



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Desinfección con oxido de calcio en aguas destinadas al uso del cultivo de
camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)**

**CAIMINAGUA ALAY MELISSA ADRIANA
INGENIERA ACUICOLA**

**NARVAEZ PALOMEQUE ANDRES EDUARDO
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Desinfección con oxido de calcio en aguas destinadas al uso del
cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)**

**CAIMINAGUA ALAY MELISSA ADRIANA
INGENIERA ACUICOLA**

**NARVAEZ PALOMEQUE ANDRES EDUARDO
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Desinfección con oxido de calcio en aguas destinadas al uso del cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

**CAIMINAGUA ALAY MELISSA ADRIANA
INGENIERA ACUICOLA**

**NARVAEZ PALOMEQUE ANDRES EDUARDO
INGENIERO ACUICOLA**

SORROZA OCHOA LITA SCARLETT

**MACHALA
2023**

TESIS REVISION

por Andres Eduardo Narvaez Palomeque

Fecha de entrega: 22-sep-2023 08:29a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2173620491

Nombre del archivo: Tesis_con_tablas_TURNITIN_1.docx (75.79K)

Total de palabras: 8220

Total de caracteres: 43465

TESIS REVISION

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Cecília de Souza Valente, Alex H.L. Wan.
"Vibrio and major commercially important
vibriosis diseases in decapod crustaceans",
Journal of Invertebrate Pathology, 2021

Publicación

1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

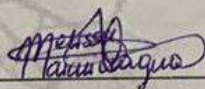
Los que suscriben, CAIMINAGUA ALAY MELISSA ADRIANA y NARVAEZ PALOMEQUE ANDRES EDUARDO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Evaluación de diferentes dosis de óxido de calcio en la carga bacteriana de aguas de piscina camaronera., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



CAIMINAGUA ALAY MELISSA ADRIANA

0750143224



NARVAEZ PALOMEQUE ANDRES EDUARDO

0750545469

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por permitirnos seguir gozando de vida, salud y sabiduría para lograr cada objetivo que nos propusimos.

A nuestras amadas familias Caiminagua Alay y Narváez Palomeque.

A la Ing. Lita Scarlett Sorroza Ochoa, PhD., por toda su guía, consejos, paciencia y asesoramiento que nos brindó durante todo el proceso de ejecución de este trabajo.

Al Econ. Víctor Javier Garzón Montealegre, Mgs., y a la Ing. Leonor Margarita Rivera Intriago, PhD., por todas las observaciones y recomendaciones que nos dieron.

También agradecemos a la Blga. Mirka Quezada M., Ing. Ivanna Tuz Guncay, Ing. Wilmer Moreira Blacio y al Dr. Mario Loayza Armijos por darnos la apertura y ayuda en el uso de cada laboratorio del que están a cargo.

A nuestros amigos que siempre nos extendieron su ayuda en cada ocasión que la necesitábamos.

DEDICATORIA

A mis padres, ya que sin el apoyo de ellos no podría haber logrado todos mis propósitos, por acompañarme en mis días y noches de estudio, por apoyarme económicamente en mi carrera y ser el pilar fundamental de mi formación personal y profesional.

A mis hermanas y hermano que siempre estuvieron alentándome.

A mi ángel, mi abuela, que se lo orgullosa que estaría al día de hoy por mí.

Melissa Caiminagua Alay

El hombre que en gran parte soy hoy en día se lo debo a mi amada abuela, Ninfa Gloria Pérez Vera, que desde el cielo sigue siendo la luz en mi vida y calma en momentos difíciles, cuyas palabras de aliento y calidez nunca perderán valor, esto es por ti madre, con orgullo puedo levantar la cabeza y dedicarte este logro.

No obstante, mi fiel y especial gratitud también va dirigida a mis padres, Janeth Palomeque y Wilson Narváez, a quienes dedico este trabajo por su esfuerzo y ayuda constante a lo largo de mi formación académica, esperando que la salud y bendiciones colmen sus vidas.

Por último y no menos importante, dedico este trabajo a mi abuelo Carlos Cesar Palomeque Cárdenas, quien con temple y sabiduría nunca dejó de demostrar interés y apoyo en mi meta profesional.

Andrés Narváez Palomeque

RESUMEN

En la acuicultura es muy importante los procesos de desinfección para poder minimizar la carga de patógenos presentes en el agua y para ello se suele utilizar en las granjas acuícolas productos a base de calcio. Existen diferentes tipos de calcio entre ellos el hidróxido de calcio y el óxido de calcio son los más utilizados en los procesos de desinfección.

En este trabajo se trata de evaluar las diferentes dosis de óxido de calcio mediante la siembra en placa para reducir la carga bacteriana en aguas de piscina camaronera. Para ello se evaluaron tres dosis del producto comercial a fin de determinar la disminución de la carga de bacterias, la afectación a los parámetros físico químicos del agua y los efectos en la productividad natural.

Luego de evaluar los tres tratamientos se determinó que el tratamiento 3 (250 $\mu\text{L/L}$), redujo la cantidad de Vibrios y bacterias heterótrofas. También, este tratamiento redujo la productividad natural en un 91,11% en relación al control, con diferencias significativas. Al mismo tiempo este producto no tuvo afectación en ningún parámetro físico químico del agua.

Finalmente, la utilización de este producto luego de 7 horas, tuvo un efecto bacteriostático sobre las bacterias Vibrio y heterótrofas, al igual que la productividad natural.

Palabras claves: Vibrio, bacterias, óxido de calcio, bacteriostático, CHROMagar Vibrio.

ABSTRACT

In aquaculture, the processes of desinfection is very important to minimize the load of pathogens present in the water. For this purpose, calcium-based products are usually used in aquaculture farms. There are different types of calcium, including calcium hydroxide and calcium oxide, which are the most used in disinfection processes.

This work attempts to evaluate the different doses of calcium oxide by plating to reduce the bacterial load in shrimp pond waters. For this, three doses of the commercial product were evaluated to determine the decrease of the bacteria load, the impact on the physical and chemical parameters of the water and the effects on natural productivity.

After evaluating the three treatments, it was determined that treatment 3 (250 µl/L) reduced the amount of Vibrios and heterotrophic bacteria. Also, this treatment was significant different to the control by reducing natural productivity by 91.11%. At the same time, this product did not affect any physical and chemical parameters of the water.

Finally, the use of this product after 7 hours had a bacteriostatic effect on Vibrio and heterotrophic bacteria, as well as natural productivity.

Keywords: Vibrio, bacteria, calcium oxide, bacteriostatic, CHROMagar

INDICE

AGRADECIMIENTO.....	I
DEDICATORIA	II
RESUMEN	III
ABSTRACT.....	IV
CAPITULO 1	1
INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMÁTICA.....	3
JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVOS	5
Objetivo General	5
Objetivos Específicos.....	5
HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	5
CAPITULO 2	6
MARCO TEÓRICO.....	6
1. Generalidades de la Acuicultura.....	6
2. Enfermedades en Acuicultura.....	7
3. Enfermedades bacterianas	8
3.1. Vibrios.....	8
3.2. Vibriosis.....	9
3.2.1. <i>Vibrio harveyi</i>	10
3.2.2. <i>Vibrio vulnificus</i>	10
3.2.3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10
3.2.4. <i>Vibrio alginolyticus</i>	11
3.3. Vibriosis en larvicultura	12
3.4. Vibriosis en etapa de engorde.....	12
4. Calidad de agua en Acuicultura e Impacto del sector Agrícola	12
4.1. Alcalinidad en los cultivos de camarón	13
4.2. Desinfección de agua.....	14
5. Óxido de calcio	14
5.1. Productos de base de óxido de calcio de uso acuícola	15
6. Óxido de calcio 30%	16
CAPITULO 3	17
MATERIALES Y MÉTODOS	17

1. Materiales y Equipos	17
2. Metodología	18
2.1. Ubicación del área de estudio	18
2.2. Diseño del modelo experimental	18
2.3. Preparación del inóculo de Vibrio	18
2.4. Preparación de medios de cultivo	19
2.5. Dosis de los tratamientos	19
2.6. Siembra en placa	19
2.7. Conteo de unidades formadoras de colonias	20
2.8. Toma de parámetros	20
2.9. Conteo de microalgas	20
2.10. Análisis estadístico	20
CAPITULO 4	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
CAPITULO 5	30
CONCLUSIONES	30
RECOMENDACIONES	31
CAPITULO 6	32
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	41

Índice de figuras.

Figura 1. Modelo de diseño experimental	18
Figura 2. Prevalencia de bacterias <i>Vibrio</i> generales presentes en las muestras, en relación al tiempo y tratamientos en CHROMAGAR <i>Vibrio</i> (C.A).	21
Figura 3. <i>V. parahaemolyticus</i> post aplicación de dosis de óxido de calcio.....	23
Figura 4. Prevalencia de <i>V. vulnificus</i> en relación al tiempo y tratamientos.	23
Figura 5. <i>V. alginolyticus</i> post aplicación de dosis de óxido de calcio.....	24
Figura 6. Prevalencia de bacterias Gram negativas y Gram positivas generales presentes en las muestras en relación al tiempo y tratamientos en Agar Marino (A.M).	25
Figura 7. Prevalencia Microalgas post aplicación de las dosis de óxido de calcio.....	27

Índice de tablas.

Tabla 1. Enfermedades causadas por especies de <i>Vibrios</i> en camarones.	11
Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de BIO CAL.....	16
Tabla 3. Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para <i>Vibrios</i> generales del medio.	22
Tabla 4. Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para bacterias Gram negativas y Gram positivas.	26
Tabla 5. Rango de parámetros de los tratamientos.	27
Tabla 6. Interacción entre tratamientos en cuanto a la prevalencia de Microalgas presentes en los recipientes.....	28
Tabla 7. Conteo microalgal y reducción porcentual en cada tratamiento en relación al tiempo.	28

Índice de anexos.

Anexo 1. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para <i>Vibrios</i> generales.	41
Anexo 2. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para <i>V. parahemolyticus</i>	41
Anexo 3 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para <i>V. parahemolyticus</i>	42

Anexo 4 Comparación múltiple de los tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor del género <i>parahaemolyticus</i>	42
Anexo 5 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.	42
Anexo 6. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para <i>V. vulnificus</i>	43
Anexo 7 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para <i>V. vulnificus</i>	43
Anexo 8 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto a nivel de significancia ($p < 0,05$) del genero de <i>V. vulnificus</i>	44
Anexo 9 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.	44
Anexo 10 Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para <i>V. alginolyticus</i>	44
Anexo 11 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para <i>V. alginolyticus</i>	45
Anexo 12 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor del genero <i>V. alginolyticus</i>	45
Anexo 13 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.	46
Anexo 14 Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para bacterias Gram negativas y Gram positivas.	46
Anexo 15 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor de bacterias Gram negativas y Gram positivas.	47
Anexo 16 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.	47
Anexo 17 Comparación de las medias en relación a la prevalencia de microalgas post aplicación de los tratamientos.	48
Anexo 18 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto a nivel de significancia de alfa para la reducción de microalgas presentes en los recipientes.	48
Anexo 19 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos para microalgas.	49
Anexo 20. Toma de parámetros físicos en el agua.	50
Anexo 21. Elaboración de medios de cultivo	50
Anexo 22. Siembra en placa en cámara de flujo laminar	50
Anexo 23. Conteo de UFC en placa.	51
Anexo 24. Siembra en placa en cámara de flujo laminar.	51
Anexo 25. Esterilización de agares en autoclave.	51

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

El Ecuador se encuentra entre los países con más amplia diversidad de recursos naturales aprovechables en el mundo, favoreciendo a los sectores agrícolas, ganaderos y acuícolas, entre otros. El sector camaronero en Ecuador genera aproximadamente 260 mil plazas de trabajo de forma directa o indirecta (Loayza *et al.*, 2020).

El sector acuícola es parte importante en la creación de fuentes de trabajo y alimento, por lo que los especímenes acuáticos han sido de gran importancia dentro de países dedicados a la acuicultura, posicionándose el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en América Latina como una de las mayores producciones a escala mundial, sobresaliendo tanto en el mercado nacional e internacional (Molina *et al.*, 2021).

Según los datos estadísticos a escala global sobre la acuicultura recopilado por la FAO (2020), la producción mundial acuícola alcanzó niveles históricos con 114 millones de toneladas de alimento vivo para el año 2018, consiguiendo un total en valor de venta de explotación aproximado de 264 mil millones de dólares estadounidenses, considerando que solo el cultivo de crustáceos género casi 10 millones de toneladas de producción e ingresos alrededor de 70 mil millones de dólares.

Por lo tanto, es importante tener en consideración los parámetros, químicos, físicos y biológicos dentro de un cultivo acuícola, porque pueden brindar información valiosa sobre el estado de calidad del recurso hídrico utilizable (Trejo *et al.*, 2021).

