



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Identificación de Vibrios sp en aguas de piscinas de camarón blanco  
Litopenaeus vannamei a baja salinidad.**

**SOLANO LOJA HEIDY JULIANA  
INGENIERA ACUICOLA**

**DELGADO MALDONADO RONNY SANTIAGO  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA  
2022**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Identificación de *Vibrios* sp en aguas de piscinas de camarón  
blanco *Litopenaeus vannamei* a baja salinidad.**

**SOLANO LOJA HEIDY JULIANA  
INGENIERA ACUICOLA**

**DELGADO MALDONADO RONNY SANTIAGO  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA  
2022**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Identificación de Vibrios sp en aguas de piscinas de camarón  
blanco *Litopenaeus vannamei* a baja salinidad.**

**SOLANO LOJA HEIDY JULIANA  
INGENIERA ACUICOLA**

**DELGADO MALDONADO RONNY SANTIAGO  
INGENIERO ACUICOLA**

**RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA**

**MACHALA  
2022**

# IDENTIFICACIÓN DE Vibrios spp. EN AGUAS DE PISCINAS DE CAMARÓN BLANCO Litopenaeus vannamei A BAJA SALINIDAD

---

## INFORME DE ORIGINALIDAD

---

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

---

## FUENTES PRIMARIAS

---

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 9%

Excluir bibliografía

Apagado

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

Los que suscriben, SOLANO LOJA HEIDY JULIANA y DELGADO MALDONADO RONNY SANTIAGO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Identificación de Vibrios sp en aguas de piscinas de camarón blanco Litopenaeus vannamei a baja salinidad., 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.

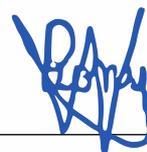
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

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.



SOLANO LOJA HEIDY JULIANA

0705579316



DELGADO MALDONADO RONNY SANTIAGO

0705448702

UNIVERSITAS  
MAGISTRORUM  
ET SCHOLARIUM

## **Agradecimiento**

### **Ronny Santiago Delgado Maldonado**

Agradezco en primer lugar a Dios por guiarme en cada paso que doy y sobre todo dame las fuerzas necesarias para poder lograr todas las metas que me propongo, así mismo, agradecerle por darme unos excelentes padres y una familia espectacular que a pesar de los obstáculos siempre estuvieron ahí brindándome su apoyo.

Así mismo, agradezco a mis padres, por el sacrificio y esfuerzo que hicieron para que no falte nada durante mi preparación profesional, por ser un ejemplo de lucha y superación, por brindarme esos consejos de oro que me motivaron día a día a seguir adelante para lograr mi tan anhelado título profesional y convertirme en un hombre de bien, ya que ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas para seguir adelante, así mismo, agradezco a todos mis hermanos por acompañarme en este duro camino, por apoyarme desde el principio hasta fin, por brindarme su amor y cariño para no rendirme fácilmente en este periodo largo de preparación, sin duda este arduo trabajo durante 5 años es gracias a mi familia. También a la Srta. Ericka Ochoa por brindarme su apoyo condicional y cariño durante estos años de carrera.

De igual manera a mis tutores; Dra. Leonor Rivera Intriago, Dr. Patricio Colon y Ing Irán Rodríguez por ser mis guías y profesores, por impartirme sus conocimientos y ayuda en el área profesional para así poder llevar a cabo esta investigación. A sí mismo, agradecer a la facultad de Ciencias Agropecuarias por las instalaciones necesarias y así mismo a la Ing. Ivanna Tuz por su guía, paciencia y apoyo durante el periodo de investigación en el laboratorio de Sanidad Vegetal.

A los dueños de la camaronera por permitirnos el ingreso para recolectar las muestras de agua y llevar a cabo el estudio, además, agradecer a todos esos amigos compañeros de la U que me apoyaron especialmente a Heidy Solano, Bryan Pindo, David Vacacela, Christopher Armijos y Bryan Campoverde.

**Heidy Juliana Solano Loja**

Agradezco en primer lugar a Dios por brindarme la dicha de tener a tan espectaculares padres y la hermosa familia que me ha dado, por sus bendiciones dadas y ser mi guía durante todos estos años de vida, ser mi refugio y mi amigo en días buenos y malos donde el cansancio y la fatiga se apodera de los pensamientos.

Agradezco totalmente a mis padres, por su apoyo y lucha incondicional, por ser un ejemplo a seguir y líderes espectaculares de la hermosa y respetada familia que me han brindado, por sus consejos para no dejarme decaer por muy pesado y estresado que haya sido el día, por creer en mi cuando ni yo misma soy capaz de hacerlo, por ser mi paño de lágrimas cuando ya no puedo más, por ser fuertes, valientes y enseñarme a no rendirme fácilmente porque todo este trabajo de 5 años ha sido gracias a ellos y a mis hermanos. A ellos por ser mis compañeros de vida, quienes a pesar de días buenos y malos siguen a mi lado siendo mi apoyo incondicional, ser mis guías y corregirme cuando cometo errores. A mis pequeños amores; mis sobrinos, por ser los pequeños por quienes me esfuerzo y trato de no rendirme para ser ejemplo de guía para ellos.

De igual manera a mis tutores; Dra. Leonor Rivera Intriago, Dr. Patricio Colon y Ing Wilmer Galarza, también a los docentes Dra. Lita Sorroza, y Ing Irán Rodríguez por ser mis guías y profesores, por impartirme sus conocimientos y ayuda en el área profesional para así poder llevar a cabo esta investigación. A su vez agradecer a la facultad de Ciencias Agropecuarias por las instalaciones necesarias y así mismo a la Ing. Ivanna Tuz por su guía, paciencia y apoyo durante el periodo de investigación en el laboratorio de Sanidad Vegetal.

A los dueños de la camaronera y más personal que formaron parte importante para esta investigación. Por último y no menos importantes a las amistades más sinceras e incondicionales que me ha regalado Dios y la universidad, a mi querido amigo Christopher Armijos por ser mi apoyo incondicional, mi guía y brindarme su más sincera ayuda en ámbitos académicos y personales y ser el quien me ha enseñado el verdadero significado de que es ser un amigo. A Bryan Pindo, y Santiago Maldonado mi compañero de tesis, por ser buenos amigos, y guías, por su apoyo en estos años de carrera en especial a Kenneth Murillo. Para ellos mis más sinceros agradecimientos por brindarme momentos de alegría y así mismo mis mejores deseos para su vida profesional.

## **Dedicatoria**

### **Ronny Santiago Delgado Maldonado**

Dedico el fruto de mis esfuerzos a mis padres; el Sr. Santiago Delgado, por ser mi ejemplo de superación y ser mi guía para enfrentarme a la vida, por ser el responsable de que no falte nada dentro del hogar, esto gracias a su gran esfuerzo y dedicación en su trabajo, así mismo, por brindarme ese cariño sincero en tiempos buenos y malos. A mi madre Sra Mayda Maldonado por ser esa amiga incondicional y acompañarme siempre en noches de desvelo, por brindarme ese amor y empuje para no rendirme, por brindarme tu bendición a diario a lo largo de mi vida que me protege y me lleva por buen el camino del bien.

Así mismo, este trabajo va dedicado en memoria de mi abuela; Sra Maria Campoverde (+) que gracias a su amor y compañía durante días buenos y malos siempre estuvo aconsejándome y brindándome su cariño. A mis hermanos por darme a entender que el estudio es pieza clave para la superación de una persona y sobre todo por brindarme ese apoyo moral para superarme.

**Heidy Juliana Solano Loja**

Sin duda alguna este trabajo es dedicado a mis padres por su educación y valores brindados; el Sr Solano Segundo mi padre, por ser mi guía y ejemplo incondicional día a día, por ser quien se esfuerza por mí y toda mi familia para brindarnos todo lo mejor posible, por su resistencia al cansancio tras largas jornadas de trabajo, por confiar en mí y aconsejarme que si puedo y que no debo rendirme. A mi madre Sra Julia Loja por ser mi amiga incondicional, mi inspiración y ser la brillante mujer que siempre ha confiado en mí, que en noches de desvelo ha estado ahí presente sin dejarme sola, por ser mi compañía y enseñarme que no debo rendirme fácilmente.

A mis hermanos porque sus palabras y consejos no fueron en vano, por estar siempre presentes, por ser los mejores hermanos mayores que pudo darme mi madre, por confiar en mí y guiarme siempre, por hacerme entender que es bueno y que es malo según sus experiencias de vida y no dejarme sola nunca. Sobre todo, a mis sobrinos para que sepan que nada es imposible, que todo lo que se propongan con esfuerzo y dedicación se hará posible.

## Resumen

El cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) ha incrementado durante los últimos años, pero ha sido víctima constantemente de las enfermedades bacterianas como la Vibriosis, debido a esto el cultivo de este crustáceo a baja salinidad es una alternativa para reducir el impacto causado por estos patógenos, sin embargo, *Vibrios spp.* ha demostrado una gran capacidad de adaptación en estos tipos de ecosistemas y ha generado problemas aún mayores que cultivos en salinidades altas. Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo identificar las especies de *Vibrios spp.* en aguas de piscinas de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) a baja salinidad. Para ello, se realizó la toma de muestras de aguas de piscinas con diferentes fuentes de agua (agua de pozo y estero) durante 5 semanas y se midieron durante la toma de muestra los parámetros físico – químicos (Salinidad, Temperatura y pH) para conocer si estos influyen en el incremento de las UFC/mL de Vibrios.

Posterior a esto la carga bacteriana de las diferentes muestras de agua, se analizaron mediante el medio de cultivo CHROMagar Vibrio, donde se utilizó 100 µL de agua de las muestras obtenidas, además, la identificación de las especies se realizó por colorimetría proporcionado por el medio de cultivo. Los resultados de esta investigación demuestran que la carga bacteriana en las piscinas con fuente de agua de estero (3511,33 UFC/mL) fue mayor a diferencia de las piscinas con agua de pozo (940 UFC/mL), además, se determinó que *V. alginolyticus* fue la especie más predominante con (1069 UFC/mL), seguida de *V. parahaemolyticus* (670,667 UFC/mL) y *V. vulnificus* (458,667 UFC/mL).

Por otro lado, la correlación de Spearman resultó ser positiva con la salinidad para *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *V. vulnificus*, mientras que la temperatura solo presentó correlación positiva para *V. parahaemolyticus*. Finalmente, se demostró que la concentración de *Vibrios spp.* incrementa a medida que el cultivo de camarón va llegando a su etapa final. No obstante, esta investigación demuestra la importancia de llevar a cabo la identificación de Vibrios en aguas de cultivo de camarón a baja salinidad, ya que la influencia directa de los parámetros con el incremento de estos microorganismos representa un problema para el bienestar de los organismos en cultivo.

**Palabras clave:** Vibrio, CHROMagar, baja salinidad.

## Abstract

The cultivation of white shrimp (*L. vannamei*) has increased over the last few years, but has been a constant victim of bacterial diseases such as Vibriosis. Because of this the cultivation of this crustacean at low salinity is an alternative to reduce the impact caused by these pathogens, however, *Vibrios* spp. has demonstrated a great capacity for adaptation in these types of ecosystems and has generated even greater problems than crops in high salinities. Therefore, this research aims to identify the species of *Vibrios* spp. in waters of white shrimp (*L. vannamei*) culture pools at low salinity. To do this, water samples were taken from swimming pools with different water sources (well water and estuary) for 5 weeks and physical - chemical parameters (Salinity, Temperature and pH) were measured during the sampling to know if these influence the increase of UFC/mL of *Vibrios*.

After this, the bacterial load of the different water samples was analyzed using the CHROMagar *Vibrio* culture medium, where 100 µL of water from the samples obtained was used, in addition, the identification of the species was performed by colorimetry provided by the culture medium. The results of this research show that the bacterial load in pools with estuary water source (3511,33 CFU/mL) was higher unlike pools with well water (940 CFU/mL), in addition, it was determined that *V. alginolyticus* was the most predominant species with (1069 CFU/mL), followed by *V. parahaemolyticus* (670,667 CFU/mL) and *V. vulnificus* (458,667 CFU/mL).

On the other hand, the correlation of Spearman turned out to be positive with the salinity for *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. vulnificus*, while the temperature only presented positive correlation for *V. parahaemolyticus*. Finally, it was shown that the concentration of *Vibrios* spp. increases as the shrimp culture reaches its final stage. However, this research demonstrates the importance of carrying out the identification of *Vibrios* in low salinity shrimp farming waters, as the direct influence of the parameters with the increase of these microorganisms represents a problem for the well-being of the organisms in culture.

