso de desencapsulación: Decapsulación, agitación y enjuague.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 12. Toma de parámetros con el oxigenómetro.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 13. Observación al microscopio de diferentes estadios de artemia durante el periodo de incubación.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 14. Preparación de agar TCBS.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



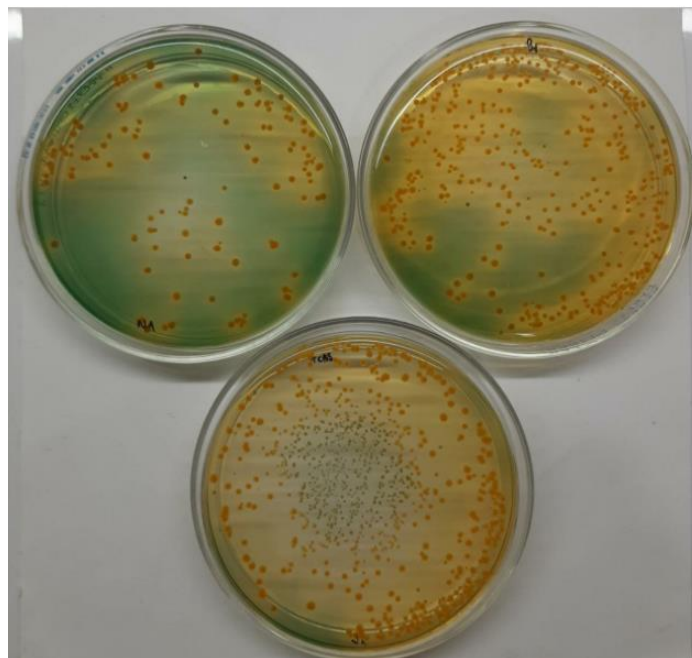
**Figura 15. Técnica de barrido del macerado de artemia sobre la superficie del agar con asa de vidrio.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 16. Muestras colocadas en la incubadora.**

**Fuente:** Lecaro (2021)



**Figura 17. Observación de crecimiento de colonias en Agar TCBS.**

**Fuente:** Lecaro (2021)