No obstante, es importante tener en consideración al parámetro biológico del cuerpo de agua debido a que grandes cargas de material microbiano pueden establecerse en el agua y perjudicar de diferentes maneras al cultivo, en casos de presencia de organismos patógenos microbianos como *Vibrio* las consecuencias de un manejo no adecuado nos pueden llevar a la pérdida total de organismos vivos.

Los microorganismos bacterianos se conocen como individuos de vida libre, presentes en el sedimento de los estanques o en asociación con partículas flotantes en el agua, el sedimento suele actuar como un refugio de estos organismos, por lo que frecuentemente, las aglomeraciones bacterianas son más elevadas en los sedimentos de los cultivos prestó a un mayor contenido de materia orgánica, fuente principal de consumo

para bacterias heterotróficas. Las especies bacterianas del género *Vibrio* son bacilos curvos Gram negativos, capaces de habitar en agua dulce como salada, provocando episodios infecciosos severos en camarón blanco *L. vannamei* (Peñaranda *et al.*, 2020).

En busca de reducir esta carga bacteriana del agua y suelo se suele usar comúnmente productos cálcicos. Según Carranza (2005), hay diferentes opiniones entre los camaronicultores en cuanto al tipo de cal a usar, las dosis, los objetivos del encalado e incluso cuando aplicar. Algunos opinan que solo presenta beneficios en cuanto la esterilización del estanque, mientras que otros hablan de múltiples beneficios en su utilización. Por lo tanto, un estudio a profundidad del óxido de calcio en la actualidad sería de gran aporte ya que se resolverían problemas en la carga bacteria presente en un cultivo.

PROBLEMÁTICA

El agua es un medio vital para el desarrollo de diferentes especies de interés acuícola ya sean peces, crustáceos o moluscos, siendo en este medio donde pueden desarrollarse normalmente siempre y cuando se cumplan las condiciones adecuadas, pese a esto el agua también forma parte de las principales vías en la transmisión de enfermedades hacia los sistemas de cultivo y así mismo a las especies que están cultivadas, por lo tanto es importante manifestar la importancia de la calidad y sanidad del agua empleada en un cultivo.

En el agua la presencia de microorganismos no benéficos son un problema ya que su concentración elevada en el agua ocasiona problemas y alteraciones en los organismos acuáticos. La presencia de bacterias en este caso del género *Vibrio* en el cultivo de camarón, pueden llegar a perjudicar la salud del animal provocando el aumento de sus mortalidades, afectando directamente con pérdidas económicas al camaronicultor.

JUSTIFICACIÓN

Entre los muchos problemas que se presentan en la industria alimentaria acuícola, se pueden señalar los problemas patológicos desde el periodo de larvas hasta en el periodo de engorde, teniendo en cuenta que en el estadio larvario es donde se considera al animal un poco más frágil inmunológicamente, ya que tiende a ser más débil por su poco desarrollo.

La acuicultura desde hace ya varios años ha atravesado por diferentes enfermedades producidas por virus, patógenos, bacterias que han causado muchas pérdidas en los cultivos, un ejemplo claro es como la mancha blanca en el siglo XXI afecto de una forma notable y lamentable en diferentes fincas acuícolas, lo cual con el pasar del tiempo se fue duplicando (Sornoza *et al.*, 2022).

Este solo es uno de los muchos retos que atraviesa la camaronicultura, existen también las bacterias Gram negativas con las que se han dado significables pérdidas que incluyen producciones completas, en este caso podemos mencionar a los Vibrios, que son muy comunes en los cultivos de camarón blanco, y siendo una de las bacterias Gram negativas móviles que más se encuentran a nivel mundial.

Realizar acciones preventivas que nos ayuden en los problemas bacterianos dentro de un cultivo es una alternativa viable para lograr mantener vivos a los organismos durante su proceso de crianza. Contener una gran carga bacteriana en el medio presenta desventajas por lo cual aplicar productos que solucionen estos inconvenientes es lo más factible.

El óxido de calcio (CaO) es un producto usado comúnmente en prácticas agropecuarias, cultivos agrícolas y en el tratamiento de aguas residuales, mostrando ser una excelente herramienta en cuanto al control de bacterias y patógenos, regulación de pH del agua y también presentando beneficios en la reducción del fitoplancton no deseado en los cultivos de camarones, a pesar de que tiene poco estudio en cuanto al campo acuícola.

Por lo que se considera apropiado realizar un estudio que aporte resultados sobre el beneficio de aplicar óxido de calcio en agua destinada al cultivo de organismos acuáticos. En la actualidad en el mercado existen varios productos como carbonatos pulverizados, cal apagada, cales hidratadas, etc., uno de los más típicos es el carbonato

de calcio que se usan en los encalados de las piscinas camaroneras, ya que a diferencia de otros como la cal viva que puede quemar la piel de las personas, el carbonato es más seguro de aplicar ya que no llega a presentar peligros mayores y es recomendado para elevar los valores de pH.

Existen diferentes productos comerciales a base de piedra caliza, muchos de estos son especialmente para el área agrícola. En la acuicultura tenemos al P24 que es de uso muy común, es a base de hidróxido de calcio, que ayuda a descomponer la materia orgánica presente en los suelos y así mismo para obtener un buen secado y desinfección.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar las diferentes dosis de óxido de calcio mediante la siembra en placa para reducir la carga bacteriana en aguas de piscina camaronera.

Objetivos Específicos

- Comparar la reducción de la carga bacteriana presente en el agua con diferentes dosis de óxido de calcio
- Analizar la incidencia del óxido de calcio en la presencia de microalgas.
- Identificar las variaciones de los factores físicos del agua.

HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

El óxido de calcio (CaO) puede eliminar en gran parte a las bacterias presentes en el agua destinada al cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

CAPITULO 2

MARCO TEÓRICO

1. Generalidades de la Acuicultura

La acuicultura la podemos definir como el arte de producción de alimento marino animal y vegetal que se remonta desde hace años, si hablamos históricamente podemos mencionar los inicios de la acuicultura de aguas interiores en China hace 2 400 años atrás. Así también el primer escrito se desarrolló 475 años A.C en el mismo país por Fan Lai, “Classic of fish culture” o “Primer Tratado de la Piscicultura”, el cual explica sobre la piscicultura de la carpa, que era y sigue siendo un pez de gran interés en esta nación (FAO, 2022).

La acuicultura la podemos encontrar de diferentes formas, ya sea en las típicas piscinas en continente o isla, en jaulas ubicadas directamente en el mar, los laboratorios productores de microalgas, silos, raceways, hatchery, piscicultura ornamental, etc. Todas estas muestran el aporte a la producción de organismos acuáticos que reflejan grandes sumas económicas globalmente. Esta industria genera millones de dólares en producciones de especies acuáticas donde podemos mencionar a los peces, crustáceos, bivalvos, micro y macro algas marinas.

Si hablamos en simples términos la acuicultura en Ecuador no solo presenta valor económico sino que también tiene un gran valor alimentario de forma nacional e internacional, por esto es que la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), indica que tanto la acuicultura y la pesca son de suma importancia en la producción de alimentos, pero durante un buen tiempo se ha llegado a ver afectada por la inseguridad alimentaria que va aumentando junto al estrés nutricional de la misma (Sonnenholzner, 2020).

2. Enfermedades en Acuicultura

El incremento de la producción acuícola se ha visto acompañado por un desarrollo de dificultades ecológicas y patológicas, siendo este último el de mayor preocupación para los cultivos acuícolas. La elevada incidencia de densidad de siembra, acompañado de un manejo deficiente de los animales, variaciones en los factores medio ambientales, pésima calidad de agua y una deficiente nutrición fomentan a que los organismos se presenten inmunológicamente deprimidos, volviéndose susceptibles a variedad de infecciones bacterianas, producidas por patógenos oportunistas y facultativos.

Las bacterias de mayor incidencia en los cultivos acuícolas se clasifican como bacterias Gram negativas, un ejemplo es que estas también pueden afectar a los peces, en gran medida, provocan el síndrome de la septicemia hemorrágica bacteriana, mientras bacterias Gram positivas, por otro lado, ocasionan infecciones granulomatosas (García *et al.*, 2021).

En los procesos de producción acuícola dentro de los principales inconvenientes que ha venido atravesando, es la aparición de enfermedades presentadas por agentes biológicos, estos siendo microorganismos bacterianos, causantes de impactos en los múltiples sistemas de producción. Dentro del cultivo de camarón *P. vannamei*, los patógenos bacterianos con alto impacto son la del género *Vibrio*, flagelados componentes de la microbiota estuarina y bacilos Gram-negativos. Según investigaciones científicas, las especies más amenazantes de este género son el *V. parahaemolyticus*, *V. campbellii*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* y *V. splendidus* (Torres *et al.*, 2021).

Por otro lado, según los estudios de Osorio y Cuéllar (2019), estas especies oportunistas perjudican a la producción por lo que en los camarones se da la vibriosis, la cual llega a afectar mucho más al animal cuando este se encuentra en condiciones que no son favorables, la vibriosis puede verse con síntomas característicos tales como la letargia, hipoxia, el cuerpo y las branquias empiezan a tornarse de color rojo.

3. Enfermedades bacterianas

Las bacterias son microorganismos que viven de forma libre, se conoce que se las puede encontrar en la columna de agua y en el suelo cuando la concentración es mayor debido a que el contenido de materia orgánica es en grandes cantidades, lo cual cuenta como una fuente primordial de alimento para este tipo de bacterias heterotróficas (Peñaranda *et al.*, 2020).

Enfocándonos en los agentes bacterianos, el camarón es muy susceptible a su contaminación directa, ya que se pueden contagiar desde su medio acuático, según los estudios realizados por Varela y Martínez (2020) existe una gran variedad de agentes que son implicados en los brotes, donde podemos incluir a las muchas especies y cepas de *Vibrio* spp.

La industria destinada a la camaronicultura se enfrenta a un desafío cada vez mayor: la presencia de bacterias patógenas en malas condiciones de agua. Aunque los antibióticos pueden ser útiles para controlar el crecimiento de estas bacterias, esta práctica está prohibida debido a los residuos tóxicos y al peligro de la resistencia antimicrobiana, provocando que las bacterias desarrollen una resistencia a los mismos antibióticos (Fitriadi *et al.*, 2023).

La industria destinada a la camaronicultura se enfrenta a un desafío cada vez mayor: la presencia de bacterias patógenas en malas condiciones de agua. Aunque los antibióticos pueden ser útiles para controlar el crecimiento de estas bacterias, esta práctica está prohibida debido a los residuos tóxicos y al peligro de la resistencia antimicrobiana, provocando que las bacterias desarrollen una resistencia a los mismos antibióticos.

Todas estas enfermedades pueden transmitirse al animal por medio de su hábitat en los cuerpos de agua correspondientes, siendo así que los organismos acuáticos, en su mayoría las especies de aguas marinas tienen un contacto directo con estos agentes aumentando la probabilidad de obtener una infección.

3.1. Vibrios

En el año 1854 el *Vibrio cholerae* fue descrito como la primera especie de Vibrio, esto se dio por estudios realizados en Florencia por un brote de cólera. Los Vibrios son bacilos asporógenos Gram negativos que pueden ser curvos o rectos, tienen un metabolismo fermentativo facultativo. Estas bacterias suelen ser habitantes ubicuos en

los diferentes medios acuáticos, siendo así que los podemos encontrar en aguas marinas, estuarios, sedimentos y en cultivos acuícolas (Fernandes *et al.*, 2022).

Todas estas bacterias se originan en ambientes acuáticos, especialmente los marinos, que sean de aguas cálidas, también se presentan en agua salobres, estas características son las más comunes donde los Vibrios pueden desarrollarse.

3.2. Vibriosis

En pocas palabras la vibriosis es la enfermedad causada por los Vibrios, su transmisión puede darse por diferentes formas hacia el animal, por el medio acuático, las aves también participan en la dispersión (Cardoso *et al.*, 2018), por larvas ya enfermas, etc. En el camarón esta enfermedad puede afectar mucho cuando se lo tiene bajo factores estresantes, parámetros inapropiados, densidades de cultivo elevadas, etc., (Osorio & Cuéllar, 2019). Esto nos indica que, si las características de cultivo necesarias para la producción de camarón son óptimas, esta enfermedad tal vez pueda controlarse mejor dentro del estanque y no podría acabar con toda la siembra.

En la acuicultura existen muchos casos de vibriosis en camarones, ya que esta bacteria según Austin *et al.*, (2018) tienen como nicho ecológico al agua de mar, y este es uno de los principales recursos que se usan al momento de cultivar camarón. En muchos casos se menciona que en ciertas zonas con cierto clima tiene más incidencia a un tipo de vibrio Rubio *et al.*, (2020). Esta enfermedad puede causar mortalidad dentro de estas fincas agropecuarias, pero también al momento de su salida y posterior comercialización, las personas pueden llegar a consumir un organismo que estuvo contaminado y podrían enfermarse.