**Keywords:** *Vibrio*, CHROMagar, low salinity.

## CONTENIDO

1	Introducción.....	1
2	Planteamiento del problema .....	3
3	Justificación .....	4
4	Objetivos.....	6
4.1	Objetivo general .....	6
4.2	Objetivos específicos.....	6
5	Revisión bibliográfica.....	7
5.1	Producción Actual en el Ecuador.....	7
5.2	Sistemas de cultivo.....	8
5.2.1	Cultivo extensivo.....	8
5.2.2	Cultivo semi – intensivo.....	8
5.1.3.	Cultivo intensivo .....	8
5.1.4.	Cultivo super intensivo.....	9
5.3	Cultivo a baja salinidad de <i>L. vannamei</i> . .....	10
5.3.1	Balance Iónico.....	11
5.3.2	Importancia del balance Iónico .....	11
5.3.3	Efecto de la baja salinidad sobre el <i>L. vannamei</i> .....	12
5.4	<i>Vibrio spp</i> .....	12
5.4.1	Generalidades .....	12
5.4.2	Taxonomía del género <i>Vibrio</i> .....	13
5.4.3	Distribución de <i>Vibrios</i> en estanques acuícolas.....	13
5.4.4	<i>Vibrio spp.</i> en aguas de cultivo de <i>L. vanammei</i> a baja salinidad.....	14
5.4.5	Enfermedades ocasionadas por <i>Vibrio spp</i> .....	14

5.4.6	Métodos de identificación de <i>Vibrio spp.</i> .....	17
6.	Materiales y métodos.....	19
6.1.	Equipos y materiales .....	19
6.2.	Metodología .....	20
6.2.1.	Ubicación del área de estudio. ....	20
6.2.2.	Obtención de las muestras .....	20
6.2.3.	Transporte y manejo de muestras .....	21
6.2.4.	Parámetros físicos – químicos. ....	21
6.2.5.	Análisis de Laboratorio .....	21
6.2.5.1.	Desinfección de equipos y materiales.....	21
6.2.5.2.	Preparación y plaqueo de medio de cultivo en cajas petri. ....	21
6.2.5.3.	Diluciones sucesivas. ....	21
6.2.5.4.	Siembra en placas .....	22
6.2.6.	Procesamiento estadístico.....	23
7.	Resultados.....	24
7.1.	Análisis de la carga de Vibrios en agua de pozo y estero .....	24
7.2.	Especie predominante e incremento de UFC/mL de Vibrios.....	26
7.3.	Relación de los parámetros con la concentración de Vibrios.....	29
8.	Discusión .....	34
9.	Conclusiones.....	37
10.	Recomendaciones .....	38
11.	Bibliografía.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Estadística de exportación ecuatoriana de camarón .....	7
<b>Figura 2.</b> Ubicación del laboratorio de Sanidad Vegetal en la facultad de Ciencias Agropecuarias. .....	20
<b>Figura 3</b> Especies de <i>Vibrios spp</i> , según su coloración. ....	24

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Carga bacteriana encontrada en las piscinas con agua de pozo y de estero. ....	25
<b>Gráfico 2.</b> Porcentaje de las especies de <i>Vibrios spp</i> . encontradas en las muestras de agua. ....	26
<b>Gráfico 3</b> Carga bacteriana de <i>Vibrios spp</i> . en las piscinas con agua de pozo con respecto a las semanas de estudio.....	28
<b>Gráfico 4</b> Carga bacteriana de <i>Vibrios spp</i> . en las piscinas con agua de estero con respecto a las semanas de estudio.....	29
<b>Gráfico 5.</b> Media de las especies de <i>Vibrios spp</i> . con respecto a la salinidad de las piscinas con agua de pozo. ....	31
<b>Gráfico 6.</b> Media de las especies de <i>Vibrios spp</i> . con respecto a la salinidad de las piscinas con agua de estero.....	31

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Características de cuatro sistemas de cultivo de camarón .....	9
<b>Tabla 2</b> Concentración de iones del mar .....	11
<b>Tabla 3:</b> Fórmula para conteo de colonias para diluciones sucesivas.....	23
<b>Tabla 4:</b> Fórmula para conteo de colonias para siembra directa.....	23
<b>Tabla 5:</b> Especies de <i>Vibrio spp</i> , mediante colorimetría .....	24
<b>Tabla 6:</b> Prueba de la hipótesis nula mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney ..	25
<b>Tabla 7:</b> Especies predominante en las muestras de aguas obtenidas de las piscinas de cultivo de camarón.....	27
<b>Tabla 8:</b> Anova de un factor para comparar la carga bacteriana durante el periodo de muestreo. .....	27
<b>Tabla 9:</b> Correlación de Spearman para la salinidad con las especies de <i>Vibrios spp</i> (UFC/mL). .....	30
<b>Tabla 10:</b> Correlación de Spearman para la temperatura con las especies de <i>Vibrios spp</i> (UFC/mL). .....	32
<b>Tabla 11:</b> Correlación de Spearman para la temperatura con las especies de <i>Vibrios spp</i> (UFC/mL). .....	33

# 1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de camarón es una de las actividades que mayor crecimiento ha desarrollado dentro de la industria acuícola, debido a la alta demanda que existe en el mercado, por esta razón, en el año 2018 se reportó que la producción de camarón blanco (*L. vannamei*) alcanzó un aproximado de 4 966,2 Ton a nivel mundial (FAO, 2020). Como tal, se ha observado un incremento de más del 51% en la productividad de *L.vannamei* durante los últimos diez años, el cual este aumento se debe a las características que presentan como; gran resistencia a las variaciones de los parámetros de cultivo, rápido desarrollo, alta supervivencia y bajo requerimiento de proteína (Bae et al., 2022).

La actividad camaronera en Ecuador tiene sus orígenes en la región Costa, exactamente en la zona costera de la provincia de El Oro, debido a las óptimas condiciones ambientales que presentan estas áreas. Por consiguiente, el cultivo de este crustáceo en el país ha incrementado de forma exponencial, ya que en el año 2015 se reportó un total de 720,3 millones de lb de producción, generando ingresos de \$2 304,9 millones en comparación del año 1994 que obtuvieron un total de 156,2 millones de lb y \$514,3 millones de ingresos, esto a pesar de que sufrieron un impacto negativo por la presencia de enfermedades virales como fue la mancha blanca (WSSV) durante el periodo de 1999 al 2001 (Rodríguez, 2016).

El cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) en el Ecuador se realizó, debido a que esta especie tiene la capacidad de tolerar diferentes rangos de salinidad (Eurihalinos), ya que Sotomayor (2020) menciona que estos crustáceos pueden tolerar salinidades de 1 ppm hasta 40 ppm y haciendo énfasis que presenta un mejor desarrollo a salinidades mayores a 5 ppm. Además, esta especie se caracteriza por ser euriterma, es decir, pueden soportar los cambios de temperatura que se den en el medio acuático (Cobo, 2020).

Por lo tanto, la gran demanda de este organismo ha generado que el productor opte por incrementar los niveles de producción, pese a lo cual, durante los últimos años ha existido problemas por la presencia de enfermedades relacionadas con agentes patógenos. Sin embargo, Chandrakala & Priya (2017) mencionan que existen ciertos factores durante el cultivo que incitan a los brotes de enfermedades como es el caso de las altas densidades de siembra, alimentación

inadecuada y mala calidad del agua, ya que estos factores causarían estrés en el animal haciéndolo más susceptible a varias afecciones causadas por organismos patógenos como las bacterias.

Por otro lado, Martínez-Cordova y col. (2014), mencionan que en las piscinas de cultivo las bacterias forman un papel muy importante en el control de enfermedades, ya que intervienen en la degradación de materia orgánica ayudando a mantener en óptimas condiciones la calidad del agua. Sin embargo, muchos de estos organismos se comportan como patógenos oportunistas al existir una alteración en el medio de cultivo, el cual, las enfermedades bacterianas que se han reportado durante el cultivo de camarón son causadas principalmente por *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. nigripulchritudo*, *V. campbellii*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, y *Streptococcus spp.* (Morales y otros, 2018).

Por todo lo anteriormente descrito, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo identificar la concentración de *Vibrio spp* en el agua de un cultivo a baja salinidad del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), mediante la recolección de muestras de aguas de las piscinas de una granja camaronera, con el fin de dar a conocer si existe mayor presencia de estos microorganismos en relación con los parámetros (pH, salinidad y temperatura) y si podrían causar problemas durante el cultivo.

## 2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de enfermedades infecciosas en los cultivos de camarón es el principal problema de los productores, debido a las grandes pérdidas económicas que se generan por la mortalidad de los organismos de cultivo. Dentro de los principales patógenos causantes de problemas están las bacterias del género *Vibrios*, ya que según Tang (2019) menciona que el *V. parahaemolyticus* causante de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) ocasiono grandes mortalidades en los cultivos realizado en China, Malasia, México, Tailandia y Vietnam, llegando a provocar pérdidas de producción de 44 000 millones de dólares entre el 2010 y 2016.

Por otro lado, Zhao y col (2018) mencionan que la resistencia que presentó *V. parahaemolyticus* hacía varias pruebas que realizaron con antimicrobianos, representa un gran problema en cuanto a las posibles enfermedades que pueden generar estos tipos de bacterias, ya que el uso de antibióticos no tendría ningun efecto, por lo tanto, Bermúdez y otros (2017) menciona que el diagnóstico e identificación de especies bacterianas con genes causantes de enfermedades es importante para llevar a cabo protocolos de prevención y monitoreo para prevenir mortalidades de los organismos y evitar grandes pérdidas económicas

Con respecto a lo anterior, la presente investigación dará a conocer la influencia de los parámetros (pH, Temperatura y Salinidad) sobre concentraciones de *Vibrio spp.* en cultivo a baja salinidad del *Litopenaeus vannamei*, para tener un mejor control de estos patógenos oportunistas.

### 3 JUSTIFICACIÓN

La infección por *Vibrios spp* en cultivos de camarón a baja salinidad también representa un problema en cuanto a la mortalidad que estos pueden ocasionar, ya que en el estudio realizado por Muhammad (2022) determinó el efecto de la salinidad sobre la virulencia de *Vibrio spp.* sobre el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), para ello diferentes grupos de camarones fueron cultivados a diferentes salinidades (10, 15, 20, 25 y 30 mg/L) y fueron infectados con *Vibrios*, los resultados obtenidos demuestran que la virulencia de *Vibrios spp.* en los organismos cultivados a baja salinidad (10 y 15 mg/L) fue mayor, ya que estos presentaron una mortalidad del 91,11 y 95,55 % durante el periodo de investigación, el cual este autor menciona que para evitar que *Vibrio spp* infecte al organismo en cultivo es necesario mantener rangos de salinidad por encima de los 25 mg/L.

Por lo tanto, Lopes (2020) menciona que la identificación de *Vibrios* mediante técnicas microbiológicas permitirá tomar medidas de control sobre estas bacterias en los cultivos a baja salinidad, ya que en el análisis que realizó en aguas del cultivo de *L. vannamei*, logro identificar a bacterias de tipo patógenas como *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, observando que la concentración de estos microorganismos aumento cuando el pH y temperatura incrementaron, además, observaron que la contaminación de los camarones se acercaba a  $10^4$  UFC/g. El cual esta concentración está asociada a la presencia de necrosis en el hepatopáncreas y mancha negra que presentaron los animales.

Asimismo, en la investigación realizada por Rabadon et al (2022) realizaron un estudio para evaluar la relación multivariable de las bacterias del género *Vibrio spp* en relación con los parámetros de calidad del agua en la cría de camarón blanco (*L. vannamei*) a baja salinidad, para ello recolectaron muestras de agua durante un ciclo de cultivo, el cual los resultado que obtuvieron demostraron que la temperatura y salinidad influyen en el crecimiento de *Vibrios*, además, la especies que detectaron en los estanques estaban compuestas por patógenos conocidos de camarones de *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *V. vulnificus*. No obstante estos resultados proveen datos referenciales para llevar a cabo una gestión óptima de la calidad de agua durante las fases de crecimiento de estos crustáceos.

Por esta razón, es importante que los productores camaroneros del país, realicen muestreos para llevar a cabo la identificación temprana de *Vibrios spp* en el agua de los cultivos que se realizan a baja salinidad a través de análisis bacteriológicos, ya que según lo mencionado anteriormente estas bacterias también suelen estar presentes en estos tipos de cultivo a consecuencia de la variación de los parámetros. No obstante, estos análisis permitirán tener un mejor control sobre estos patógenos oportunistas y evitar las infecciones causadas por estas y asegurar el bienestar de los animales durante su cultivo.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Identificar *Vibrio spp* en las muestras de agua de las piscinas de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) a baja salinidad

### 4.2 Objetivos específicos

- Analizar la carga de Vibrios presente en el agua de las piscinas con agua de pozo y estero.
- Determinar el incremento de la concentración total de Vibrios y la especie que más predominó.
- Determinar la relación entre los parámetros de cultivo con la concentración total de las especies de Vibrios.

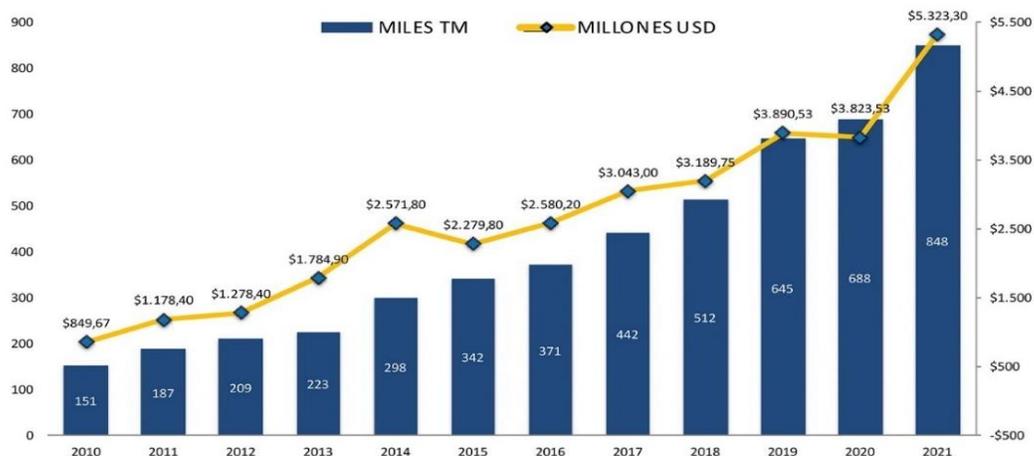
## 5 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 5.1 Producción Actual en el Ecuador.

El crecimiento de la producción camaronera en Ecuador es tan evidente ya que Gonzabay y col. (2021) mencionan que actualmente en el país existen 210 000 hectáreas que se dedican a la crianza de camarón, el cual el mayor porcentaje de hectáreas utilizadas para realizar esta actividad se encuentra en la provincia del Guayas ocupando el 60%, luego se encuentra la provincia de El Oro con un 15%, además, la provincia de Esmeraldas junto con la de Manabí tienen el 9% y la provincia de Santa Elena con un 7%.

Por otro lado, las exportaciones de camarón que realiza el país es el principal indicador del crecimiento que ha presentado esta actividad durante los últimos años, por lo tanto, en el análisis de comportamiento de exportación del sector camaronero durante el 2015 al 2019 realizado por Ullsco et al (2021) mencionan que las exportaciones en el 2019 incrementaron ya que se vendió un total de 1 397 490,3 lb., representando un total de 3 652 684 dólares aportando un PIB al país de 1,27%. Además, los datos de exportación de el Ecuador obtenidos de la Cámara Nacional de Acuicultura (2022) corrobora el crecimiento que ha tenido esta industria a partir durante los últimos 11 años.

*Figura 1 Estadística de exportación ecuatoriana de camarón*



**Fuente:** (Cámara Nacional de Acuicultura, 2022)

## **5.2 Sistemas de cultivo.**

### **5.2.1 *Cultivo extensivo***

Los cultivos extensivos se caracterizan por la cría de organismos acuáticos de forma más natural como en estanques de tierra, recintos de corrales, campos de arroz o pequeños cuerpos de agua, con bajas densidades de siembra. Además, se puede llevar a cabo la aplicación de nutrientes para fomentar la producción de organismos como fuente de alimento natural y se utiliza piensos suplementarios como alimento externo (Kaleem & Bio Singou, 2021). Estos tipos de cultivo aún suelen ser muy frecuentes en Latinoamérica ya que suelen ubicarlos en zonas intermareales para beneficiarse de las mareas altas para el llenado del estanque, además, anteriormente los productores se aprovechaban de las semillas silvestres que ingresaba al sistema por efecto de la marea alta (Rosado, 2019).

### **5.2.2 *Cultivo semi – intensivo.***

Estos tipos de sistemas se caracteriza por la introducción de algunas tecnologías para aumentar los rendimientos de producción, con bombas que realizan los cambios de agua de 5 a 20% al día, además del uso ocasional de sistemas de aireación y la aplicación de alimento suplementario con piensos comerciales, ya que la densidad de organismos cultivados es mayor que en los sistemas extensivos y existe un desabastecimiento de alimento natural dentro de los estanques (Muñoz et al., 2019). Por otro lado, Barraqueta (2021) menciona que pese a que las densidades de cultivo en estos sistemas son mayores 20 camarones/m<sup>2</sup>., es indispensable disponer de aireación artificial o química, con el fin de conservar las concentraciones adecuadas de oxígeno y evitar posibles problemas durante la producción de camarón.

### **5.1.3. *Cultivo intensivo***

Los sistemas de cultivo intensivo se caracterizan por realizar mínimos recambios de agua y utilizan una pequeña fracción de tierra y agua a diferencia de los sistemas extensivos que utilizan grandes extensiones de tierra y agua, tienen alta productividad por unidad de superficie, además, presentan una mejor sostenibilidad para el ambiente (Nogueira, 2018).

Además, la calidad del agua en estos sistemas depende de la alimentación, debido a que los residuos alimenticios y metabólicos que se acumulan en el fondo del estanque pueden ser una fuente de contaminantes que afectan la calidad del agua, por lo que la incidencia de enfermedades es muy alta (Lestantun y otros, 2020). Por otro lado, Rosado (2019) menciona que en estos tipos de sistemas se caracterizan por el uso de semillas procedentes de reproductores que estén libres de patógenos (SPF) o que estas sean resistentes a patógenos específicos (SPR), esto con el fin de obtener una excelente producción.

#### 5.1.4. *Cultivo super intensivo.*

Los cultivos super intensivos de camarones en estanques es un sistema orientado al futuro que se caracteriza por el pequeño volumen de los estanques, alta densidad de población, alta productividad, mínima carga de residuos y máxima competitividad del producto (Mangarengi et al., 2020). Además, para el manejo de estos sistemas se requiere llevar a cabo protocolos de seguridad para disminuir todo el posible impacto de microorganismos patógenos tales como virus, bacterias, protozoarios y hongos (Mendieta, 2017).

Emerenciano et al (2022) menciona que a comparación de los sistemas extensivos o semi – intensivos tradicionales, los sistemas super–intensivos requieren mayor insumo de alimento, energía, mano de obra y suplementos, además, se han utilizado diferentes sistemas y estrategias para poder llevar a cabo estos cultivos como es el caso de la tecnología biofloc, sistemas tróficos mixtos y sistemas acuícolas de recirculación (RAS).

**Tabla 1** Características de cuatro sistemas de cultivo de camarón

Tipo de Sistema	Característica
<b>Extensivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El cultivo <i>Litopenaeus vannamei</i> se realiza en zonas inter mareales, donde no hay bombeo ni aireación de agua.</li> <li>• Estos estanques tienen diseños irregulares y una superficie de 5 a 10 ha o incluso 30 ha y una profundidad de 0,7 y 1,2 m.</li> <li>• Se caracteriza por tener bajo costo de operación.</li> <li>• Baja densidad de siembra de 4 – 10 PL/m<sup>2</sup></li> <li>• Producción de 150 – 500 kg/ha/cosecha, es decir, 1 cosecha/ ha/año.</li> </ul>

<b>Semi – intensivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los estanques presentan un tamaño de 1 a 5 ha y una profundidad de 1 y 1,2 m.</li> <li>• La densidad promedio de siembra oscila entre 10 y 30 PL/m<sup>2</sup>.</li> <li>• Método más habitual en América Latina.</li> <li>• Los rendimientos de producción oscilan entre 500 – 2000 kg/ha/cosecha, realizando 2 cosechas/año.</li> </ul>
<b>Intensivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los cultivos intensivos se encuentran en zonas inter mareales que cuentan con zonas drenaje.</li> <li>• Sistemas extendidos en Asia y América Latina.</li> <li>• Estanques redondos o cuadrados con pequeña área. Su superficie es de 0,1 – 1 ha y una profundidad de 1,5 m.</li> <li>• Densidad de siembra alta 60 y 300 Pl/m<sup>2</sup>.</li> <li>• Estado de producción oscila entre 7 - 20 000 kg/ha/cosecha, durante 2 a 3 cosechas/año, con un tope máximo de 30-35 000 kg/ha/cosecha.</li> </ul>
<b>Super intensivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Este sistema de cría es sostenible, presenta un impacto mínimo sobre el medio ambiente y produce camarones de alta calidad.</li> <li>• Se cultivan entre 300 y 450 juveniles/m<sup>2</sup> con un peso entre 0,5 y 2 g en canales de 282 m<sup>2</sup>, con un ciclo de crecimiento entre 3 a 5 meses.</li> <li>• La densidad de siembra es significativamente alta entre 28 000 a 68 000 kg/ha/cosecha/año.</li> </ul>

**Fuente:** (Muñoz & Narváez, 2018).

### 5.3 Cultivo a baja salinidad de *L. vannamei*.

El cultivo de *Litopenaeus vannamei* a bajas salinidades presenta varios desafíos, sin embargo, por ser una especie que presenta la capacidad de crecer y sobrevivir sin problemas alguno a rangos extremos de salinidades que van desde 0,5–40 ppt (Aurana & Felix, 2017) se ha convertido en una las actividades más comunes y de importancia a nivel mundial. Para esto (Kholi et al., 2021) indican que este crustáceo es un hiper osmorregulador lo que le da la capacidad de poder soportar amplios rangos de salinidad convirtiéndola en una especie modelo en relación al mecanismo osmorregulación y tolerancia a la sal que este presenta, esto es dependiente de la fase larvaria en la que se encuentre, con la capacidad de poder crecer a salinidades bajas y a su vez aumentando sus densidades de siembra (Barreto, 2020).

### 5.3.1 Balance Iónico

“Los iones presentes y necesarios como calcio, sodio, potasio y cloruro juegan un papel importante en cuanto al proceso de osmorregulación” (Valenzuela y otros, 2017), estos son los más importantes para el cultivo de camarón en salinidades óptimas y cada uno de estos cumplen funciones diferentes, en cuanto al magnesio es un ion esencial como componente en el exoesqueleto de los camarones en cambio para la formación de uno nuevo, el calcio es muy importante (Molinos Champion S.A.S., 2020).

La supervivencia y el crecimiento de los camarones en aguas de baja salinidad puede verse afectado por las bajas concentraciones de potasio y el magnesio a pesar de que esté junto al calcio es importante no se debe olvidar también los iones de cloro, sulfatos y sodio que él igual son necesarios y de gran importancia en cuánto va el soporte la presión osmótica generada por el agua (Vera & Mendoza, 2020).

### 5.3.2 Importancia del balance Iónico

El simple hecho de tener proporciones de iones esenciales parecidos a los del agua del mar es mucho más eficiente importante que tratar de mantener los mismos valores de manera exacta a los que se presentan en el agua del mar. Para poder obtener éxito y una producción rentable en los cultivos de camarón a baja salinidad es importante antes de iniciar los cultivos mantener el balance iónico en el agua ya que así podremos evitar desajustes en la relación de estos iones que intervienen en el desarrollo del camarón (Ching, 2014).

**Tabla 2** Concentración de iones del mar

<b>Ion</b>	<b>Factor en agua de mar (Lo que debe haber en 1‰)</b>	<b>Concentración en agua de mar (mg/L)</b>
<b>Calcio</b>	11.6	400
<b>Magnesio</b>	39.1	1.350
<b>Potasio</b>	10.7	380
<b>Sodio</b>	304.5	10.500

<b>Cloruro</b>	551	19.000
<b>Sulfato</b>	78.3	2.700

**Fuente:** (Ching, 2014).

### 5.3.3 Efecto de la baja salinidad sobre el *L. vannamei*

Pese a la gran tolerancia del *L. vannamei* a varios rangos de salinidad ambiental y hacer frente a cierto estrés fisiológico a baja salinidad, este sigue siendo un estrés grave para estos crustáceos, ya que a medida que cambia la salinidad, la desviación del punto isoosmótico en el fluido corporal de un animal acuático puede causar efectos negativos en el animal, como una baja resistencia a las enfermedades y bajo crecimiento. Por lo tanto, es importante considerar los requisitos fisiológicos y nutricionales de este crustáceo cultivado a bajas salinidades para evitar un crecimiento y reducción del mecanismo de defensa frente a patógenos oportunistas (Li y otros, 2015).

## 5.4 *Vibrio spp*

### 5.4.1 Generalidades

Las especies que pertenecen al género *Vibrio* son bacterias gram negativas que presenta forma de bastoncillo, por lo general, contienen más de cien especies originados en el filo protobacteria, las cuales son anaerobias facultativas, también pueden ser caracterizadas en halófilas y no halófilas habitando en aguas marinas, salobres y agua dulce (Culot y otros, 2021). Según Kumarage y Silva (2022) “pueden desarrollarse en temperaturas que fluctúan entre 13°C y 22°C y salinidades entre 5 y 25 ppt”. Además, Juárez y col. (2020) describen que permanecen en el sedimento de los fondos marinos cuando las temperaturas son bajas y así no presentan valores adecuados para causar una infección ya que estos son inferiores. La temperatura y otras condiciones fisicoquímicas del ambiente marino favorecen el crecimiento de *Vibrio spp* (Chandrakala & Priya, 2017).

Los Vibrios constituyen el 60% del total de bacterias heterótrofas presentes en los organismos acuáticos ya que forman parte del microbiota natural de estos, el cual suelen estar alojados

principalmente en el zooplancton, peces, moluscos, crustáceos, incluso en invertebrados marino como esponjas y corales (Sanches et al., 2022). Por otro lado, los Vibrios tienen un rol clave en los ecosistemas naturales ya que intervienen en la mineralización de materia orgánica debido a las enzimas que poseen, además, pueden hidrolizar carbohidratos, lípidos y proteínas, también tiene la capacidad de descomponer polímeros tales como colágeno, almidón, quitina, alginato e hidrocarburos, contribuyendo al reciclaje de carbono y nitrógeno en ambientes acuáticos (Sampaio y otros, 2022).

Los Vibrios durante su vida en estado libre pueden estar inactivos, incluso no se pueden desarrollar en condiciones favorables para su crecimiento, pero se ha corroborado que en condiciones hostiles para su adaptabilidad podrían llegar a ser patógenos (García, 2017).

#### **5.4.2 Taxonomía del género Vibrio**

Belhum (2006) estipulan la clasificación taxonómica del género Vibrio de la siguiente manera:

**Phylum XIV:** Proteobacteria

**Clase III:** Gammaproteobacteria

**Orden:** Vibrionales

**Familia:** Vibrionaceae

**Género:** Vibrio

#### **5.4.3 Distribución de Vibrios en estanques acuícolas.**

Suárez y otros (2015) llevaron a cabo un estudio para evaluar la distribución de las especies de *Vibrios spp.* presentes en un estanque de cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*), para ello llevaron a cabo muestreos de agua y suelo para realizar la identificación de este tipo de bacteria, el cual determinaron que la zona de salida y entrada de agua del estanque presentó una mayor concentración de Vibrios, especialmente de *V. parahaemolyticus* y *V. fluvialis*. Así mismo, Kholi y otros. (2021) encontraron mayor concentración de *V. parahaemolyticus* en estas zonas por lo cual recomienda realizar la identificación de estos para tener un mejor control, ya que gracias a la investigación realizada por Khimmakthong y Sukkarun (2017) demostraron que la propagación del

*V. parahaemolyticus* se da a partir de las seis primeras horas, el cual se debe considerar un mejor control sobre estos patógenos.