Estudios por parte de Anjel (2013) indican que la vibriosis en los camarones pueden presentarse de diferentes formas como la vibriosis oral, localizada en heridas, entérica, cuticular, sistémica, en apéndices, etc. esta enfermedad puede estar presente tanto en la etapa de larva como en el periodo de engorde, cuando esto sucedía se daba como medida de control la aplicación de Florfenicol y Enrofloxacin, se lo agregaba al alimento y se alimentaba cada 8 horas en un periodo de 10 días.

Algunos de los Vibrios que más impacto ha tenido la acuicultura son el *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. alginolyticus*.

3.2.1. *Vibrio harveyi*

Este *Vibrio* genera diferentes enfermedades en el camarón entre esas tenemos la necrosis hepatopancreática séptica (SHPN) (Covarrubias *et al.*, 2018), la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND), esta enfermedad empieza colonizando la hepatopáncreas liberando toxinas afectando al órgano y puede aumentar las mortalidades en la producción (Marfileño, Gavaliz, & Molina, 2023).

3.2.2. *Vibrio vulnificus*

Este género causa varias enfermedades en varias etapas del camarón, como indica Rubio *et al.*, (2020), este vibrio puede ocasionar enfermedades de septicemia bacteriana como la hepatopancreatitis necrotizante séptica, pero que este género comparte órganos blancos con otros tipos de *Vibrios* y por esta razón algunas veces se dificulta el diagnóstico, pero su prevalencia depende de los factores climatológicos de la época de año y la región.

Por otro lado, también produce el síndrome de Zoea, el cual provoca mortalidades con índices altos, anormalidades sistémicas de las larvas y problemas en intestino y hepatopáncreas del animal (Acosta, 2022).

3.2.3. *Vibrio parahaemolyticus*

El *Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria Gram negativa móvil que se caracteriza por ser anaeróbica facultativa, mesofílica y halotolerante, en las épocas frías la podemos encontrar en los sedimentos y en climas cálidos vuelven a la columna de agua (Barrantes, 2023).

Gan (2022) manifiesta lo siguiente respecto a este vibrio, en varios estudios se ha demostrado que las bacterias pertenecientes a las *Vibrionaceae* tienen la capacidad de desencadenar necrosis muscular en crustáceos. Esta situación también se aplica a la inocuidad de los alimentos, ya que el deterioro del músculo de los crustáceos a menudo se debe a la acumulación y/o contaminación por microorganismos, incluidos los patógenos zoonóticos y ocasiona la enfermedad de la necrosis aguda de la hepatopáncreas (Barrantes, 2023).

3.2.4. *Vibrio alginolyticus*

Este tipo de *Vibrio* es una bacteria Gram negativa que se encuentra de forma natural en los cuerpos de agua marina (Li *et al.*, 2021). El cambio climático y las elevadas temperaturas pueden ayudar en la proliferación de estas bacterias (Matamp & G. Bhat, 2019). En los camarones genera problemas de salud y los inmunodeprime viéndose vulnerables ante los síntomas de infección.

En la siguiente tabla se pueden detallar varias enfermedades causadas por especies de *Vibrios*:

Tabla 1. Enfermedades causadas por especies de *Vibrios* en camarones.

Diseases of decapod crustaceans caused by or associated with <i>Vibrio</i> species.				
Disease	Common <i>Vibrio</i> species	Known susceptible crustaceans		References
Zoea II Syndrome (larvae)	<i>V. alginolyticus</i> <i>V. campbellii</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. mimicus</i> <i>V. parahaemolyticus</i>	Shrimp	<i>Penaeus stylirostris</i> <i>Penaeus vannamei</i>	Soto-Rodríguez <i>et al.</i> , 2006ab Cuéllar-Anjel <i>et al.</i> , 2014 Kumar <i>et al.</i> (2017)
Septic Hepatopancreatic Necrosis Disease (hatchery and grow-out)	<i>V. alginolyticus</i> <i>V. campbellii</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. penaeicida</i> <i>V. vulnificus</i>	Shrimp	All farmed shrimp	Morales-Covarrubias y Gomez-Gil (2014) Stern y Sonnenholzner (2014) Morales-Covarrubias <i>et al.</i> (2018)
Luminescent vibriosis (eggs and larvae)	<i>V. campbellii</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. splendidus</i>	Shrimp	<i>Penaeus indicus</i> <i>Penaeus monodon</i> <i>Penaeus vannamei</i>	Lavilla-Pitogo <i>et al.</i> (1990) Diggles <i>et al.</i> (2000)
Shell disease (juvenile and adults)	Chitinolytic <i>Vibrio</i> spp. Including <i>V. alginolyticus</i> <i>V. anguillarum</i> <i>V. fluviales</i> <i>V. mimicus</i> <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. splendidus</i> <i>V. vulnificus</i>	Shrimp	<i>Macrobrachium rosenbergii</i> <i>Penaeus sp.</i>	Cook y Lofton (1973) Porter <i>et al.</i> (2001)
Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (postlarvae)	AHPND-causing <i>V. campbellii</i> AHPND-causing <i>V. harveyi</i> AHPND-causing <i>V. owensii</i> AHPND-causing	Shrimp	<i>Penaeus monodon</i> <i>Penaeus vannamei</i> <i>Penaeus chinensis</i> <i>Penaeus japonicus</i>	Yang <i>et al.</i> (2014) Kondo <i>et al.</i> (2015) Liu <i>et al.</i> (2015) Choy <i>et al.</i> (2017) Dong <i>et al.</i> (2017a) Muthukrishnan <i>et al.</i> (2019)

	V. <i>parahaemolyticus</i> (V _{PAHPND})			OIE (2019) Prachumwat et al. (2020)
Summer síndrome (grow-out)	<i>V. nigrripulchritudo</i>	Shrimp	<i>Penaeus japonicus</i> <i>Penaeus</i> <i>stylirostris</i>	Goarant et al. (2006) Sakai et al. (2007)

Fuente: (De Souza & Wan, 2021)

3.3. Vibriosis en larvicultura

En esta etapa el animal es más susceptible a infectarse por patógenos, en este periodo se observa las bolitas blancas que es una descamación celular que se da en el epitelio hepato-intestinal, por medio del tracto digestivo ingresan y colonizan el intestino medio, pero también colonizan la zona del apéndice y la boca. Otras observaciones clínicas que se observan es la coloración roja, expansión de los cromatóforos, acalambamiento, melanización, etc. (Anjel, 2013). Estudios realizados por Xue *et al.*, (2022) respaldan lo dicho, donde indican que en la etapa de larva el camarón es más frágil y cuenta con los porcentajes más críticos en la supervivencia.

3.4. Vibriosis en etapa de engorde

Anjel (2013) explica que en este periodo los camarones infectados presentan signos clínicos que dependen del grado de gravedad de infección, en estos casos pueden presentar nados erráticos, letargia, se puede observar el intestino vacío, color rojizo en los apéndices, perforaciones en el exoesqueleto, la cutícula se melaniza y pueden mostrar anorexia.

4. Calidad de agua en Acuicultura e Impacto del sector Agrícola

Cuando hablamos de calidad de agua nos referimos a aquellas condiciones o parámetros que deben ser óptimos para su uso, por esta razón debe ser sostenible, eficiente y que a la vez pueda cumplir determinados objetivos según sus características químicas, físicas y microbiológicas, pero también enfocado en el uso que se le vaya a dar. En el caso de la acuicultura la calidad va a depender del animal que se va a cultivar, ya que cada especie tiene rangos óptimos de los parámetros para obtener buen crecimiento (Berger, 2020).

La manera recurrente en la que se vierten aguas residuales, sin ser tratadas, al océano se practica por una elevada cantidad de sectores productivos. Los contaminantes

resultantes de los sistemas de producción agropecuaria transitan por medio de los ríos hacia los cuerpos de agua oceánicos. La liberación de nutrientes químicos a los mares causa la disminución de los niveles de oxígeno, mortalidad de la vida vegetal y una fuerte disminución de forma general en la calidad del agua de mar (Rojas & Salazar, 2018).

La aglomeración de materiales contaminantes degradantes de la calidad del agua costera tiene consecuencias económicas en las unidades de producción acuícolas cercanas a zonas con vocación agrícola. Por lo cual, se pone en conocimiento la necesidad de contar con una buena caracterización de los desplazamientos de los productos resultantes de la actividad agrícola, al igual que de sus efectos en la sustentabilidad de estas unidades de producción (Rojas & Salazar, 2018). En estos fertilizantes de uso agrícola hay gran cantidad de nutrientes, cantidades considerables de fósforo y nitrógeno que dan apertura a la proliferación de bacterias tales como los *Vibrios*.

En los cultivos acuícolas muchas veces esta calidad se ve afectada directamente por efluentes de agua que abastecen las piscinas camaroneras, entre los principales elementos contaminantes tenemos los producidos por el sector agrícola, el uso de pesticidas y fertilizantes destruye en gran medida los recursos hídricos, los cuales se descargan como aguas residuales a los ríos que terminan desembocando en el mar.

Guanoquiza y Antúnez (2019), también afirma que la agricultura es una causa de contaminación hídrica, al aplicar fertilizantes, donde luego por medio de las lluvias o riego son arrastrados a los ríos y vertientes y por efecto terminan contaminando el agua.

4.1. Alcalinidad en los cultivos de camarón

Venkateswarlu *et al.*, (2019) , nos menciona que, la alcalinidad juega un rol crucial en los estanques de cultivo de camarones, siendo uno de los parámetros de mayor relevancia dentro de un cultivo de camarón, esto debido a que es influyente para el aumento o disminución de otros parámetros, al igual que un bajo nivel del mismo es causa suficiente para la proliferación de bacterias y microorganismos oportunistas.

García *et al.*, (2018), menciona que la alcalinidad en el agua se produce por la concentración de iones de carbonato, bicarbonato y la dureza, por la concentración de iones de magnesio y calcio. En estanques de cultivo de camarón de la especie *P. vannamei* la alcalinidad se sugiere no baje de 80 mg/L CaCO₃ para obtener un crecimiento y

supervivencia óptima. En los cuerpos hídricos cuando el agua se encuentra en niveles bajo de alcalinidad, el pH varía mucho y estos cambios fuertes pueden causar bajo crecimiento, estrés e incluso mortalidad en el camarón.

La alcalinidad total del agua funciona como un amortiguador para la columna de agua durante el proceso de muda, ayudando a neutralizar los iones de hidrógeno excesivos presentes en la interfaz. Esto ayuda a estabilizar el pH, previniendo cambios repentinos. Dado que la especie *P. vannamei* no almacena calcio de forma interna como otros crustáceos, por lo tanto, se ve obligada a absorber el mineral del agua durante el proceso de muda cuando se encuentra en bajas salinidades (Saraswathy *et al.*, 2019).

La baja alcalinidad provoca la reducción del crecimiento y, en casos extremos, causa mortalidad, por otro lado, los niveles elevados de alcalinidad pueden frenar el proceso de muda debido a la excesiva pérdida de sal.

4.2. Desinfección de agua

La desinfección del agua para uso acuícola está centrada en la eliminación de patógenos y a su vez corrección de los parámetros dentro del suelo y agua, esta acción comúnmente se realiza adicionando productos cálcicos de fuerte acción que reduzcan la concentración de bacterias, algas y otros elementos de estado no benéfico.

La cantidad de cal destinada a ser usada dependerá del tipo de cal, el nivel de alcalinidad y pH del agua. Entre los productos cálcicos existentes, todos se crean a partir de piedra caliza (carbonato de calcio), aunque algunas otras vienen adicionado con magnesio, esta piedra es pulverizada formando la cal comercial o bien llamada cal agrícola, con frecuencia se suele quemar la piedra caliza convirtiéndola en óxido de calcio, este producto cálcico tiene el nombre comercial de cal quemada, y al ser adicionada con agua se vuelve en hidróxido de calcio, este otro tipo de cal se conoce con el nombre de cal hidratada, siendo los 2 últimos característicos por elevar el pH (Arboleda, 2006).

5. Óxido de calcio

El óxido de calcio también conocido como cal que quema, cal no hidratada o cal viva, es un producto que se deriva de la piedra caliza, la cual genera una reacción exotérmica cuando tiene contacto con el agua (Amaya, Jaramillo, & Ovando, 2018), que se usa en diferentes protocolos de desinfección de suelo y agua, en cultivos agrícolas y otros

procesos. En la acuicultura existe el poco uso debido a la agresividad que presenta este producto, pero uno de los usos principales que puede ser relacionado con la acuicultura es el tratamiento de suelos o lodos de aguas residuales.

En la revisión de Cárdenas y Molina (2022), nos demuestran un claro ejemplo de como podrían implementar el óxido de calcio para realizar una desinfección en un cultivo acuícola, en este estudio se realizó este procedimiento para disminuir microorganismos patógenos y los olores, mediante alternativas de estabilización con óxido de calcio, este tratamiento presenta ventajas sobre estabilizaciones como la digestión aerobia, hizo que la humedad del suelo se pueda reducir de un 10 al 12 % y que los contenidos orgánicos se encuentren entre el 4 y el 9 %. Cabe recalcar que todos estos resultados pueden presentar variaciones según la cal añadida.

5.1. Productos de base de óxido de calcio de uso acuícola

En el cultivo de camarón es bastante usual la aplicación de insumos como la Cal P-24, siendo este un compuesto de hidróxido de calcio, destinado a la limpieza de los suelos en piscinas del sector camaronero donde se realizará la siembra, también es utilizado como regulador de pH, control de enfermedades bacterianas, reductor en el crecimiento de algas y microorganismos (Briones & Solóran, 2018).

La piedra caliza por otro lado tiene diferentes usos, en las piscinas acuícolas donde existe un problema relacionado a la infestación de mejillones, que cuando su contenido es excesivo se considera como una plaga, esta situación fue estudiada por Morales *et al.*, (2022), que indica necesario llevar un control de estos organismos en sus diferentes etapas de vida, para saber de qué forma y en qué dosis aplicar, para obtener una buena desinfección.

Skretting (2023), manifiesta a través de ensayos experimentales donde se evaluó el uso de carbonato de calcio, hidróxido de calcio y sulfato de calcio en dosificaciones de 2, 5 y 10 sacos/Ha, que la dosificación adecuada de productos cálcicos dependiendo del caso no debería superar los 5 sacos/ha, siendo relevantes en el aumento de pH como lo fue el hidróxido de calcio, conociendo que cada saco de sulfato de calcio y carbonato de calcio tienen un contenido de 45 Kg, mientras que los sacos de hidróxido de calcio tienen un contenido de 25 Kg. En este ensayo se pudo observar un balance mayor de minerales (Ca: Mg: K) y corrección del pH en productos como el carbonato de calcio.

6. Óxido de calcio 30%

El óxido de calcio es un producto de uso agrícola, el cual en esta presentación es evaluado como un producto orgánico que contiene 30% de calcio y 70% de componentes carbónicos líquidos, se puede encontrar como una suspensión concentrada floable, que ayuda a neutralizar de forma rápida el pH del suelo, ya que al momento de aplicarlo usa el agua como un vehículo y penetra el suelo

En el proceso de aplicación ocurre una acción física, biológica-desinfectante con reacciones exotérmicas, este producto también realiza una acción nutriente, cicatrizante y desinfectante cuando se lo coloca por aspersiones, sus propiedades físicas y químicas se encuentran detalladas en la tabla a continuación:

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de BIO CAL.

Propiedades	
Aspecto	Suspensión concentrada floable
Estado físico	Líquido viscoso
Color	Verde débil
Olor	Característico de la cal
Densidad	1.28
pH	7.2 ± 0.1
Solubilidad	Alta en agua

CAPITULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales y Equipos

Materiales

- Cajas Petri
- Micropipetas
- Fundas Polifan
- Tubos de ensayo
- Rotuladores
- Recipientes plásticos
- Cuaderno
- Mecheros
- Erlenmeyer
- Asa de Drigalski
- Alcohol industrial al 90%
- Agua Destilada
- Recipientes de 10 L
- Gradillas
- Hisopos
- Muestra de Agua: Camaronera

Equipos

- Autoclave
- Cámara de flujo continuo
- Estufa
- Balanza
- Salinómetro
- Multiparámetro
- Microscopio
- Cámara de Neubauer
- Centrifugadora

Sustancias

- Agar marino
- CHROMagar Vibrio
- Marine Both
- BIO-CAL SC
- Cloruro de Sodio

2. Metodología

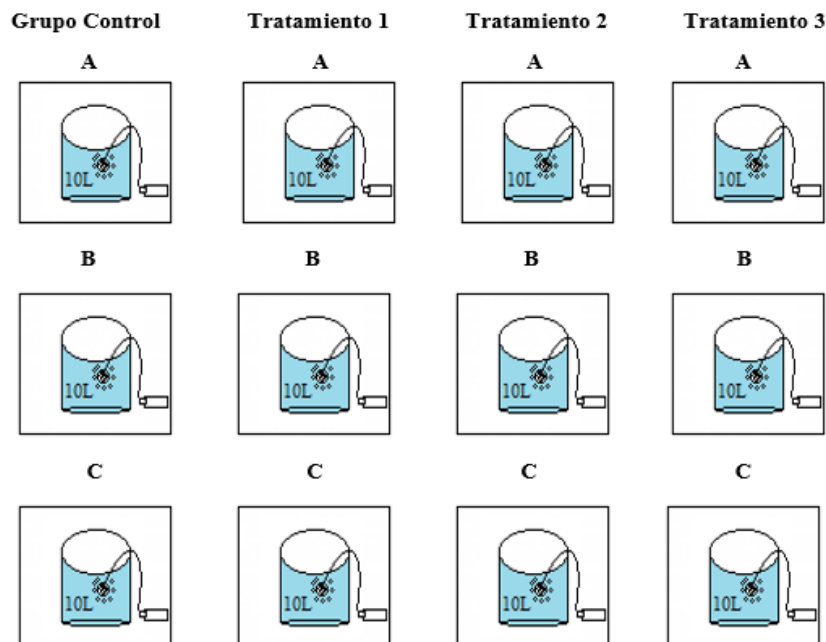
2.1. Ubicación del área de estudio

Todo el trabajo experimental se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, donde se usaron 5 laboratorios donde se realizaron las diferentes actividades necesarias para ejecutar el proyecto.

2.2. Diseño del modelo experimental

Antes de montar el diseño, se desinfectó con alcohol toda las superficies y los materiales con los que se va a trabajar. El modelo planteado constó de 3 tratamientos con sus respectivas replicas y grupo control, todos los recipientes contaban con un aireador las 24 horas, cada recipiente contuvo 10 litros de agua de una camaronera de la ciudad de Machala del sector Puerto Grande.

Figura 1. Modelo de diseño experimental



2.3. Preparación del inculo de Vibrio.

Para obtener las colonias bacterianas del género Vibrio, se preparó un caldo marino con la finalidad de replicar las bacterias y obtener mayor cantidad de estas, este proceso consiste en colocar las bacterias por 24 horas en el caldo y luego se las centrifuga, donde al finalizar se rescata todo el material sobrenadante y se inocula en la unidad experimental.

2.4. Preparación de medios de cultivo

Una vez que se obtuvo la carga bacteriana deseada en el cuerpo de agua, en todos los tratamientos se trabajó con 2 agares, CHROMagar™ Vibrio el cual nos ayudó para el aislamiento y la detección de diferentes tipos de Vibrios, entre esos el *V. vulnificus* / *V. cholerae* que en el agar toma una coloración turquesa, *V. parahaemolyticus* que toma una coloración violeta y el *V. alginolyticus* que tomó una coloración crema (CHROMagar™, 2023).

El otro agar que se usó fue el Agar Marino, que ayuda en el aislamiento y conteo de bacterias marinas heterotróficas que gracias a los nutrientes que tiene este agar es posible cultivar gran parte de estas (Condalab, 2022).

2.5. Dosis de los tratamientos

Según los valores para uso agrícola que indica el fabricante del producto a usar, se realizó un pequeño ensayo donde se determinaron las siguientes dosis:

Tratamiento 1: 84 µl/L

Tratamiento 2: 167 µl/L

Tratamiento 3: 250 µl/L

2.6. Siembra en placa

Se evaluaron diferentes tiempos, para ello se tomaron muestras a los recipientes a las 3 horas (11:00 am), a las 7 horas (15:00 pm) y a las 24 horas.

Se realizó por cada recipiente de tratamiento siembras de forma triplicada, en muestra directa, dilución 1 y dilución 2, para las disoluciones se usó cloruro de sodio y agua destilada

Se hicieron diluciones de forma que en cada siembra de las cajas Petri se pueda contabilizar un número de unidades formadoras de colonias, dentro de la cámara de flujo esterilizada con rayos UV y con ayuda de las micropipetas se coloca la muestra y se esparce con las asas de Drigalski previamente flameadas, una vez que el agar absorbe toda la muestra se cierra la placa, se las coloca boca abajo y se las guarda en fundas polifan esterilizadas.

Las placas se llevan a una incubación a 30°C y se las retira a las 24 horas para realizar el conteo.

2.7. Conteo de unidades formadoras de colonias

Pasadas las 24 horas se realiza el conteo de las UFC en cada caja Petri, en los tiempos anteriormente establecidos. Se contabiliza en ambos agares según las coloraciones que se observan y se registra el dato.

2.8. Toma de parámetros

Los datos de pH, salinidad y temperatura se toman en los tiempos antes establecidos.

2.9. Conteo de microalgas

Se hizo conteo con ayuda de una Cámara de Neubauer y se diferencié cinco grupos predominantes de microalgas, entre esas tenemos las Cianofitas, Clorofitas, Diatomeas, Euglenofitas y Dinoflagelados. Los datos se toman en los mismos tiempos antes establecidos.

2.10. Análisis estadístico

La obtención de los datos en relación a las UFC/ml en los medios de cultivo fueron sometidos a una prueba de hipótesis estadística análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, este tipo de prueba permitió la identificación de la efectividad en cuanto aplicación de los 3 tratamientos con óxido de calcio en relación al tiempo post dosificación, respaldados en una prueba post-hoc como el Test de Tukey el cual evalúa diferencias en relación al p-valor en caso de un nivel de significancia inferior a alfa en el ANOVA. La aplicación de un análisis inferencial permitió determinar la predominancia y prevalencia de las especies de *Vibrio* presentes, al igual que la efectividad en cuanto a bacterias heterótrofas marinas generales del medio. Además de establecer el efecto de las dosis en cuanto a parámetros fisicoquímicos como pH, salinidad y temperatura. En adición y con la ayuda de la prueba ANOVA se verificó el índice de fitoplancton presente luego de aplicarse las respectivas dosis. El nivel de confiabilidad de los datos se llevó con un 95% ($\alpha=0,05$), valorados en el programa estadístico SPSS Statistics versión 25.

CAPITULO 4

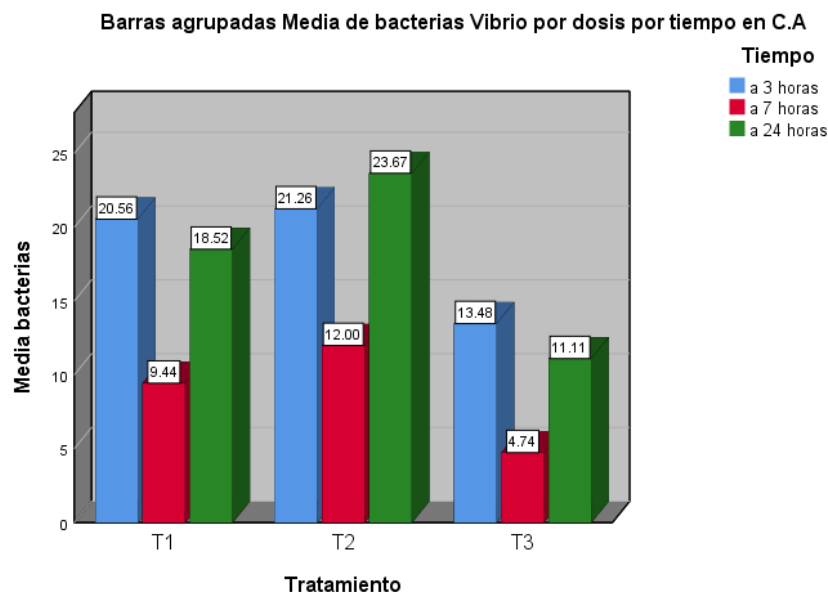
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación del conglomerado general de bacterias Gram negativas *Vibrio* en los recipientes, con un índice promedio inicial de carga bacteriológica $3,65 \times 10^6$ UFC/ml tanto para los tratamientos y controles, evidencian una reducción bacteriana post aplicación de las dosis de óxido de calcio en todos los tratamientos, indicando diferentes niveles de reducción.

El uso del óxido de calcio presenta una efectividad de acción mayor a las 7 horas de aplicarse las dosis, convirtiéndolo en el pico de mayor reducción y siendo esto observado en la Fig. 2. No obstante, a las 24 horas es evidente un incremento de las bacterias *Vibrio*, revelando una acción bacteriostática del producto.