#### **5.4.4 *Vibrio spp.* en aguas de cultivo de *L. vannamei* a baja salinidad.**

Pese a la poca información de Vibrios en aguas de cultivo de baja salinidad, existen investigaciones como la realizada por Nillian, y otros (2022) donde determinaron que la concentración de Vibrios fue mayor durante el proceso de post cosecha 5,3 Log CFU/ml, a diferencia de post siembra 5,8 Log CFU/ml, además, demuestran que a salinidades de 9 a 12 ppt y temperatura que oscilan entre 29 a 30.7°C la especies de Vibrios que predominaron en el agua fueron *V. fluvialis* con el 29%, seguido de *V. alginolyticus* (22%), *V. parahaemolyticus* (19%) y menos identificados con 10 % fueron *V. fulmisi*, *V. mimicusand V. vulnificus*. Por otro lado, Lopes (2020) indica que el pH alto (8,8 - 9,25) y la temperatura (27 – 28 °C.) en el cultivo de *L. vannamei* a baja salinidad influyen positivamente en el incremento de bacterias sacarosa negativa como; *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, el cual reporta que las concentraciones reportadas fueron de  $450,38 \pm 243,26$  y  $18\ 941 \pm 7\ 090,55$  UFC/mL. No obstante, los cultivos a bajas salinidades también representan un problema para el cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) ya que Bauer y otros (2020) encontraron un mayor número de especies potencialmente patógenas a salinidades por debajo de 15 ‰ como *V. parahaemolyticus*, *V. owensii* y *V. campbelli*.

#### **5.4.5 *Enfermedades ocasionadas por Vibrio spp.***

La vibriosis es una de las principales enfermedades que amenaza a los sistemas acuícolas de todo el mundo, las especies de *Vibrio* que han sido identificadas como las más patógenas son: *V. salmonicida*, *V. splendius*, *V. vulnificus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, estos tres últimos junto a *V. alginolyticus* y *V. mimicushan* han sido reconocidos como los patógenos principales de la vibriosis causantes de pérdidas económicas en los sistemas acuícolas (Kumarage & Silva, 2022).

Las patologías existentes en el cultivo de camarón son dadas por las especies del género *Vibrio*, encontrase presente en todos los estadios de vida de *L. vannamei*, estos se presentan en el tracto digestivo, branquias, cutículas y hemolinfa del camarón, ocasionando así enfermedades como la Vibriosis, Hepatopáncreas edematoso y necrótico en larvicultura y granjas. En las piscinas

camaroneras se encuentra la presencia de *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *Photobacterium* en cambio a nivel de laboratorio de larvas se encuentra *V. harveyi* y *V. splendidus* (Castellano , 2021)

El contagio de camarones por *Vibrios* puede presentarse por medio de heridas o poros existentes en el exoesqueleto del animal, también mediante branquias e intestino medio esto mediante la ingesta de sedimento, agua y alimentos. Por ende, la colonización puede ser un punto a favor para el huésped (Castellano , 2021). Los síntomas característicos de la infección provocada por *Vibrio* son; hepatopáncreas pálido, caparazón corporal rojizo o pálido, urópodo y telson rojizo y antena roja. A pesar de que *Vibrio* forma parte natural de la flora bacteriana en el ambiente acuícola varios de estos son patógenos oportunistas de ciertos organismos. La vibriosis causa mortalidad en estadios larvarios y adultos hasta en un 50% (Sarjito & Sabdono, 2021)

#### **5.4.5.1 Síndrome de la gaviota**

Esta enfermedad está atribuida a la presencia de patógenas oportunistas como *Vibrios* en especial el *V. parahaemolyticus* y se puede dar en etapa larvaria y engorde del camarón, sin embargo, la presencia síntomas son diferentes ya que en etapa larvaria provocan daños como deterioro del hepatopáncreas e intestinos, mientras que la fase de engorde los organismos presentan septicemia, coloración rojiza y cromatóforos expandidos (Sarango, 2021).

#### **5.4.5.2 Enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND)**

La AHPND conocida anteriormente como síndrome de mortalidad temprana (EMS), debido a la mortalidad temprana que esta ocasiona, fue reportada por primera vez en China en 2009 y consecuentemente se expandió a diferentes países. Se creía que el *V. parahaemolyticus* era el único agente etiológico responsable de este síndrome debido a que producen las toxinas PirA y PirB, sin embargo, se ha reportado que *V. owensii*, *V. campbellii* y *V. harveyi* también causan esta patología, ya que estas también poseen el plásmido pVA1 causante de la enfermedad (Santos y otros, 2020).

Las bacterias causantes de AHPND suelen alojarse en estómago del animal para luego expandirse hacía el hepatopáncreas y dar paso a la presencia de los signos clínicos y la mortalidad que empieza después de los 10 días de la infección. Los principales síntomas incluyen letargo, lento

crecimiento, caparazón blando, estómago e intestino vacío, hepatopáncreas pálido y atrofiado, manchas o rayas negras en el interior del hepatopáncreas (melanización de los túbulos) y muerte en el fondo del estanque (Ngasotter y otros, 2021).

Por otro lado, Varela (2018) menciona que esta enfermedad se presenta en tres fases de forma secuencial, el cual la fase inicial (Aguda) empieza con el desprendimiento masivo de células epiteliales en la región de los túbulos del hepatopáncreas junto con la reducción de la actividad mitótica de células embrionarias. Luego en la fase intermedia se observa la presencia de masas bacteriales basofílicas y prosiguen la separación celular, además, los procesos inflamatorios y la infiltración hemocítica es muy evidente en esta etapa. Finalmente, en la etapa terminal, se observa la devastación del hepatopáncreas ya que se produce el desprendimiento masivo de células, junto con la acción bacterial y ocurre una grave infiltración hemocítica acompañada con melanosis y necrosis multifocal.

#### **5.4.5.3 *Síndrome de caparazón suelto (LSS).***

El síndrome de caparazón suelto es una enfermedad crónica progresiva del *L. vannamei* originada en la India el año 1988, el cual los principales responsables de esta patología son las especies del género *Vibrio* como *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. imitar* y *V. parahaemolyticus* (Krishna y otros, 2020). Los animales infectados presentan flacidez en el caparazón con un orificio entre el tejido muscular y el exoesqueleto, además, presentan nado lento y crecimiento reducido, el cual esto puede provocar mortalidades crónicas y reducir la eficiencia de la conversión alimenticia (Suguna, 2020).

#### **5.4.5.4 *Síndrome de las heces blancas (WFS).***

El síndrome de las heces blancas es una amenaza para la industria del camarón, fue reportada por primera vez en Tailandia durante el 2009. Esta enfermedad se atribuye principalmente a las bacterias del género *Vibrio* como *V. alginolyticus* y *V. fluvialis* ya que la carga de estos organismos es muy alta en las materias fecales de los camarones afectados (Kurniawinata y otros, 2021). Los síntomas clínicos que se observan incluyen la decoloración negruzca de las branquias, exoesqueleto suelto y atrofia del hepatopáncreas, además, los intestinos suelen estar vacíos con

hilos de heces blancas y provocan una disminución del apetito de los camarones, lo que dificulta el crecimiento y conduce a la muerte (Tamilarasu y otros, 2020).

#### **5.4.5.5 *Síndrome del Rojo Brillante.***

Esta enfermedad es provocada por el *Vibrio harveyi* y ocasionó masivas mortalidades en granjas de camarones del noroeste de México a partir del 2005 y se le atribuyó este nombre debido a que los principales signos clínicos que presentan los organismos infectados son manchas rojas en la zona abdomen por lo cual se lo denomino de esta manera, además, a nivel histológico presentan necrosis severa en los túbulos de los órganos linfoides, fibras musculares y tejido conectivo, así como melanización y nódulos hemocítico (Soto y otros, 2010)

#### **5.4.6 *Métodos de identificación de Vibrio spp.***

Los métodos de identificación utilizados en acuicultura se basan en técnicas bioquímicas y moleculares, estos son de gran importancia ya que sirven para la caracterización previa de enfermedades y así obtener un oportuno control de las mismas. La técnica bioquímica se basa en el aislamiento de bacterias en los diferentes tipos de medios de cultivo para los distintos géneros y cepas (Alvarado, 2020). Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una prueba molecular en la cual se utiliza cebadores universales para bacterias requiriendo el secuenciamiento de producto final amplificado, pero a la vez este método de identificación no es el más usado ya que ocasiona una pérdida de dinero (Rosado, 2019).

El cultivo bacteriológico que es el más manejado se pueden utilizar diferentes tipos de medio de cultivo en los cuales para estos se usan distintos tipos de agares como el agar TCBS (Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa, por sus siglas en inglés) para medio de cultivo selectivo-diferenciales, Agar Marino para medio generales y por último el CHROMagar (Varela & Choc, 2020).

Por otro lado, Rosado (2019) indica así mismo que las técnicas bacteriológicas se fundamentan en referenciar los valores de conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), haciendo uso del agar TCBS diferenciando así bioquímicamente las especies de *Vibrio*, que al obtener la presencia de colonias con una coloración amarilla o coloración verde.

#### **5.4.6.1 TCBS**

Orosco (2017) mencionan que el Agar TCBS se utiliza para el cultivo y aislamiento de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* obtenidos de muestras de agua, organismos acuáticos, etc. Indicando también que la siembra en placa se la realiza por el método de estría y que al momento de su interpretación estos Vibrios son identificados con el color amarillo para las especies de *V. cholerae*, *V. harveyi* y *V. alginolyticus* y las colonias de *V. parahaemolyticus* aparecerán de color azul claro.

Para la correcta identificación en *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* son útiles las reacciones diferenciales en agar TCBS, esto se debe a que al pasar 18 a 24 horas de la incubación de este agar debido a la fermentación de la sacarosa se presenta el crecimiento en colonias amarillas lisas de *V. cholerae* que muestra un diámetro de 2 a 4mm con un centro opaco y una periferia cristalina, sin embargo, *V. alginolyticus* también presenta colonias que fermentan la sacarosa mostrándose de color amarillo, por último *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* no necesitan del uso de la sacarosa, sin embargo producen colonias verdes azuladas. Por ende, para la diferenciación de estos dos últimos Vibrios, *V. vulnificus* es la única especie de este género que fermenta la lactosa, incluso se pueden diferenciar por serología (Juárez y otros, 2020).

#### **5.4.6.2 CHROMagar**

El Agar CHROMagar Vibrio es el ideal para el aislamiento y la detección de *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *V. cholerae*, teniendo el mismo método de siembra que se describió con el anterior agar y al momento de su interpretación las especies son diferenciadas con el color malva-violeta para *V. parahaemolyticus*, con el color azul verdoso a azul turquesa para las especies de *V. vulnificus* y por último *V. alginolyticus* siendo incoloras (Orosco, 2017).

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Equipos y materiales**

#### **MATERIALES**

- Jeringas de insulina de 1ml
- Cajas Petri
- Vasos de precipitación
- Alcohol industrial (90%)
- Recipientes plásticos
- Mechero
- Asa de Drigalski
- Envases de plástico
- Espátula
- Tubos de ensayo
- Agua destilada
- Papel aluminio
- Pipetas

#### **SUSTANCIAS**

- CHROMagar
- Cloruro de Sodio

#### **EQUIPOS**

- Balanza
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Multiparámetro Gift 5
- Termómetro
- Incubadora

## 6.2. Metodología

### 6.2.1. Ubicación del área de estudio.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal en la Facultad de Ciencias Agropecuarias cuya dirección es P35P+CCW, E583, El cambio y tienen las siguientes coordenadas: -3,2914037 y -79,9137593

*Figura 2. Ubicación del laboratorio de Sanidad Vegetal en la facultad de Ciencias Agropecuarias.*



**Fuente:** Google Earth (2023)

### 6.2.2. Obtención de las muestras

La obtención de las muestras de aguas se obtuvo de piscinas de engorde de camarón ubicada al suroeste de la provincia ecuatoriana de El Oro, específicamente en el cantón Huaquillas, ubicado en las coordenadas - 590221.70 y -9615311.29 donde se utilizaron recipientes plásticos esterilizados, usando así 6 recipientes para las 6 piscinas donde se iban a realizar el muestreo. Se realizaron cinco muestreos a partir de la mitad del ciclo de cultivo de camarón de duración durante los meses de septiembre y octubre. Las muestras de agua fueron tomadas de acuerdo a lo realizado por Suárez y otros (2015), el cual consistió en sumergir el envase debajo de la superficie >20 cm; y se establecieron dos puntos de las piscinas de cultivo para la recolección. Se realizó un muestreo por semana, durante la mañana del día Lunes.

### **6.2.3. Transporte y manejo de muestras**

Las muestras de agua obtenidas fueron etiquetadas con el número de piscina de donde se obtuvieron dichas muestras, luego se colocaron en cavas plásticas con hielo para ser transportadas en un vehículo para poder llegar de manera rápida al laboratorio y comenzar el análisis de las muestras, cabe recalcar que el tiempo de traslado desde el lugar de recolección hasta el laboratorio fue de 1 h 20 min.