Solano (2003) revela una naturaleza contradictoria en cuanto a la generación de colonias *Vibrio* post aplicación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en su estudio, donde al utilizar 100 kg/ Ha de este compuesto, no establece diferencia significativa entre las colonias generadas luego de 2 horas y 2 días de aplicación. Lo que se presume es debido a la utilización de un producto diferente al óxido de calcio al 30%, que difiere en cuanto a su composición.

Figura 2. Prevalencia de bacterias *Vibrio* generales presentes en las muestras, en relación al tiempo y tratamientos en CHROMAGAR *Vibrio* (C.A).



En el Anexo 1 se presentan las medias de UFC/ml de todos los tratamientos de forma general, donde se puede observar diferentes concentraciones del patógeno, siendo el T3 con $9,78 \times 10^2$ UFC/ml superior en cuanto a la eliminación de bacterias del género *Vibrio*, en comparación a los otros dos tratamientos y en función al tiempo.

Mauriño *et al.*, (2008) en su estudio respalda la diferencia entre dosis de productos cálcicos, donde concentraciones de hidróxido de calcio en g/L, representan una mayor reducción e inhibición del *V. harveyi* en dosis más elevadas.

El desarrollo de la prueba ANOVA como se visualiza en el Tabla 3, con un p-valor mayor a alfa, establece relación entre los tratamientos aceptando la hipótesis nula, que nos indica igualdad entre los resultados, con niveles de reducción bacteriana variado entre los tratamientos.

Tabla 3. Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para *Vibrios* generales del medio.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Bacterias Vibrio generales					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8642.000 ^a	8	1080.250	1.596	.127
Intersección	54495.148	1	54495.148	80.532	.000
Tratamiento	3600.321	2	1800.160	2.660	.072
Tiempo	4759.407	2	2379.704	3.517	.031
Tratamiento* Tiempo	282.272	4	70.568	.104	.981
Error	158345.852	234	676.692		
Total	221483.000	243			
Total corregido	166987.852	242			

a. R al cuadrado = ,052 (R al cuadrado ajustada = ,019)

Una visión más específica de los datos recolectados, nos llevan a la identificación de tres especies de *Vibrio* prevaletentes en el estudio como lo es el *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. alginolyticus*. El análisis de los datos en cuanto a UFC/ml para estos géneros de *Vibrio* revelan reacciones diferentes post aplicación de las dosis de óxido de calcio.

El *V. parahaemolyticus* acorde a su nivel de carga bacteriana indica variaciones entre los tratamientos, esto se aprecia en la Fig. 3 y se respalda con el Anexo 2 donde con $1,96 \times 10^2$ UFC/ml el T1 y T2 son los más eficientes en la reducción de este género de *Vibrio*. Por otro lado, el *V. vulnificus* luego de aplicar las dosis de óxido de calcio demuestra una mayor reducción en el primer tratamiento con una formación de $0,78 \times 10^2$ UFC/ml de este género bacteriano, en comparación a un T2 y T3 presente en el Anexo 6 y visualizado en la Fig. 4.

Figura 3. *V. parahaemolyticus* post aplicación de dosis de óxido de calcio.

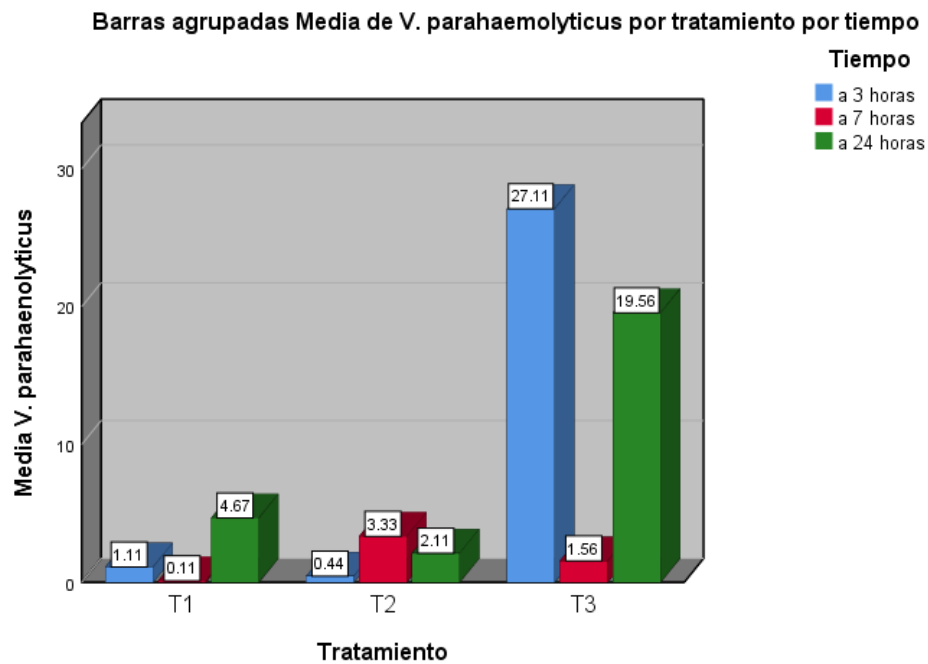
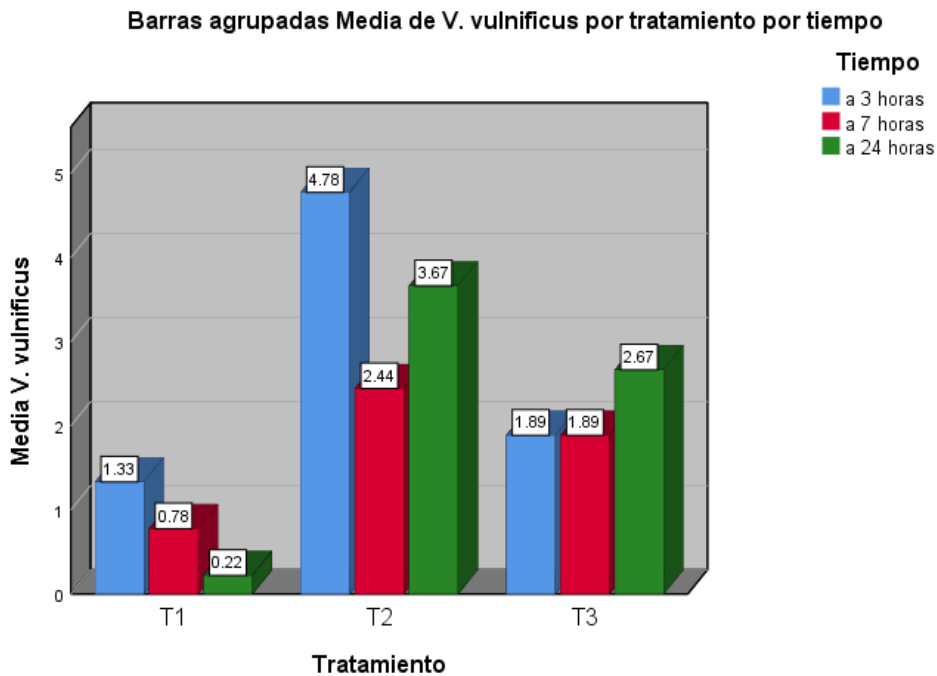


Figura 4. Prevalencia de *V. vulnificus* en relación al tiempo y tratamientos.

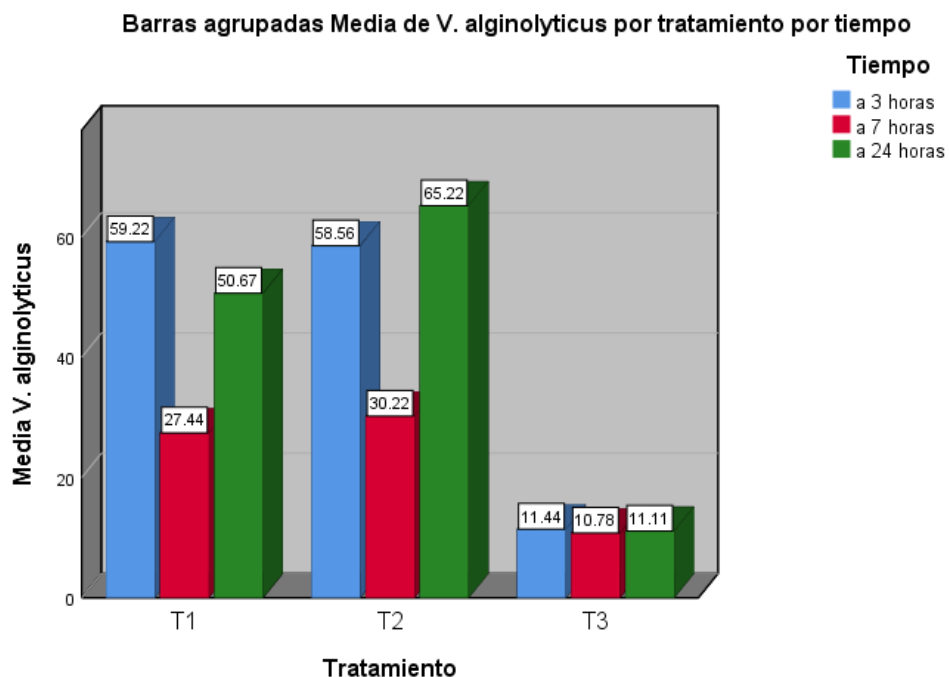


En cuanto, al género de *V. alginolyticus* la diferencia entre las UFC/ml son evidenciadas en la Fig. 5, siendo así el T3 el que demuestra una mejor acción bacteriostática con $11,11 \times 10^2$ UFC/ml en comparación a un T1 y T2 con mayor generación de bacterias, viéndose reflejado en el Anexo 10.

Ramírez y Rosales (2020) en su estudio sustentan la acción bacteriostática de productos cálcicos en cuanto a ciertas dosis, donde aplicando sulfato calcio en distintas concentraciones, el crecimiento post 48 horas es evidente para *V. vulnificus* en las dosificaciones más bajas de 0,8% y 0,4%, pero inhibitorio para *V. parahaemolyticus* y *V. harveyi* en todas las dosis.

La aplicación de las respectivas pruebas ANOVA para cada género de *Vibrio* son observadas en los Anexos 3,7 y 11, las cuales manifiestan diferencias en al menos uno de los tratamientos aplicados, aceptando así una hipótesis alternativa que se sustenta con base al Test de Tukey presente en los Anexos 4-5, 8-9 y 12-13.

Figura 5. *V. alginolyticus* post aplicación de dosis de óxido de calcio.

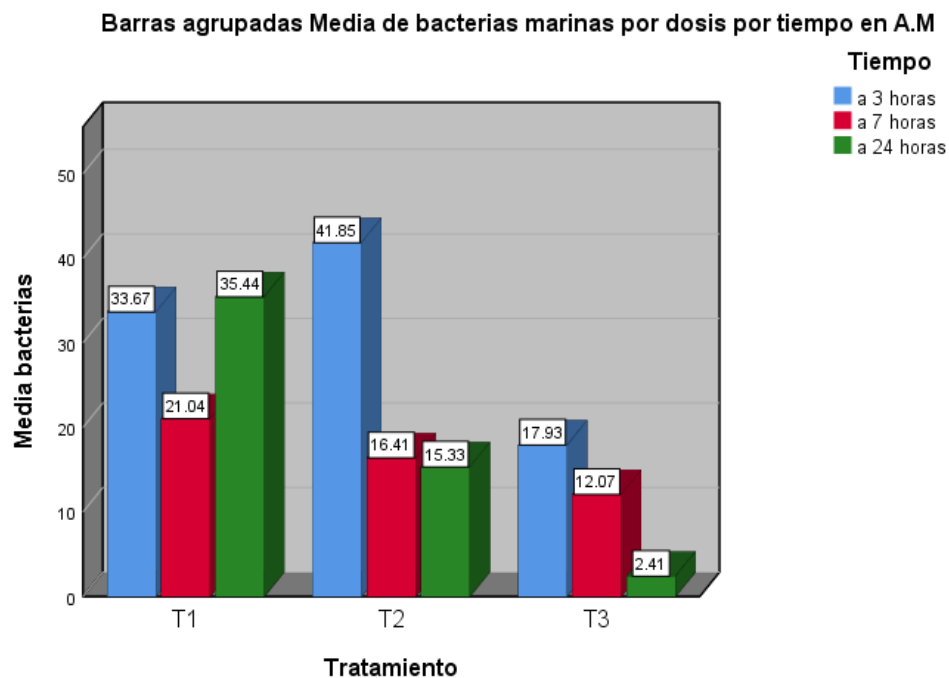


Por otro lado, en la existencia de bacterias heterótrofas tanto Gram positivas como negativas en el medio marino llevan al análisis de los datos observados en la Fig. 6, se puede apreciar la presencia de este tipo de bacterias luego de aplicarse las respectivas dosis de óxido de calcio. La disminución es variable lo que promueve a la idea de que existe diferencia entre los tratamientos seleccionados. Donde, el T3 tiende a representar una mejor reducción de la carga bacteriana post 24 horas en comparación al T1 y T2 de forma aparente. La efectividad de este producto calcio en cuanto a la reducción de este tipo de bacterias es avalado en el estudio de Farah *et al.*, (2019), donde se demuestra claras evidencias de mortalidad e inactivación de ocho especies microbianas, entre ellas

la *Salmonella/Shigella*, *Enterococcus* y *Vibrio sp* tras la aplicación de óxido de calcio a 0,25%, con resultados de supervivencia del 0% a las 144 horas.