### **6.2.4. Parámetros físicos – químicos.**

Mientras se recolectaba las muestras, se midió en el agua la salinidad, temperatura y el pH con un multiparámetro Gift 5 (Generic, Modelo EZ-9909), esto con el fin de evaluar si estas variables pueden llegar a influir en el incremento de las bacterias (UFC/ml.)

### **6.2.5. Análisis de Laboratorio**

#### **6.2.5.1. Desinfección de equipos y materiales**

Como primer paso antes de trabajar en el análisis de las muestras de agua y por ende en la preparación del medio de cultivo, se desinfectó el área de trabajo y así mismo los equipos como la Cámara de flujo laminar, tubos de ensayos, vasos de precipitación, estufa, y mesones.

#### **6.2.5.2. Preparación y plaqueo de medio de cultivo en cajas petri.**

Para la correcta y exacta identificación de las especies patógenas de Vibrios en las muestras de agua se utilizó el medio de cultivo Chromagar Vibrio, con el cual se logró identificar *Vibrio Parahaemolyticus*, *Vibrio Alginolyticus*, *Vibrio Vulnificus/Vibrio cholera* esto en base a las diferentes coloraciones. Para la preparación del medio de cultivo se siguió las indicaciones recomendadas por el producto, por lo cual se pesó 74,7gr de medio de cultivo y se disolvió en 1000ml de agua destilada. Luego de obtener el medio de cultivo se incorporó 15ml de agar en cada una de las cajas, antes y después del plaqueo se realizó una desinfección con rayos UV.

#### **6.2.5.3. Diluciones sucesivas.**

Se trabajó con diluciones sucesivas en la semana 4 y 5 únicamente para las piscinas 4-5 y 6 (piscinas con fuente de agua de estero) para esto por cada semana se elaboró la solución stock el

cual consiste en la mezcla de 108 ml de agua destilada agregando 1,5gr de NaCl, siendo homogenizada correctamente, luego a cada tubo de ensayo con la ayuda de una pipeta se iba incorporando 9 ml de la solución para lo cual se ocuparon un total de 12 tubos por semana, luego se iba colocando a cada tubo se respectiva tapa sin cerrar fuertemente para luego ser llevadas al autoclave por un tiempo aproximado de 1h -1h 30m esto para el proceso de esterilización. Para cada muestra se usaron dos tubos para las diluciones correspondientes siendo  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  y así su duplicado.

#### **6.2.5.4.Siembra en placas**

Se aplicaron dos metodologías, siendo en las 3 primeras semanas una siembra directa para todas las piscinas y en la semana 4 y 5 solo en las piscinas 1-2 y 3 (piscinas con fuente de agua de pozo), para lo cual el proceso aplicado fue homogenizar las muestras correspondientes y se extrajo 100 microlitros que luego fue colocado en la superficie de la placa, siendo así el procedimiento elaborado para este método de siembra. Para las diluciones seriadas se extrajo 100 microlitros de la muestra de igual manera homogenizada correctamente y luego se colocó en cada tubo de ensayo siendo dos diluciones para cada muestra y así mismo posteriormente se extrajo 100 microlitros de la muestra del tubo y se colocó en la superficie de la placa. Luego de colocar las muestras de agua en la placa se procedió a dispersar en el medio de cultivo con el asa de Drigalski esto aproximadamente por 2 o 4min., hasta que la placa esté seca. Por ultimo luego del proceso de siembra de tapó todas las cajas y se las coloco boca abajo y así se llevó a la incubadora por un tiempo de 24-48 horas y luego se procedió a realizar el respectivo conteo de las colonias.

#### **6.2.5.5. Método para el conteo de colonias.**

Como se mencionó anteriormente, se realizó dos tipos de siembras por lo cual la metodología para el conteo es diferente para ambas, pero teniendo en cuenta los siguientes detalles según como lo describe Alvarado (2020):

- Se realiza el recuento una vez finalizado el tiempo de incubación.
- Son reportadas como **incontables** aquellas placas que superen las 250 colonias presentes.
- Luego de haber realizado el conteo se aplica las siguientes formulas:

**Tabla 3:** Fórmula para conteo de colonias para diluciones sucesivas.

UFC× FD / VI en ml.	
UFC	Unidades formadoras de colonias
FD	Factor de dilución
VI en ml.	Volumen del inóculo en ml.

**Fuente:** (Alvarado, 2020)

**Tabla 4:** Fórmula para conteo de colonias para siembra directa.

UFC / VI en ml.	
UFC	Unidades formadoras de colonias
VI en ml.	Volumen del inóculo en ml.

**Fuente:** Elaborado por el autor bajo la guía de la Dra. Leonor Rivera.

#### 6.2.6. Procesamiento estadístico

Los datos obtenidos, asociados al conteo de *Vibrios spp* (UFC/mL) en las muestras de aguas de las piscinas con agua de pozo y estero, fueron comparados con una prueba estadística no paramétrica donde se realizó la Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes, esto debido a que los datos que se analizaron a través de una prueba de normalidad no la presentaron, por lo tanto, se calculó las medianas de las dos fuentes de agua ya que los datos obtenidos no presentaban normalidad. Además, se utilizaron pruebas de correlación bivariadas para determinar si la salinidad, temperatura y pH tomadas en las diferentes piscinas puede relacionarse en la presencia de colonias bacterianas de las especies de *Vibrios*. Así mismo, utilizó los estadísticos descriptivos para conocer qué especie predominó durante el estudio. También se aplicó ANOVA de un factor para analizar el incremento semanal de la carga bacteriana (UFC/mL). Los respectivos análisis estadísticos de los datos obtenidos se realizaron con el programa SPSS Statistics versión 27 de prueba para Windows, y se aplicó un nivel de confiabilidad del 95% ( $p < 0,05$ )

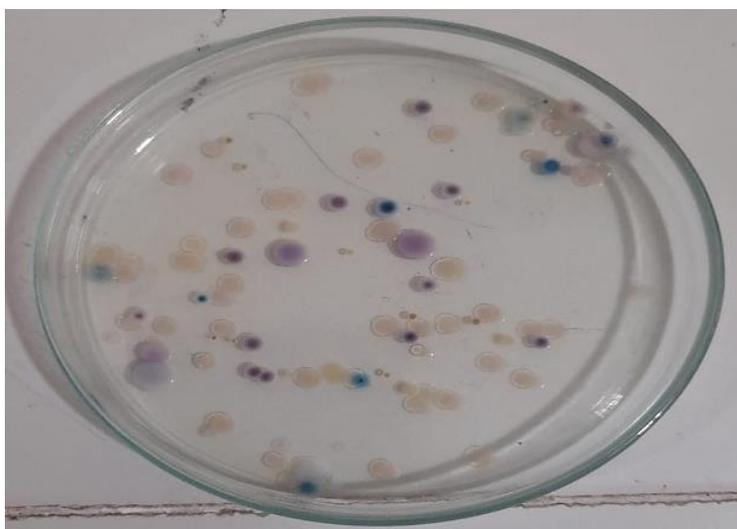
## 7. RESULTADOS

La identificación de *Vibrios* se llevó a cabo a través de colorimetría proporcionada por el CHROMagar™ para determinar la especie, llevando el registro de las colonias presentes. Para ello se observaron las coloraciones que indica el agar.

**Tabla 5:** Especies de *Vibrio spp.* mediante colorimetría

Aspecto típico de las colonias	
Color	Especie
Malva - violeta	<i>V. parahaemolyticus</i>
Verde azulado	<i>V. vulnificus</i> / <i>V. cholerae</i>
Crema	<i>V. alginolyticus</i>

**Figura 3** Especies de *Vibrios spp.* según su coloración.



### 7.1. Análisis de la carga de *Vibrios* en agua de pozo y estero

En la prueba no paramétrica U de Mann – Whitney se comparó la carga de *Vibrios* presentes en las muestras de las piscinas con agua de pozo y estero, el cual demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre la carga bacteriana ya que el p – valor obtenido fue de 0,000016, el cual significa que es menor al nivel de significancia establecido (alfa = 0.05), esto

indica que se acepta la Hipótesis alternativa ( $H_1$ ) que significa que la media de la concentración de *Vibrios spp* (UFC/ml) es diferente entre las piscinas de cultivo de *L. vannamei* con agua de pozo y estero a baja salinidad.

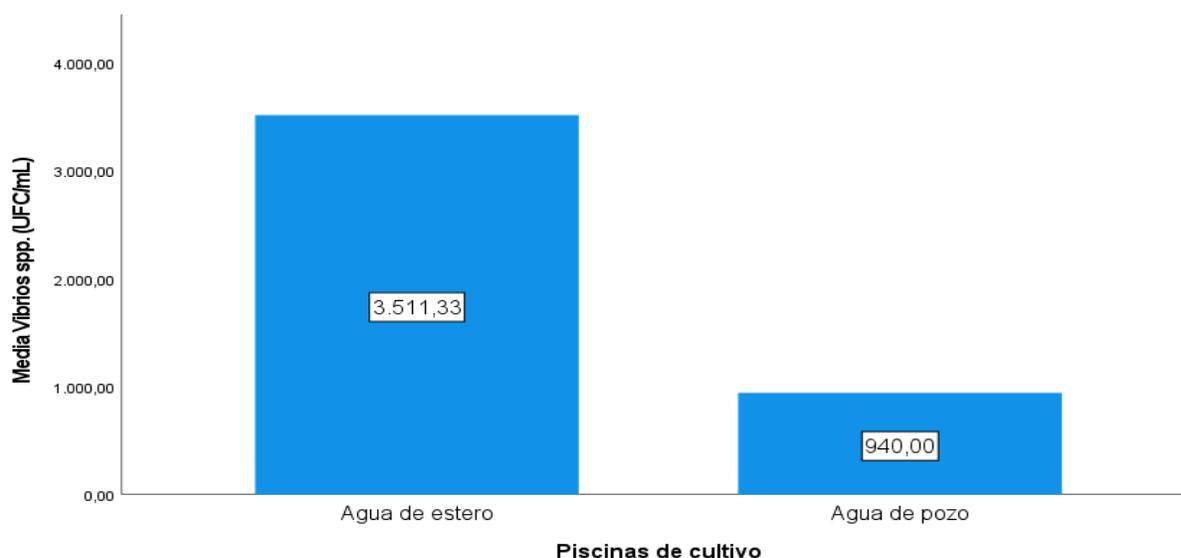
**Tabla 6:** Prueba de la hipótesis nula mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney

	Hipótesis nula	Prueba	Sig	Decisión
1	La concentración de <i>Vibrios spp.</i> (UFC/mL) es la misma entre las piscinas de cultivo de <i>L. vannamei</i> con agua de pozo y estero a baja salinidad.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,000 <sup>c</sup>	Rechace la hipótesis nula.

Se muestra la significancia asintótica. El nivel de significancia 0,05

El resultado del análisis de la carga de *Vibrios* que se realizó para las muestras de aguas en las diferentes piscinas de cultivo de *L. vannamei* da a conocer que existe una diferencia significativa entre las diferentes fuentes de aguas utilizadas, presentando una mayor carga bacteriana en las piscinas que son abastecidas con agua del estero (3511,33 UFC/mL.) a diferencia de las piscinas con agua de pozo (940 UFC/mL.), esto se puede evidenciar en el gráfico 1.

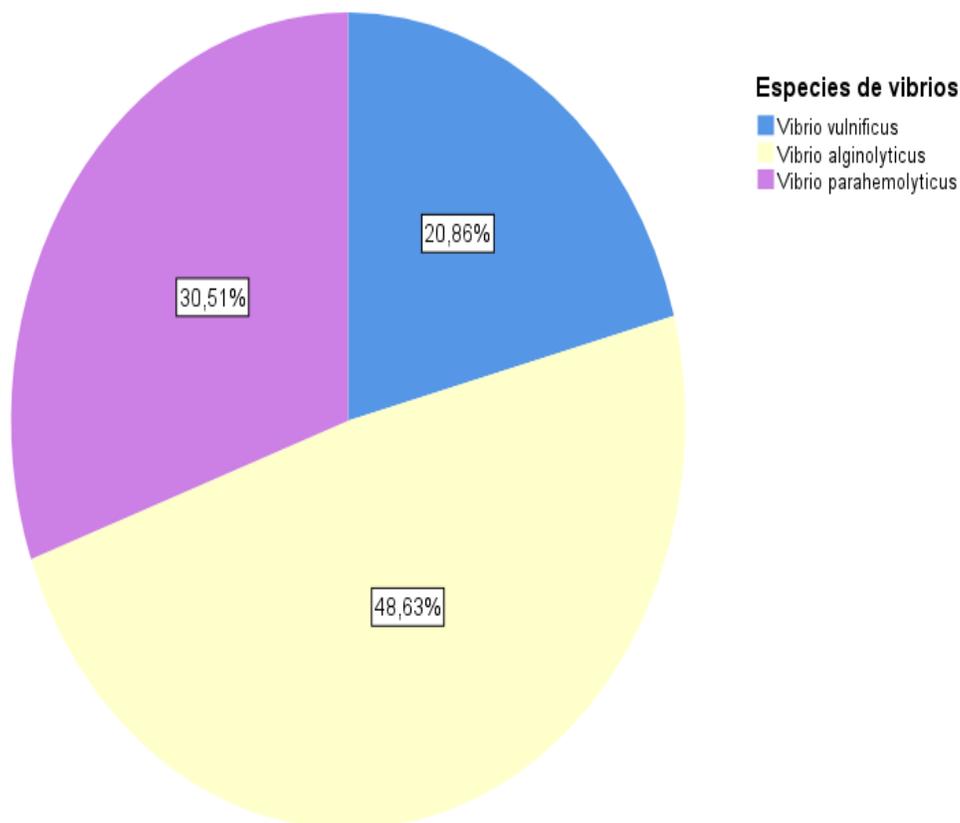
**Gráfico 1.** Carga bacteriana encontrada en las piscinas con agua de pozo y de estero.