Liang *et al.*, (2022) por otro lado menciona dos principales mecanismos de acción del óxido de calcio (CaO) que sustentan la acción bacteriostática de este producto, donde el CaO se combina con agua para crear un hidróxido, atrapando electrones en las membranas de las bacterias a través de los iones OH. Esto conduce a la interrupción de la cadena de transporte de electrones en la respiración, constituyendo así el principal mecanismo de acción antibacteriana inicial. Además, las especies reactivas de oxígeno, conocidas por su alta capacidad oxidante, interactúan con las proteínas, el ADN y la membrana lipídica, resultando en la descomposición de la estructura bacteriana, lo cual representa el segundo mecanismo de acción de estos productos. Otro aspecto crucial señalado por este autor es la capacidad del CaO para generar iones Ca²⁺, los cuales desequilibran la carga en la membrana celular de las bacterias y, en última instancia, inducen la muerte del microorganismo.

Figura 6. Prevalencia de bacterias Gram negativas y Gram positivas generales presentes en las muestras en relación al tiempo y tratamientos en Agar Marino (A.M).



En el Anexo 14 se puede observar las medias en UFC/ml de los tratamientos de forma general, siendo el T3 con $10,80 \times 10^2$ UFC/ml el de menor tendencia a proliferar colonias bacterianas en el medio, esto en comparación a los demás tratamientos con una mayor cantidad de colonias formadas.

La aplicación de una prueba ANOVA, en la Tabla 4 constata la similitud o diferencia entre estos tratamientos, donde con un p-valor menor a alfa, se acepta la hipótesis alternativa que indica desigualdad en al menos uno de los tratamientos.

Tabla 4. Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Bacterias Marinas					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	34727.934 ^a	8	4340.992	3.224	.002
Intersección	115422.288	1	115422.288	85.722	.000
Tratamiento	15912.897	2	7956.449	5.909	.003
Tiempo	10691.218	2	5345.609	3.970	.020
Tratamiento * Tiempo	8123.819	4	2030.955	1.508	.200
Error	315075.778	234	1346.478		
Total	465226.000	243			
Total corregido	349803.712	242			

a. R al cuadrado = ,099 (R al cuadrado ajustada = ,068)

Por lo cual, la utilización del Test de Tukey en el Anexo 15, nos permite identificar cuál de los tratamientos se diferencia o relaciona entre sí, donde como resultado el T3 indica ser significativamente distinto en relación al T1 y T2, siendo esto respaldado en el Anexo 16.

En cuanto a los parámetros evaluados los cuales fueron pH, salinidad y temperatura, no se evidencia diferencia significativa entre los datos, siendo similares a los que obtuvo Farah *et al.*, (2019) en su trabajo, donde indica que el uso del óxido de calcio mantiene estable los parámetros del agua.

Al contrario de los datos recolectados Solano (2003) reporta la existencia de variaciones en los parámetros físico químicos del agua por el uso de otro producto cálcico a base de Hidróxido, lo cual en principio manifiesta que las variaciones de los parámetros físico químicos del agua se encontrarían estrechamente ligadas al producto cálcico aplicado.

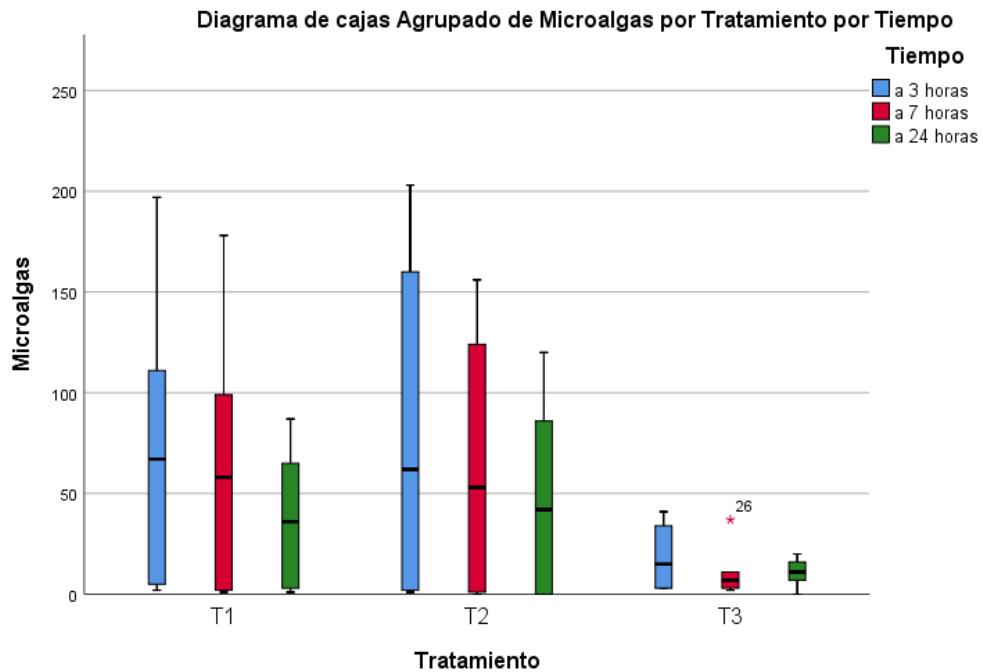
Los parámetros en los tres tratamientos se mantuvieron en los siguientes rangos, mostrando muy poca variación:

Tabla 5. Rango de parámetros de los tratamientos.

TRATAMIENTO	RANGOS		
	pH	Salinidad	Temperatura
Tratamiento 1	7.98 – 8.24	20.8 – 21.4	27.6 – 28.3
Tratamiento 2	8.09 – 8.20	20.9 – 21.7	27.9 – 28.6
Tratamiento 3	8.08 – 8.24	20.9 – 21.4	27.7 – 28.5

En cuanto a otro parámetro que pudo ser evaluado fue la presencia de productividad primaria como lo son las microalgas, siendo primordial para el desarrollo de este trabajo, donde se estableció medidas en células/ml de este parámetro visualizadas en la Fig. 7 la cual se respalda en el Anexo 17, donde un tercer tratamiento representa ser altamente eficaz en la reducción microalgal en comparación a las dosis del T1 y T2.

Figura 7. Prevalencia Microalgas post aplicación de las dosis de óxido de calcio.



Al llevar a cabo una prueba ANOVA en la Tabla 8 la diferencia entre tratamientos es aún más clara en función a su nivel de significancia inferior al alfa, donde aceptando una hipótesis alternativa se respalda la existencia de desigualdad en al menos uno de los tratamientos, aplicando así el Test de Tukey para determinar dicha diferencia, la cual es plasmada en el Anexo 18 y Anexo 19.

Tabla 6. Interacción entre tratamientos en cuanto a la prevalencia de Microalgas presentes en los recipientes.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Microalgas					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	139140.578 ^a	14	9938.613	19.052	.000
Intersección	101009.422	1	101009.422	193.628	.000
variedad	87795.689	4	21948.922	42.075	.000
Tratamientos	25386.844	2	12693.422	24.332	.000
Variedad * Tratamientos	25958.044	8	3244.756	6.220	.000
Error	15650.000	30	521.667		
Total	255800.000	45			
Total corregido	154790.578	44			

a. R al cuadrado = ,899 (R al cuadrado ajustada = ,852)

La disposición de microalgas en células/ml obtenidos de las muestras e identificadas por género al usar la cámara de Neubauer post aplicación de las dosis de óxido de calcio, nos indican variaciones entre los géneros en cuanto al tiempo y dosis establecido, viéndose en la Tabla 7 la diferencia de reducción que existe en cada grupo de microalga.

Tabla 7. Conteo microalgal y reducción porcentual en cada tratamiento en relación al tiempo.

Tratamiento	Tiempo	Cianofitas	Clorofitas	Diatomeas	Euglenofitas	Dinoflagelados
T1	Inicio	82	195	273	3	5
	3 horas	67	111	197	5	2
	7 horas	58	99	178	2	1
	24 horas	36	65	87	3	1
Reducción		56,10%	66,67%	68,14%	0%	80%
T2	Inicio	100	211	300	7	9
	3 horas	62	160	203	1	2
	7 horas	53	124	156	0	1
	24 horas	42	86	120	0	0
Reducción		58%	59,24%	60%	100%	100%
T3	Inicio	111	183	323	6	1
	3 horas	15	34	41	3	3
	7 horas	7	11	37	3	2
	24 horas	11	20	6	7	0
Reducción		90,09%	89,07%	95,04%	-16,66%	100%

En la tabla 7 podemos observar que los grupos con mayor reducción son el de Euglenofitas y Dinoflagelados, pero hay que considerar que estos dos grupos tuvieron cantidades iniciales bajas, a diferencia de otros 3 grupos, ya que todos a excepción de las Euglenofitas, lograron reducir su concentración, lo que nos indica que el óxido de calcio si genera una reducción en cualquier tipo de microalga ya se benéfica o no para el cultivo.

Boyd (2017) indica, esto ocurre porque la oxido de calcio puede aumentar las cantidades de calcio, este aumento elimina el dióxido de carbono y fosfatos que existe en el agua, por lo cual entre menos dióxido de carbono y fosfatos que haya en el agua, producen una limitación de fotosíntesis para el fitoplancton.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

- El óxido de calcio si reduce la carga bacteriana de Vibrios en el agua, siendo efectiva la dosis de 250 $\mu\text{l/l}$ a las 7 horas post dosificación, y dando como resultado que hay una mayor disminución del género *V. vulnificus* ya que obtuvo la mayor reducción de colonias. En lo que comprende a bacterias heterótrofas marinas, también existe una reducción con el uso de óxido de calcio, con lo cual se puede aceptar la hipótesis de investigación planteada en este trabajo.
- La incidencia que tuvo el óxido de calcio en las microalgas fue muy notoria, ya que se pudo evidenciar una clara reducción de la carga total de microalgas y además ciertos grupos se vieron perjudicado por esta sustancia con un potencial alguicida especialmente en Dinoflagelados en dosis de Tratamiento 2 y 3, y siendo también reductor de otros grupos como las Clorofitas, Diatomeas y volviéndose un producto efectivo para regular las cantidades excesivas de microalgas en un cuerpo acuático.
- Por último, no existió variaciones de factores físico químicos de agua, ya que la temperatura, salinidad y pH no tuvieron cambios y estuvieron estables durante todo el trabajo investigativo.

RECOMENDACIONES

- Al observar que el óxido de calcio es efectivo en reducción de bacterias pero que elimina cualquier tipo de microalgas en el medio, es recomendable luego de su tiempo de acción bacteriostática, fertilizar el agua para que haya cantidades normales de microalgas.
- Tomar en cuenta las dimensiones de la piscina y la concentración de bacterias antes de dosificar en el agua.
- El óxido de calcio reducido al 30% al ser un producto de consistencia líquida viscosa, se debe mezclar con agua para disolver y luego administrar en el cuerpo de agua.

CAPITULO 6

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, D. (2022). Validación de estrategias profilácticas en larvicultura del camarón *Penaeus vannamei* en la Provincia de Santa Elena, Mar Bravo. Santa Elena, Ecuador. [Tesis de Grado. Universidad Estatal Península de Santa Elena].
- Amaya, M., Jaramillo Botero, E., & Ovando, S. (2018). Óxido de calcio en la estabilización de suelos arcillosos. *Sociedad Mexicana de Ingeniería Geotécnica A.C.*, 17-22.
- Anjel, J. (Agosto de 2013). Vibriosis. *The Center for Food Security & Public Health*, 1-5.
- Arboleda, O. D. (2006). Limnología aplicada a la acuicultura. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, vol. VII, núm. 11, 7(11), 1-24.
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106.html>
- Austin, C., James, O., Munirul, A., Afsar, A., Waldor, M., Firdausi, Q., & Martinez Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 1-19.
<https://doi.org/10.1038/s41572-018-0005-8>
- Barrantes, E. (26 de Junio de 2023). Efectos de la bacteria patógena *Vibrio parahaemolyticus* en camarones (*Litopenaeus vannamei*) de cultivo y en la salud del consumidor. *Revista Pensamiento Actual*, 23(40), 39-50.
<https://doi.org/10.15517/pa.v23i40.55171>
- Berger, C. (2020). La acuicultura y sus oportunidades para lograr el desarrollo sostenible en el Perú. *South Sustainability*, 1(1), 1-11.
<http://doi.org/10.21142/SS-0101-2020-003>

Boyd, C. (31 de Julio de 2017). *Global Seafood ALLIANCE*. Obtenido de <https://www.globalseafood.org/advocate/la-cal-desempena-un-papel-crucial-en-el-manejo-de-estanques-acuicolas/#:~:text=La%20cal%20se%20aplica%20a,eliminaci%C3%B3n%20del%20fosfato%20del%20agua.>

Briones, C., & Solóran, S. (2018). Evaluación del Impacto de las Aguas Residuales del Cultivo de Camarón a Través de Ensayos de Exposición Forzada: Alevines de Guppy (*Poecilia reticulada*) como Bioindicador. *Revista de Ciencias del Mar y Acuicultura "YAKU"*, 1(2), 19.