## 7.2. Especie predominante e incremento de UFC/mL de Vibrios.

### 7.2.1. Especie predominante.

**Gráfico 2.** Porcentaje de las especies de *Vibrios spp.* encontradas en las muestras de agua.



Como se indica en el gráfico 2, la especie de Vibrios con mayor porcentaje encontrada en esta investigación fue *V. alginolyticus* con un 48,63%, seguida de *V. parahemolyticus* (30,51%) y *V. vulnificus* (20,86%). Por otro lado, la tabla 7 demuestra las concentraciones en UFC/ml de las especies de *Vibrios spp.* identificadas en las muestras de aguas del cultivo de camarón (*L. vannamei*) a baja salinidad, el cual se evidencia que *V. alginolyticus* presentó una concentración alta de 1069 UFC/ml a comparación de *V. parahemolyticus* ( 670,667 UFC/mL.) y *V. vulnificus* (458,667 UFC/mL.).

**Tabla 7:** Especies predominante en las muestras de aguas obtenidas de las piscinas de cultivo de camarón

Descriptivos								
Vibrios (UFC/mL.)								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<i>Vibrio vulnificus</i>	30	458,6667	408,37764	74,55922	306,1759	611,1574	,00	1375,00
<i>Vibrio alginolyticus</i>	30	1069,0000	759,77923	138,71607	785,2938	1352,7062	,00	2200,00
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	30	670,6667	774,35483	141,37720	381,5178	959,8155	,00	2275,00
Total	90	732,7778	708,91122	74,72580	584,2992	881,2564	,00	2275,00

### 7.2.2. Incremento de la concentración de Vibrios.

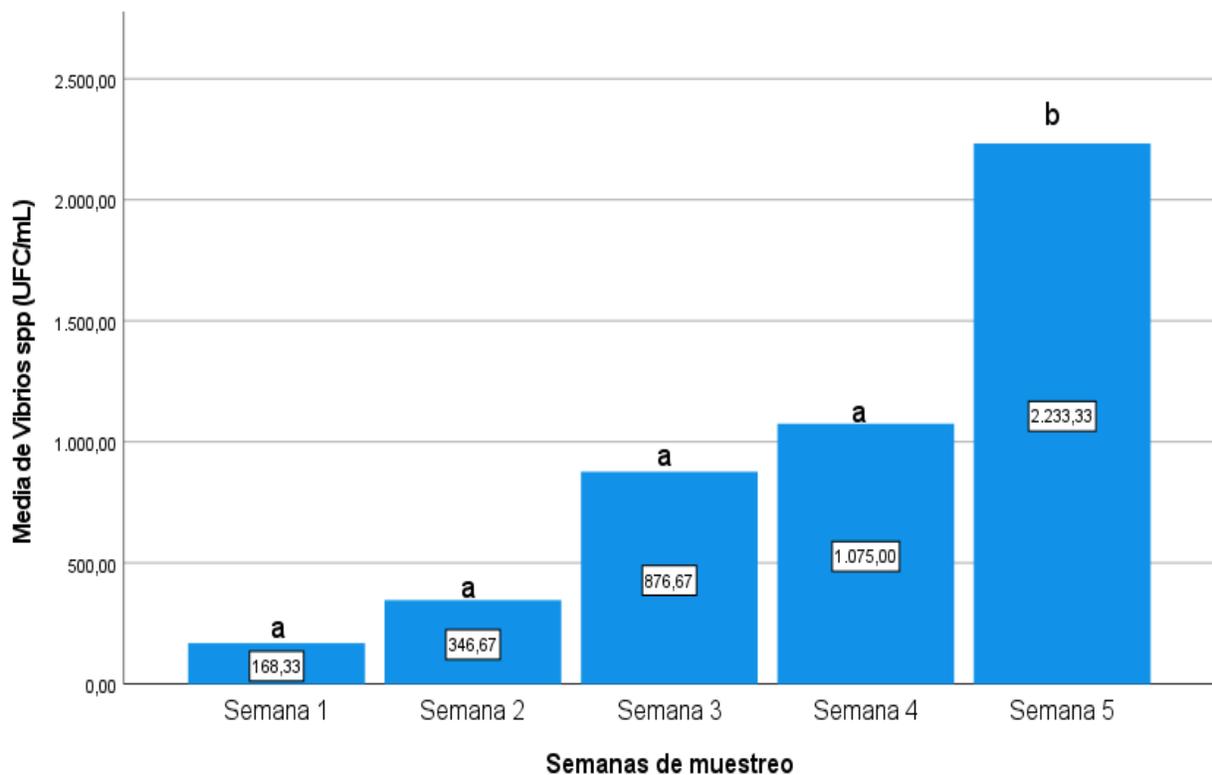
El ANOVA de un factor inter-grupos se utilizó para conocer las diferentes cargas bacterianas de (UFC/mL) de *Vibrios spp.* al transcurso de las semanas del cultivo de *L. vannamei*. Concluyendo que, si existe diferencias significativas en la concentración total de Vibrios en las piscinas de cultivo a medida que pasa las semanas de cultivo, ya que en la tabla 8, se da a conocer que el p – valor en las piscinas con agua de pozo (0,006) y con agua de estero (0,005) fue menor al nivel de significancia (0,05). No obstante, esto indica que a medida que pasa el tiempo de cultivo de este crustáceo, la carga bacteriana *Vibrios spp.* incrementa.

**Tabla 8:** Anova de un factor para comparar la carga bacteriana durante el periodo de muestreo.

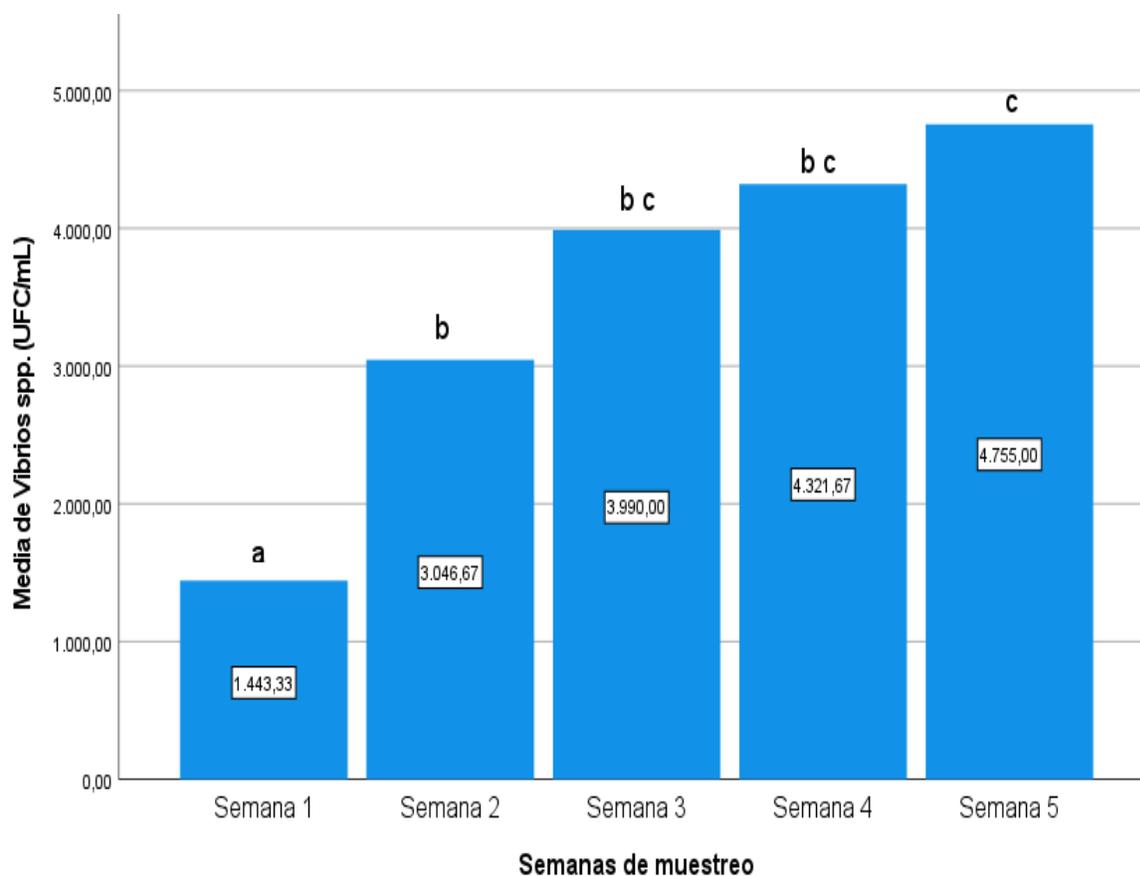
ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Agua de pozo	Entre grupos	7927383,333	4	1981845,833	7,036	,006
	Dentro de grupos	2816866,667	10	281686,667		
	Total	10744250,000	14			
Agua de estero	Entre grupos	20775023,333	4	5193755,833	7,510	,005
	Dentro de grupos	6915400,000	10	691540,000		
	Total	27690423,333	14			

Por otro lado, la prueba post hoc de Duncan muestra 2 subconjuntos homogéneos con respecto a la carga bacteriana de *Vibrios* en las piscinas con agua de pozo durante las semanas de muestreo, por lo cual se evidencia que la concentración de *Vibrios* no presenta diferencias significativas estadísticamente entre la semana 1, 2, 3 y 4, sin embargo, la carga bacteriana de la semana 5 presento diferencias significativas con respecto a las semanas anteriores. Por otro lado, las piscinas con de agua de estero presento 3 sub conjuntos homogéneos con respecto a la carga bacteriana, el cual se evidencia que la semana 1, 2 y 5 presentaron diferencias significativas en cuanto a la carga bacteriana, así mismo, se observa que en la semana 3 y 4 no existe diferencias significativas estadísticamente con la semana 2 y 5. No obstante, esto indica que a medida que pasa el tiempo del cultivo de *L. vannamei* la UFC/mL de *Vibrios spp* en el agua incrementa y estos se evidencia en los gráficos 3 y 4.

**Gráfico 3** Carga bacteriana de *Vibrios spp.* en las piscinas con agua de pozo con respecto a las semanas de estudio.



**Gráfico 4** Carga bacteriana de *Vibrios* spp. en las piscinas con agua de estero con respecto a las semanas de estudio.



### 7.3. Relación de los parámetros con la concentración de *Vibrios*.

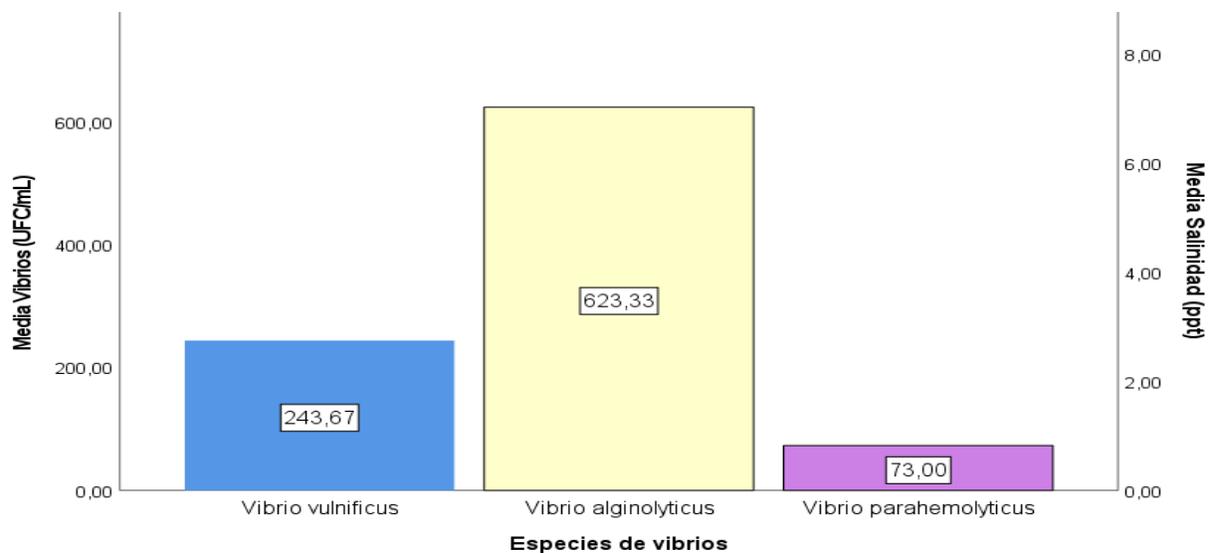
La correlación de Spearman indica que existe una relación directamente proporcional con las especies de *Vibrios* ya que en la tabla 9 se observa que el grado de correlación es fuerte para *V. parahaemolyticus* (0,793) y *V. alginolyticus* (0,621), sin embargo, se observa que el grado de correlación es bajo para *V. vulnificus* (0,462), esto indica que la concentración de carga bacteriana (UFC/mL) de estas bacterias incrementa cuando la salinidad es alta y cuando la salinidad disminuye las UFC/ml reduce, concluyendo que la salinidad influye en cuanto al incremento de *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*.

**Tabla 9:** Correlación de Spearman para la salinidad con las especies de *Vibrios spp* (UFC/mL).

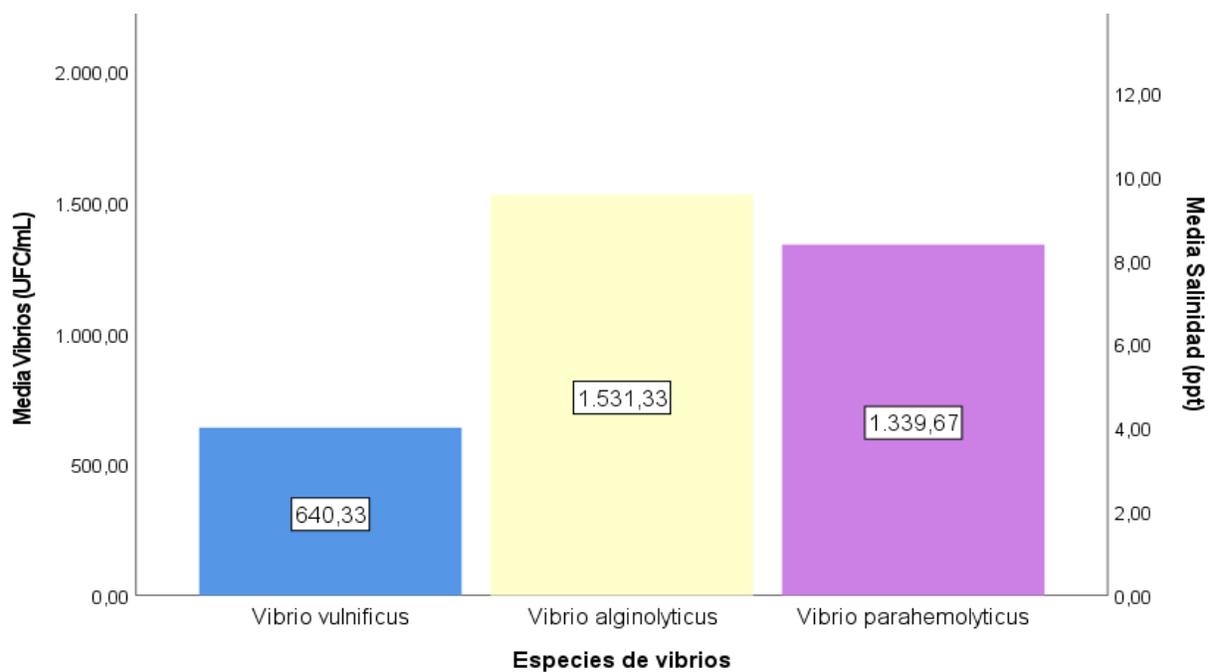
			<b>Correlaciones</b>			
			Salinidad (ppt)	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Rho de Spearman	Salinidad (ppt)	Coeficiente de correlación	1,000	,462*	,621**	,793**
		Sig. (bilateral)	.	,010	,000	,000
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio vulnificus</i>	Salinidad (ppt)	Coeficiente de correlación	,462*	1,000	,575**	,521**
		Sig. (bilateral)	,010	.	,001	,003
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Salinidad (ppt)	Coeficiente de correlación	,621**	,575**	1,000	,790**
		Sig. (bilateral)	,000	,001	.	,000
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	Salinidad (ppt)	Coeficiente de correlación	,793**	,521**	,790**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	,003	,000	.
		N	30	30	30	30

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

**Gráfico 5.** Media de las especies de *Vibrios spp.* con respecto a la salinidad de las piscinas con agua de pozo.



**Gráfico 6.** Media de las especies de *Vibrios spp.* con respecto a la salinidad de las piscinas con agua de estero.



Por otro lado, la temperatura no presento correlación para *V. vulnificus* y *V. alginolyticus*, sin embargo, *V. parahaemolyticus* presento una correlación con la temperatura, el cual se observa en la tabla 10 que existe relación directamente proporcional, esto indica que un incremento de la temperatura podría aumentar la concentración (UFC/mL) de esta especie y cuando la temperatura disminuye la UFC/mL de *V. parahaemolyticus* baja, esto pese a que el grado de correlación (0,430) es bajo. Concluyendo así que el incremento de la especie mencionada se ve afectada por la temperatura presenten en las piscinas de cultivo de camarón.

**Tabla 10.** Correlación de Spearman para la temperatura con las especies de *Vibrios* spp (UFC/mL).

Correlaciones						
		Temperatura (°C)	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
Rho de Spearman	Temperatura (°C)	Coeficiente de correlación	1,000	,048	,243	,430*
		Sig. (bilateral)	.	,801	,195	,018
		N	90	30	30	30
<i>Vibrio vulnificus</i>	Temperatura (°C)	Coeficiente de correlación	,048	1,000	,575**	,521**
		Sig. (bilateral)	,801	.	,001	,003
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Temperatura (°C)	Coeficiente de correlación	,243	,575**	1,000	,790**
		Sig. (bilateral)	,195	,001	.	,000
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Temperatura (°C)	Coeficiente de correlación	,430*	,521**	,790**	1,000
		Sig. (bilateral)	,018	,003	,000	.
		N	30	30	30	30

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

\*\*.. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Finalmente, en la tabla 11 se demuestra que el pH no presentó correlación con ninguna especie de *Vibrio* ya que el nivel de significancia (alfa = 0,05) para cada especie fue mayor. Concluyendo así que el pH no influye en cuanto al incremento de la carga bacteriana (UFC/mL.) de las especies de *Vibrios* spp.

**Tabla 11:** Correlación de Spearman para la temperatura con las especies de *Vibrios* spp (UFC/mL).

			Correlaciones			
			pH	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio parahemolyticus</i>
Rho de Spearman	pH	Coeficiente de correlación	1,000	,022	,014	,204
		Sig. (bilateral)	.	,909	,940	,280
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio vulnificus</i>		Coeficiente de correlación	,022	1,000	,575**	,521**
		Sig. (bilateral)	,909	.	,001	,003
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio alginolyticus</i>		Coeficiente de correlación	-,014	,575**	1,000	,790**
		Sig. (bilateral)	,940	,001	.	,000
		N	30	30	30	30
<i>Vibrio parahemolyticus</i>		Coeficiente de correlación	,204	,521**	,790**	1,000
		Sig. (bilateral)	,280	,003	,000	.
		N	30	30	30	30

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

## 8. DISCUSIÓN

La abundante presencia de *Vibrios spp.* en cultivos de camarón blanco realizados a baja salinidad como se observa en el gráfico 1 indica el riesgo potencial de estas bacterias como agentes patógenos para los organismos en cultivo. Por lo tanto, esto se puede evitar realizando análisis microbiológicos del agua, considerando aquellos parámetros que influyen en la proliferación de los vibrios, y así poder conocer la concentración total y especie que predomine en los cultivos, esto con el fin de evitar que el ataque por estas bacterias sea mayor del que se pudiese evitar y de esta manera garantizar un excelente cultivo del *L. vannamei*.

Por consiguiente, las especies de *Vibrios spp.* identificadas en este estudio indican que la especie más predominante de las muestras de aguas analizadas fue el *Vibrio alginolyticus*, seguido de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, estos resultados son parecidos a los obtenidos por Gopal y otros (2005) quienes determinaron que *V. alginolyticus* predominó con un 17% en las muestras de aguas procedentes de las granjas camaroneras de la costa Este y Oeste de la India, prosiguiendo *V. parahaemolyticus* con el 7%.

Así mismo, Dutan (2022) menciona que la especie que más encontró en entradas de agua de camaroneras *V. alginolyticus* con un 47,4% en invierno y 75% en verano, el cual hace referencia que esta especie se encuentra con más facilidad en granjas camaroneras ubicadas en la zona de la provincia de EL Oro, Ecuador. No obstante, la presencia de *V. alginolyticus* en las piscinas de cultivo a baja salinidad podría ser la causa a futuros problemas a la salud de los organismos ya que según Wang & Chen (2005) mencionan que la baja salinidad conduce a una mayor susceptibilidad a este patógeno, a consecuencia del desequilibrio de iones.

Con respecto a la carga total de *Vibrios spp.* analizadas en las piscinas con agua de pozo y estero de este estudio demuestra que la mayor UFC/mL se presentaron en piscinas con agua de estero con salinidad baja, sin embargo, la concentración de estas bacterias en este estudio fue superior a lo reportado por Suárez y otros (2015) debido a que estos encontraron valores promedios de *Vibrio* entre  $1,2 \times 10^1$  y  $7,4 \times 10^2$  UFC/mL en muestras de aguas obtenidas de un sistema extensivo con salinidades promedios de 3,98 UPS. Por otro lado, las UFC/mL de *Vibrios* encontradas en la presente investigación son menores a la investigación realizada por Lopes (2020) ya que en los

análisis microbiológicos del agua de cultivo intensivo de *L. vannamei* realizados a baja salinidad indican valores de  $24328 \pm 7045,11$  UFC/mL, por lo tanto, se deduce que la baja y alta concentración de Vibrios en los cultivos de camarón puede estar influenciada por la densidad de siembra ya que Alfiansah y otros (2018) demostraron que a mayor densidad de siembra las UFC/mL de Vibrios fue mayor que a baja densidad.

Dentro de los parámetros que pueden estar relacionados en el incremento de las colonias de *Vibrio spp.* en aguas de cultivo de camarón, la salinidad presenta un alto grado de influencia para la presencia de esta bacterias, ya que en este trabajo influye de forma directa en el aumento de las especies de Vibrios como en las carga bacteriana (UFC/ml) y esto se corrobora con el estudio realizado por Rabadon y col. (2022) quienes reportaron que a 5 ppt no existió crecimiento de las colonias de *Vibrios spp* en las muestras de agua, sin embargo, a medida que incremento la salinidad a 10 ppt reportaron crecimientos de  $4 \times 10^3$  UFC/mL de esta bacterias, esto demuestra la relación directa de este parámetro con la dinámica de estos microorganismos.

Las especies *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* fueron las especies que más se correlacionaron con la salinidad, en especial *V. parahaemolyticus* ya que se observó un alto incremento en las UFC/mL a medida que la salinidad fue mayor, por lo cual, estos resultados se relacionan por lo investigado por Heenatigala & Fernando (2016) el cual mencionan que la concentración de *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* incrementaron cuando el rango de salinidad aumentaba, sin embargo, en el trabajo realizado por Dutan (2022) argumenta que las concentraciones de estas especies incrementaron cuando las salinidades estaban por debajo de 15 ppt relacionando positivamente con este parámetro, y se correlacionó negativamente con la salinidad cuando esta se elevó por encima de 15 ppt, esto quiere decir que a salinidades de 15 ppt el incremento de estos Vibrios sera mayor ya que el estudio de Bauer y otros (2020) indica que a salinidades menores o iguales a 15 ppt el número de especies potencialmente patógenas como *V. parahaemoyticus* sera mayor.

Lopes (2020) demostraron en su estudio que la temperatura presento una correlación (0,44\*) positiva en el aumento de Vibrios, particularmente *V. parahaemolyticus*, el cual estos resultados

se asemejan a la presente investigación ya que *V. parahaemolyticus* fue la única especie quien presento correlación positiva (0,430\*) con el aumento de temperatura.

Por otro lado, el pH fue el parametro que no presento correlación con ninguna de las especies de Vibrios, debido a que el rango medio de este parámetro fue de 8,04, y según Costa y otros (2010) mencionan que un alto valor de pH favorece el crecimiento Vibrios, ya que en el estudio realizado determinaron que el alto valor de pH del río Coreaú fue el factor ambiental más importante resultando en la gran abundancia de Vibrios de esa área, además, Lopes (2020) corrobora lo mencionado por Costa y otros (2020) ya que en el estudio que realizó el pH presento valores de  $8,8 \pm 0,062$  y  $9,25 \pm 0,09$ , el cual estos valores altos favorecieron a la correlación (0,5\*) del pH con el incremento de las UFC/mL de Vibrios.

Este estudio se realizó semanalmente la toma de muestras de las piscinas de cultivo de camarón (*L. vannamei*) a baja salinidad para determinar si existe un incremento en la carga bacteriana de Vibrios a medida que pasa el tiempo de cultivo, el cual se evidenció que tanto en las piscinas con agua de pozo y agua de estero el crecimiento de las bacterias fue incrementando semanalmente, por lo tanto, Rabadon y col. (2022) mostraron que el recuento total de Vibrios incremento en la siguiente secuencia; fase de siembra < mitad del ciclo < fase previa a la cosecha. Así mismo, Nillian y col. (2022) concluyeron que la distribución y densidad de *Vibrios spp.* en muestras de aguas de cultivo de *L. vannamei* fue menor en la fase de post siembra (5.6 Log CFU/mL.), en comparación de la fase post cosecha (5.8 Log CFU/mL.). No obstante, la acumulación de desechos en estanques hacia el período de cosecha juega un factor para la progresión de Vibrios, atribuyendola al aumento de nutrientes y carga orgánica como resultado de la alimentación artificial (Kannapiran y otros, 2009).

Con este estudio se demostró sobre lo importante que es llevar a cabo la identificación de *Vibrio spp.* en los cultivos de camarón blanco (*L. vannamei*) a baja salinidad, ya que estas bacterias tienen una excelente capacidad a adaptarse a diferentes ecosistemas acuáticos, sin embargo, se corroboró que el incremento de las UFC/mL., de estos microorganismos esta fuertemente influenciado por la salinidad, y posiblemente otros factores tales como; el origen de la fuente de agua para el cultivo, incremento de nutrientes y carga organica. Además, se evidencia que *V. alinolyticus* y *V. parahaemolyticus* podría llegar hacer nocivo para el cultivo de este crustáceo.