ISSN: 2600-5824.

Cárdenas, T., & Molina, P. (2022). Alternativas para trata lodos originados en sistemas de tratamiento de aguas residuales: una revisión. *Revista Ingeniería*, 1-22.

<https://doi.org/10.14483/23448393.17945>

Cardoso, M., Lemos, L., Moraes Roges, E., Moura, J., Castro Tavares, D., Matias, C., Siciliano, S. (01 de Mayo de 2018). A comprehensive survey of *Aeromonas* sp. and *Vibrio* sp. in seabirds from southeastern Brazil: outcomes for public health. *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), 1283-1293.

<https://doi.org/10.1111/jam.13705>

CHROMagarTM. (2023). *CHROMagarTM The Chromogenic Media Pioneer*.

<https://www.chromagar.com/es/product/chromagar-vibrio/>

Condalab. (2022). *Condalab*.

<https://www.condalab.com/int/es/medios-de-cultivo-deshidratados/73-15116-agar-marino.html>

- Covarrubias, M. S., Cuéllar Anjel, J., Varela Mejias, A., & Elizondo Ovaes, C. (2018). Shrimp Bacterial Infections in Latin America: A Review. *Asian Fisheries Science*, 76-87.
- <https://doi.org/10.33997/j.afs.2017.31.S1.005>
- De Souza, C., & Wan, A. (2021). Vibrio and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans. *Journal of Invertebrate Pathology*, 181.
- <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107527>
- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. *La sostenibilidad en acción*.
- <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- FAO. (2022). *Food and Agriculture Organization of the United Nations* .
- <https://www.fao.org/fishery/zh/countrysector/cn/es?lang=es>
- Farah IO, L., Arslan Z, M. , & Tucci M, T. (2019). Calcium oxide remedation of anthropogenic contamination of water at the Gbnerr in Mississippi. *Biomed Sci Instruments*, 55(1), 158-165.
- Fernandes, G., Sá Correia, I., & Costa, R. (2022). Vibriosis Outbreaks in Aquaculture: Addressing Environmental and Public Health Concerns and Preventive Therapies Using Gilthead Seabream Farming as a Model System. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-25.
- <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.904815>
- Fitriadi, R., Palupi, M., Setyawan, A., Kusuma, R., & Nurhafid, M. (2023). Aislamiento e identificación molecular de bacterias proteolíticas de estanques de camarón

vannamei (*Litopenaeus vannamei*) como agentes probióticos. *Revista iraquí de ciencias veterinarias*, 37(1), 161-170.

<https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.133468.2251>

Gan, L., Zheng, J., Xu, W., Lin, J., Liu, J., Zhang, Y., Liu, Y. (2022). Deciphering the virulent *Vibrio harveyi* causing spoilage in muscle of aquatic crustacean *Litopenaeus vannamei*. *Scientific Reports*, 12, 1-9.

<https://doi.org/10.1038/s41598-022-20565-1>

García, P., Ulloa, R., & Mendoza, E. (2021). Patógenos bacterianos y su resistencia a los antimicrobianos en los cultivos de tilapia en Guatemala. *Revista Uniciencia*, 35(2), 1-14.

<http://dx.doi.org/10.15359/ru.35-2.4>

García, S., Juárez, A., Oliver, S., Rivas, G., & Zeferino, T. (2018). Variables fisicoquímicas ambientales que inciden en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei*, en Coyuca de Benítez, Guerrero, México. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 5(2), 135-155. ISSN: 2007-9559

Guanquiza, T., & Antúnez, S. (2019). La contaminación ambiental en los acuíferos de Ecuador. Necesidad de su revisión desde las políticas públicas con enfoque bioético. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*. Vol. 5, Núm. 9, 5(9), 1053-1079.

<https://doi.org/10.5377/ribcc.v5i9.7946>

Li, F., Fengjuan, T., Jing, L., Lu, L., Huanao, Q., Yuqi, D., Yigang, T. (2021). Isolation and characterization of a podovirus infecting the opportunist pathogen *Vibrio*

alginolyticus and *Vibrio parahaemolyticus*. *Virus Research*, 302, 198-481.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198481>

Liang, X., Dai, R., Chang, S., Qing, W., & Zhang, B. (2022). Antibacterial mechanism of biogenic calcium oxide and antibacterial activity of calcium oxide/polypropylene composites. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 650(1), 1-7.

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129446>

Loayza, G., Pastor, T., Salcedo, M., & Sotomayor, P. (2020). Efecto covid-19 en las determinantes de las exportaciones del sector camaronero del ecuador. *Revista Redalyc. ECA Sinergia*, 13(1), 2022, 21-32.

Marfileño, K., Gavaliz, S., & Molina, G. (2023). Evaluación de microbiota de las costas de Sonora y Baja California contra cepas patógenas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio harveyi*, agentes causales de la necrosis hepatopancreática en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). En *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 189-195.

<https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.27>

Matamp, N., & G. Bhat, S. (2019). Phage Endolysins as Potential Antimicrobials against Multidrug Resistant *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: Current Status of Research and Challenges Ahead. *Microorganisms*, 7(3), 84.

<https://doi.org/10.3390%2Fmicroorganisms7030084>

Molina, G., Cázares, J., Ibarra, G., & Galaviz, S. (2021). Actividad antagónica de bacterias aisladas de ecosistemas marinos frente a *vibrio*

parahaemolyticus AHPND como patógeno de camarón en cultivos. *Revista AquaTechnica* 3(2), 78-90.

Mouriño, P., Buglione, N., Vieira, F., Ramirez, C., Seiffert, W., Martins, M. L., Schweitzer, R. (2008). Uso de hidróxido de cálcio no controle de vibrionáceas em viveiros de cultivo do camarão *Litopenaeus vannamei* em Santa Catarina. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 34(1), 159-162.

Osorio, L. J., & Cuéllar, J. A. (2019). Vibriosis en camarón blanco del pacífico *Penaeus vannamei*. Tesis de Grado. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogota, Colombia, 1-11.

<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/2755/CASO%20CL%20C3%20%8DNICO%20LEIDY%20PE%20C3%91A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Peñaranda, L., Pereira, N., Silva, R., & Peñaranda, Y. (2020). Calidad microbiológica del sedimento en dos piscinas de engorde del camarón *Litopenaeus vannamei* en una granja camaronera del estado Zulia. En R. L. Maritza, J. Aular de Durán, J. Carruyo, M. Chirinos, S. Ortega, & D. Plata, *HACIENDO CIENCIA, CONSTRUIAMOS FUTURO* (págs. 1023-1024). Maracaibo, Venezuela: Universidad del Zulia.

Pereira, M., Bastos Vasconcelos, I., Macedo, A., Muxagata, E., Leaes Pinho, G., & Ochi Agostini, V. (2022). Estrategias de control de mejillones invasores: una revisión. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay*, 126-145.

Ramírez, A., & Rosales, F. (2020). Efecto del sulfato de calcio acidificado sobre el crecimiento in vitro de diferentes cepas bacterianas. [Tesis de Grado. *Escuela Superior Politécnica de Litoral*] 30-38.

<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/54765>

Rodríguez, J. (2005). Evaluación de cuatro tipos de cal sobre la calidad del agua en una finca camaronera en Choluteca, Honduras.

Rojas, R., & Salazar, S. (2018). La acuicultura frente a los impactos de la actividad agrícola en la calidad de los servicios ambientales de la cuenca del río mayo. Una propuesta para su abordaje desde la economía ecológica. *Estudios Sociales Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo regional Número 51, volumen 28(51).*, 19-20.

<http://dx.doi.org/10.24836/es.v28i51.507>

Rubio, M., Silveira, R., Hernández, D., Pérez, A., & Pozo, M. (2020). Prevalencia de enfermedades en el camarón de cultivo *L. vannamei* en Cuba. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 37(2), 57-65.

<http://hdl.handle.net/1834/41620>

Saraswathy, R., Muralidhar, M., Sanjoy, D., Kumararaja, P., Suvana, S., Lalitha, N., . . . Kizhakedath, V. (2019). Changes in soil and water quality at sediment–water interface of *Penaeus vannamei* culture pond at varying salinities. *Aquaculture Research*, 50, 1096-1106.

<https://doi.org/10.1111/are.13984>

Skretting. (2023). *Aplicación de Insumos Carcáreos. ¿Cuál es el mejor insumo calcáreo para incrementar la alcalinidad del agua de cultivo, y cómo afecta la aplicación de este insumo al pH del agua y al balance de iones?*

https://www.skretting.com/siteassets/local-folders/ecuador/boletines-ecuador/___boletin-27-insumos-calcareos__.pdf?v=495554

- Solano, M. (2003). Efecto del hidróxido de calcio sobre la calidad de agua y la producción de estanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei* en aguas salobres. [Tesis de Maestría. *Escuela Superior Politecnica del Litoral*], 32.
- Sonnenholzner, V. (2020). ¿Hacia dónde va la acuicultura de equinodermos en América Latina? Potencial, retos y oportunidades. *Revista de Biología Tropical*, 69(1), 514-549.
- Sornoza, J. W., Macías Chila, R., Andrade Almeida, J., Mendieta Vivas, R., & Villacreses Álvarez, G. (2022). Análisis comparativo de la producción camaronera en Ecuador en el periodo 2010-2020. *Agroproducción Sustentable*, 1-9.
- Suarez, Á. (2020). Contaminación ambiental del agua por el uso indebido de pesticidas agrícolas en plantaciones de banano en el Ecuador. [Tesis de Grado. Universidad Técnica de Babahoyo].

<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8482>
- Torres, M., Rodríguez, I., & Sorroza, L. (2021). Efecto del kéfir de agua sobre la concentración de vibrios en juveniles de *Penaeus vannamei* Boone, 1931. *Revista AquaTechnica* 3(3), 113-123.
- Trejo, R., Flores, K., Trujillo, P., Granados, J., & Delgado, L. (2021). Calidad del agua en estanques de cultivo de peces mediante algunos parámetros físicos y químicos. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba*, 4(4), 5490-5509.

<https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-049>

Varela, A., & Choc Martínez, L. (2020). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), 1-16.

<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18165>

Venkateswarlu, V., Sessaiah, P., Arun, P., & Behra, P. (2019). A study on water quality parameters in shrimp *L.vannamei* semi-intensive grow out culture farms in coastal districts of Andhra Pradesh, India. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 7(4), 394-399.

<https://www.fisheriesjournal.com/archives/2019/vol7issue4/PartF/7-4-64-509.pdf>

Xue, M., Huang, X., Xue, J., He, R., Liang, G., Liang, H., Wen, C. (2022). Análisis genómico comparativo de siete cepas de *Vibrio alginolyticus* aisladas del agua de larvicultura de camarón con énfasis en la utilización de quitina. *Fronteras de Microbiología*, 13(10), 1-16.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.925747>

ANEXOS

Anexo 1. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para *Vibrios* generales.

Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: Bacterias Vibrio Generales				
Tratamiento	Tiempo	Media	Desv. Desviación	N
T1	a 3 horas	20.56	29.984	27
	a 7 horas	9.44	16.844	27
	a 24 horas	18.52	31.229	27
	Total	16.17	26.925	81
T2	a 3 horas	21.26	37.654	27
	a 7 horas	12.00	17.218	27
	a 24 horas	23.67	41.724	27
	Total	18.98	33.890	81
T3	a 3 horas	13.48	18.596	27
	a 7 horas	4.74	5.274	27
	a 24 horas	11.11	10.169	27
	Total	9.78	12.993	81
Total	a 3 horas	18.43	29.629	81
	a 7 horas	8.73	14.379	81
	a 24 horas	17.77	30.712	81
	Total	14.98	26.268	243

Anexo 2. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para *V. parahaemolyticus*.

Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: <i>V. parahaemolyticus</i>				
Tratamiento	Tiempo	Media	Desv. Desviación	N
T1	a 3 horas	1.11	1.833	9
	a 7 horas	.11	.333	9
	a 24 horas	4.67	7.433	9
	Total	1.96	4.694	27
T2	a 3 horas	.44	.527	9
	a 7 horas	3.33	2.693	9
	a 24 horas	2.11	2.205	9
	Total	1.96	2.295	27
T3	a 3 horas	27.11	26.222	9
	a 7 horas	1.56	2.128	9
	a 24 horas	19.56	4.720	9
	Total	16.07	18.416	27
Total	a 3 horas	9.56	19.308	27
	a 7 horas	1.67	2.337	27
	a 24 horas	8.78	9.316	27
	Total	6.67	12.802	81

Anexo 3 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para *V. parahaemolyticus*

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: <i>V. parahaemolyticus</i>					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	6827.778 ^a	8	853.472	9.778	.000
Intersección	3600.000	1	3600.000	41.246	.000
Tratamiento	3584.222	2	1792.111	20.533	.000
Tiempo	1020.667	2	510.333	5.847	.004
Tratamiento * Tiempo	2222.889	4	555.722	6.367	.000
Error	6284.222	72	87.281		
Total	16712.000	81			
Total corregido	13112.000	80			

a. R al cuadrado = ,521 (R al cuadrado ajustada = ,467)

Anexo 4 Comparación múltiple de los tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor del género *parahaemolyticus*.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: <i>V. parahaemolyticus</i>						
HSD Tukey						
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T1	T2	.00	2.543	1.000 a	-6.08	6.08
	T3	-14.11*	2.543	.000 b	-20.20	-8.03
T2	T1	.00	2.543	1.000 a	-6.08	6.08
	T3	-14.11*	2.543	.000 b	-20.20	-8.03
T3	T1	14.11*	2.543	.000 b	8.03	20.20
	T2	14.11*	2.543	.000 b	8.03	20.20

Se basa en las medias observadas.
 El término de error es la media cuadrática(Error) = 87,281.
 *. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Anexo 5 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.

<i>V. parahaemolyticus</i>			
HSD Tukey ^{a,b}			
Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T2	27	1.96	
T1	27	1.96	
T3	27		16.07

Sig.		1.000	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
Se basa en las medias observadas.			
El término de error es la media cuadrática (Error) = 87,281.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 27,000.			
b. Alfa = .05.			

Anexo 6. Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para *V. vulnificus*.

Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: <i>V. vulnificus</i>				
Tratamiento	Tiempo	Media	Desv. Desviación	N
T1	a 3 horas	1.33	1.581	9
	a 7 horas	.78	.441	9
	a 24 horas	.22	.441	9
	Total	.78	1.050	27
T2	a 3 horas	4.78	3.308	9
	a 7 horas	2.44	2.963	9
	a 24 horas	3.67	3.937	9
	Total	3.63	3.432	27
T3	a 3 horas	1.89	2.619	9
	a 7 horas	1.89	2.804	9
	a 24 horas	2.67	2.179	9
	Total	2.15	2.476	27
Total	a 3 horas	2.67	2.935	27
	a 7 horas	1.70	2.383	27
	a 24 horas	2.19	2.909	27
	Total	2.19	2.748	81

Anexo 7 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para *V. vulnificus*.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: <i>V. vulnificus</i>					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	143.556 ^a	8	17.944	2.805	.009
Intersección	386.778	1	386.778	60.452	.000
Tratamiento	109.852	2	54.926	8.585	.000
Tiempo	12.519	2	6.259	.978	.381

Tratamiento * Tiempo	21.185	4	5.296	.828	.512
Error	460.667	72	6.398		
Total	991.000	81			
Total corregido	604.222	80			

a. R al cuadrado = ,238 (R al cuadrado ajustada = ,153)

Anexo 8 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto a nivel de significancia ($p < 0,05$) del genero de *V. vulnificus*

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: <i>V. vulnificus</i>						
HSD Tukey						
(I)	(J)	Diferencia de medias (I- J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T1	T2	-2.85*	.688	.000	-4.50	-1.20
	T3	-1.37	.688	.122	-3.02	.28
T2	T1	2.85*	.688	.000	1.20	4.50
	T3	1.48	.688	.087	-.17	3.13
T3	T1	1.37	.688	.122	-.28	3.02
	T2	-1.48	.688	.087	-3.13	.17

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Anexo 9 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.

<i>V. vulnificus</i>			
HSD Tukey ^{a,b}			
Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T1	27	.78	
T3	27	2.15	2.15
T2	27		3.63
Sig.		.122	.087

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 27,000.

b. Alfa = .05.

Anexo 10 Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para *V. alginolyticus*

Estadísticos descriptivos
Variable dependiente: <i>V. alginolyticus</i>

Tratamiento	Tiempo	Media	Desv. Desviación	N
T1	a 3 horas	59.22	19.823	9
	a 7 horas	27.44	19.359	9
	a 24 horas	50.67	36.865	9
	Total	45.78	29.010	27
T2	a 3 horas	58.56	47.316	9
	a 7 horas	30.22	19.665	9
	a 24 horas	65.22	52.175	9
	Total	51.33	43.411	27
T3	a 3 horas	11.44	8.033	9
	a 7 horas	10.78	4.055	9
	a 24 horas	11.11	12.191	9
	Total	11.11	8.409	27
Total	a 3 horas	43.07	36.731	27
	a 7 horas	22.81	17.774	27
	a 24 horas	42.33	42.945	27
	Total	36.07	35.066	81

Anexo 11 ANOVA de Interacción entre tratamientos y efectos inter-sujetos para *V. alginolyticus*.

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: <i>V. alginolyticus</i>					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	36739.778 ^a	8	4592.472	5.365	.000
Intersección	105408.444	1	105408.444	123.141	.000
Tratamiento	25654.222	2	12827.111	14.985	.000
Tiempo	7127.630	2	3563.815	4.163	.019
Tratamiento* Tiempo	3957.926	4	989.481	1.156	.337
Error	61631.778	72	855.997		
Total	203780.000	81			
Total corregido	98371.556	80			

a. R al cuadrado = ,373 (R al cuadrado ajustada = ,304)

Anexo 12 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor del genero *V. alginolyticus*.

Comparaciones múltiples					
Variable dependiente: <i>V. alginolyticus</i>					
HSD Tukey					
			Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)			Límite inferior	Límite superior
T1	T2	-5.56	7.963	.766	-24.61	13.50
	T3	34.67*	7.963	.000	15.61	53.72
T2	T1	5.56	7.963	.766	-13.50	24.61
	T3	40.22*	7.963	.000	21.17	59.28
T3	T1	-34.67*	7.963	.000	-53.72	-15.61
	T2	-40.22*	7.963	.000	-59.28	-21.17

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Anexo 13 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.

V. alginolyticus			
HSD Tukey ^{a,b}			
Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T3	27	11.11	
T1	27		45.78
T2	27		51.33
Sig.		1.000	.766

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 27,000.

b. Alfa = .05.

Anexo 14 Comparación de las medias inferentes en los estadísticos descriptivos para bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: Bacterias Marinas				
Tratamiento	Tiempo	Media	Desv. Desviación	N
T1	a 3 horas	33.67	49.037	27
	a 7 horas	21.04	30.344	27
	a 24 horas	35.44	48.387	27
	Total	30.05	43.397	81
T2	a 3 horas	41.85	66.719	27
	a 7 horas	16.41	23.546	27
	a 24 horas	15.33	22.171	27
	Total	24.53	44.031	81
T3	a 3 horas	17.93	18.113	27
	a 7 horas	12.07	24.743	27
	a 24 horas	2.41	3.744	27
	Total	10.80	18.751	81

Total	a 3 horas	31.15	49.342	81
	a 7 horas	16.51	26.305	81
	a 24 horas	17.73	33.351	81
	Total	21.79	38.019	243

Anexo 15 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto al p-valor de bacterias Gram negativas y Gram positivas.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Bacterias Marinas						
HSD Tukey						
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I- J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T1	T2	5.52	5.766	.605	-8.08	19.12
	T3	19.25*	5.766	.003	5.65	32.85
T2	T1	-5.52	5.766	.605	-19.12	8.08
	T3	13.73*	5.766	.047	.13	27.33
T3	T1	-19.25*	5.766	.003	-32.85	-5.65
	T2	-13.73*	5.766	.047	-27.33	-.13

Se basa en las medias observadas.
El término de error es la media cuadrática(Error) = 1346,478.
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Anexo 16 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos.

Bacterias Marinas			
HSD Tukey ^{a,b}			
Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T3	81	10.80	
T2	81		24.53
T1	81		30.05
Sig.		1.000	.605

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
Se basa en las medias observadas.
El término de error es la media cuadrática(Error) = 1346,478.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 81,000.
b. Alfa = .05.

Anexo 17 Comparación de las medias en relación a la prevalencia de microalgas post aplicación de los tratamientos.

Estadísticos descriptivos				
Variable dependiente: Microalgas				
Variedad	Tratamientos	Media	Desv. Desviación	N
CYANOPHYTAS	T1	53.67	15.948	3
	T2	52.33	10.017	3
	T3	11.00	4.000	3
	Total	39.00	23.108	9
CHLOROPHYTAS	T1	91.67	23.861	3
	T2	123.33	37.005	3
	T3	21.67	11.590	3
	Total	78.89	50.479	9
DIATOMEAS	T1	154.00	58.796	3
	T2	159.67	41.621	3
	T3	31.33	13.429	3
	Total	115.00	72.705	9
EUGLENOPHYTAS	T1	3.33	1.528	3
	T2	.33	.577	3
	T3	4.33	2.309	3
	Total	2.67	2.291	9
DINOFLAGELADOS	T1	1.33	.577	3
	T2	1.00	1.000	3
	T3	1.67	1.528	3
	Total	1.33	1.000	9
Total	T1	60.80	64.450	15
	T2	67.33	70.068	15
	T3	14.00	13.411	15
	Total	47.38	59.312	45

Anexo 18 Comparación múltiple de las tratamientos y diferencia en cuanto a nivel de significancia de alfa para la reducción de microalgas presentes en los recipientes.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Microalgas						
HSD Tukey						
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
T1	T2	-6.53	8.340	.716	-27.09	14.03
	T3	46.80*	8.340	.000	26.24	67.36

T2	T1	6.53	8.340	.716	-14.03	27.09
	T3	53.33*	8.340	.000	32.77	73.89
T3	T1	-46.80*	8.340	.000	-67.36	-26.24
	T2	-53.33*	8.340	.000	-73.89	-32.77
Se basa en las medias observadas.						
El término de error es la media cuadrática(Error) = 521,667.						
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.						

Anexo 19 Test de Tukey en comparación a las medias de los datos para microalgas

Microalgas			
HSD Tukey ^{a,b}			
Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T3	15	14.00	
T1	15		60.80
T2	15		67.33
Sig.		1.000	.716
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
Se basa en las medias observadas.			
El término de error es la media cuadrática (Error) = 521,667.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.			
b. Alfa = .05.			

Anexo 20. Toma de parámetros físicos en el agua.



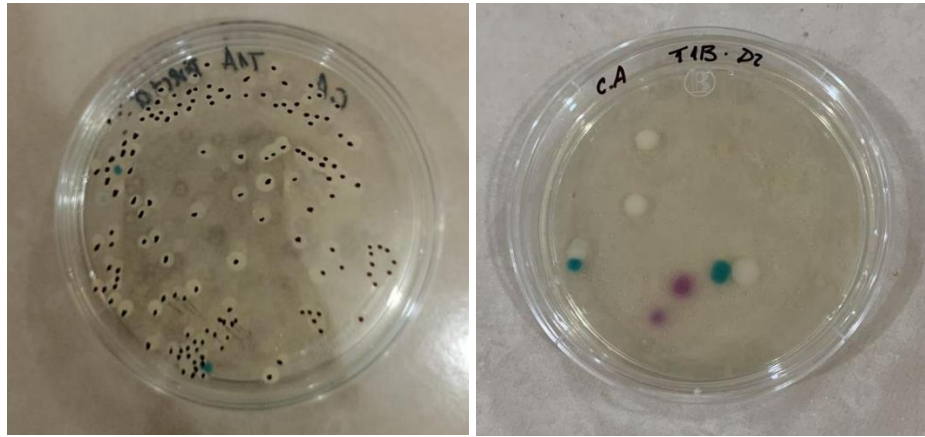
Anexo 21. Elaboración de medios de cultivo



Anexo 22. Siembra en placa en cámara de flujo laminar



Anexo 23. Conteo de UFC en placa.



Anexo 24. Siembra en placa en cámara de flujo laminar.



Anexo 25. Esterilización de agares en autoclave.