## 9. CONCLUSIONES

El análisis de la carga de Vibrios en las muestras de agua del cultivo de camarón a baja salinidad, demostrarán que independientemente del tipo de fuente de agua que se utilice en el cultivo no impedirá el crecimiento de estas bacterias, esto debido al potencial de adaptabilidad que presentan, con esto también se demuestra que la salinidad es el principal factor que influye en el aumento de las UFC/mL., junto con la especie que predominó en el análisis de las muestras de obtenidas.

*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* se ven afectados por la alteración de los parámetros físicos - químicos en el agua durante el cultivo, ya que se evidenció que la salinidad influye en el crecimiento de estas bacterias, así mismo, un incremento de la temperatura facilitó el aumento de la UFC/mL., de *Vibrio parahaemolyticus* debido a que este parámetro solo presentó correlación con esta especie. La identificación de Vibrios durante el último período de cultivo podría evitar problemas causadas por estas bacterias ya que se demostró que existe un crecimiento a medida que el tiempo de cultivo llega a su fase final.

Se constató que la salinidad afecta la presencia de las especies vibrios, ya que se observó que *Vibrio parahaemolyticus* presentó poca UFC/mL., en aguas de pozo, mientras que la concentración de *Vibrio alginolyticus* no se vio afectada en los dos tipos de fuentes de agua dando a entender un poco el comportamiento de las bacterias en estos tipos de cultivos. Además, el monitoreo de este tipo de bacterias es vital para la implementación de protocolos de manejo necesarios para minimizar el impacto que podrían causar estas bacterias, ya que la intervención de otros factores contribuye al crecimiento de estos microorganismos a medida que pasa el tiempo de cultivo.

Finalmente, este trabajo aporta datos de referencia sobre la presencia de Vibrios en estos tipos de cultivos, además, trae consigo la apertura para más investigaciones ya que esto permitiría llevar a cabo un plan de control y prevención para la actividad de camarón en el país.

## **10. RECOMENDACIONES**

- Evaluar la influencia de compuestos orgánicos en la presencia de Vibrios en aguas de piscinas de cultivo de camarón a baja salinidad.
- Estudiar la relación de los compuestos nitrogenados en la UFC/mL., de Vibrios en el agua.
- Determinar la relación sedimento – agua en la presencia de vibrios en estos tipos de cultivos.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Alfiansah, Y. R., Hassenruck, C. K., Taslihan, A., Harder, J., & Gardes, A. (2018). Bacterial Abundance and Community Composition in Pond Water From Shrimp Aquaculture Systems With Different Stocking Densities. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02457>
- Alvarado, D. . (2020). Determinación de la presencia de *Vibrio* spp en nauplios y larvas de *Litopenaeus vannamei*, en Wanbri S.A . (*Tesis de pregrado*). Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ALVARADO%20DOMINGUEZ%20KELLY%20ELIZABETH.pdf>
- Aurana, S., & Felix, S. (2017). The effect of ionic concentration of low saline waters on growth characteristics of *Penaeus vannamei*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(3), 73-76. <https://www.fisheriesjournal.com/archives/2017/vol5issue3/PartB/5-2-58-548.pdf>
- Bae, J., Hamidoghli, A., Farris, N. W., Olowe, O. S., Choi, W., Lee, S., Won, S., Ohh, M., Lee, S., & Bai, S. C. (2022). Dietary  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) Promotes Growth and Resistance to *Vibrio alginolyticus* in Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 22, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2022/9105068>
- Barrazueta, R. C. (2021). Uso de fertilizantes orgánicos durante el ciclo de cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (*Examen Complexivo*). (Utmach), Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16577/1/ECUACA-2021-IAC-DE00002.pdf>
- Barreto, A. A. (2020). Efectos de la salinidad y dietas sin harina de pescado sobre la fisiología digestiva y crecimiento en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) Cultivados en Biofloc. (*Tesis de grado*). Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, Mexico. <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2408/Efecto%20de%20s>

alinidad%20y%20dietas%20sin%20harina%20de%20pescado%20sobre%20la%20fisiologia%20digestiva%20y%20crecimiento%20en%20el%20camar%C3%B3n%20blanco%20Litopenaeus%20vannamei%20%28BOON

Bauer, J., Teitge, F., Neffe, L., Adamek, M., Jung, A., Pepler, C., Steinhagen, D., & Jung, S. V. (2020). Impact of a reduced water salinity on the composition of *Vibrio* spp. in recirculating aquaculture systems for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its possible risks for shrimp health and food safety. *Journal of Fish Diseases*, 44(1), 89-105. <https://doi.org/10.1111/jfd.13270>

Belkum, A. V. (2006). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (Vol. 46). FEMS Immunology & Medical Microbiology. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2005.00055.x>

Bermúdez, A. M., Espinosa, P. A., Lara, E. C., Rivera, D. M., Astorga, C. K., & Villalpando, C. E. (2017). Detección de vibrio mediante la amplificación de genes de patogenicidad en camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en un sistema tipo invernadero. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 25(72), 20-29. <https://doi.org/10.33064/iycuaa201772218>

Cámara Nacional de Acuicultura. (2022). *CNA*. Retrieved 3 de Julio de 2022, from Camarón-Reporte de Exportaciones Ecuatorianas Totales.: <https://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>

Castellano, F. J. (2021). Efecto de dietas con *Spirulina* sp contra bacterias patógenas de tipo *Vibrio* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Mochache. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6157/1/T-UTEQ-293.pdf>

Chandrakala, N., & Priya, S. (2017). Vibriosis in Shrimp Aquaculture A Review. *Engineering and Technology*, 3(2), 27-33. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/53205059/2297-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1657202558&Signature=ES5bcbRHksjtR~U2MiOOZGsOiByinbazvn1M~ONO364FoHCOU5LnBdhSjL1DN6MW1jmHnf7772MmxfcJ6r->

goSCFADcJgELFe8Oea-UAh318Zyt1XIUT-  
p44jUwJGAgSHfq8g601ZK8ub87ItbFm1II

- Ching, C. A. (Marzo de 2014). *Nicovita-Alicorp*. Manejo del cultivo de camarón en agua de baja salinidad: <https://es.slideshare.net/ParkAvenida/cultivo-de-camaron-en-baja-salinidad-balance-ionico>
- Cobo, A. L. (2020). Evaluación de dos concentraciones de salinidad para la producción del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en piscinas de agua dulce, cantón Arenillas, provincia de El Oro. (*Tesis de pregrado*). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/15500/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-173.pdf>
- Costa, R. A., Silva, G. C., Peixoto, J. R., Vieira, G. H., & Vieira, R. H. (2010). Quantification and distribution of vibrio species in water from an estuary in Ceará-Brazil impacted by shrimp farming. *Braz. j. oceanogr*, 58(3), 183-188. <https://www.scielo.br/j/bjoce/a/ZzWCpxjrsFWHzN4rYqk3rWK/?lang=en>
- Culot , A., Grosset , N., Bruey, Q., Auzou, M., Giard, J.-C., Favard, B., Wakatsuki, A., Baron, S., Frouel, S., Techer, C., & Gautier, M. (2021). Isolation of Harveyi clade *Vibrio* spp. collected in aquaculture farms: How can the identification issue be addressed? *Journal of Microbiological Methods*, 180, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106106>
- Dutan, P. P. (2022). Evaluación estacional de la presencia de bacterias del género *Vibrio* en las entradas de agua en camaroneras en la zona de El Oro. (*Tesis de pregrado*). UTMACH, Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/20141/1/TTUACA-2022-IAC-DE00006>
- Emerenciano, M. G., Rombenso, A. N., Vieira, F. D., Martins, M. A., Coman, G. J., Truong, H. H., Noble, T. H., & Simon, C. K. (2022). Intensification of Penaeid Shrimp Culture: An Applied Review of Advances in Production Systems, Nutrition and Breeding. *Animals (Basel)*, 12(3), 236. <https://doi.org/10.3390/ani12030236>

- FAO. (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.
- García, P. E. (2017). Acción y control de los Vibrios en el ciclo de engorde de los camarones *Litopenaeus vannamei*. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Machala, Machala. [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/11350/1/DE00012\\_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/11350/1/DE00012_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf)
- Gonzabay, C. Á., Vite, C. H., Garzón, M. V., & Cordero, Q. P. (2021). Análisis de la producción de camarón en el Ecuador para su exportación a la Unión Europea en el período 2015-2020. . *Polo del Conocimiento*, 6(9), 1040-1058. <https://doi.org/10.23857//pc.v6i9.3093>
- Gopal, S., Otta , S., Kumar , S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M., & Karunasagar, I. (2005). The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *Int J Food Microbiol*, 102(1), 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.011>
- Heenatigala, P. P., & Fernando, M. U. (2016). Occurrence of bacteria species responsible for vibriosis in shrimp pond culture systems in Sri Lanka and assessment of the suitable control measures. *Sri Lanka J. Aquat*, 21(1), 1-17. <https://pdfs.semanticscholar.org/299f/95df8be0b8e190e5c2e58b4bc50fffe95086.pdf>
- Juárez, M. M., Subyuj, H. A., & Urizar, A. J. (2020). Determinación de *Vibrio parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en camarones de mar (*Penaeus vannamei*) obtenidos de expendios de Puerto Barrios, Izabal Guatemala. (*Tesis de pregrado*). Universidad de San Carlos de Guatemala, Cdad de Guatemala, Guatemala. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1241.pdf>
- Kaleem, O., & Bio Singou, S. A. (2021). Overview of aquaculture systems in Egypt and Nigeria, prospects, potentials, and constraints. *Aquaculture and Fisheries*, 6(6), 535-547. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2020.07.017>

- Kannapiran, E., Ravindran, J., Chandrasekar, R., & Kalaiarasi, A. (2009). Studies on luminous, *Vibrio harveyi* associated with shrimp culture system rearing *Penaeus monodon*. *Journal of Environmental Biology*, 30(5), 191-795. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20143707/>
- Khimmakthong, U., & Sukkarun, P. (2017). The spread of *Vibrio parahaemolyticus* in tissues of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* analyzed by PCR and histopathology. *Microbial Pathogenesis*, 113, 107-112. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.028>
- Kholi, V., Vaidhyathan, R., Balange, A. K., Nayak, B. B., & Kumar, S. H. (2021). Distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in Farmed Shrimp *Penaeus vannamei*, Farm Water and Sediment. *J Pure Appl Microbiol*, 15(3), 1608-1616. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.57>
- Krishna, N. M., Hanuma, R. M., & Srinivasulu, R. M. (2020). Occurrence of loose shell syndrome disease in culture operation of shrimp *Litopenaeus vannamei* in different regions of Andhra Pradesh. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 8(4), 274-279. <https://www.fisheriesjournal.com/archives/2020/vol8issue4/PartD/8-4-41-388.pdf>
- Kumarage, P. M., & De Silva, L. A. (2022). Aquatic environments: A potential source of antimicrobial-resistant *Vibrio* spp. *J Appl Microbiol.*, 1-13. <https://doi.org/10.1111/jam.15702>
- Kurniawinata, M. I., Sukenda, S., Wahjuningrum, D., Widanarni, W., & Hidayatullah, D. (2021). White faeces disease and abundance of bacteria and phytoplankton in intensive pacific white shrimp farming. *Aquaculture Research*, 52(11), 5730-5738. <https://doi.org/10.1111/are.15449>
- Lestantun, A., Anggoro, S., & Yulianto, B. (2020). A review on pathogenic bacteria that potentially threaten the environment of aquaculture: controlling and aquaculture sustainability in Pontang, Serang. *E3S Web of Conferences*, 202, 1-6. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202020206022>

- Li, E., Wang, X., Chen, K., Xu, C., Quin, J. G., & Chen, L. (2015). Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Reviews in Aquaculture*, 9(1), 57-75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12104>
- Lopes, B. C. (2020). Análises bacteriológicas de Vibrios e exame presuntivo no camarão (*Litopenaeus vannamei*) cultivado em sistema semi-intensivo de baixa salinidade. (*Tesis de grado*). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brasil. <https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/5543/1/BeatrizCL DISSERT.pdf>
- Mangarengi, P. N., Selintung, M., Zubair, A., & Ahmad, F. (2020). Evaluation of the effectiveness of wastewater treatment plant for super-intensive shrimp farms (A case study on Punaga Village, Takalar). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*, 419, 1-9. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/419/1/012162>
- Martinez-Cordova, L. R., Martinez-Porchas, M., López-Elías, J., & Enríquez-Ocaña, L. F. (2014). Uso de microorganismos en el cultivo de crustáceos. *BiOtecnia*, 116(3), 1-6. <https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.141>
- Mendieta, P. J. (2017). Patologías asociadas al cultivo intensivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en sistemas cerrados de recirculación (RAS). (*Tesis de pregrado*). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21001/1/TESIS%20DAVID%20PAREDES.pdf>
- Molinos Champion S.A.S. (18 de Diciembre de 2020). Relevancia del balance iónico para la cria de camarones. : <https://www.molinoschampion.com/relevancia-del-balance-ionico-para-la-cria-de-camarones/>
- Morales, C. M., Cuéllar, A. J., Varela, M. A., & Eliozondo, O. C. (2018). Shrimp Bacterial Infections in Latin America: A Review. *Asian Fisheries Science*, 31, 76-87. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2018.31.S1.005>

- Muhammad, A. T. (2022). Virulence of *Vibrio* sp. on whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in different salinity ranges. *ACCL Bioflux*, 15(4), 1837-1842. <https://www.bioflux.com.ro/docs/2022.1837-1842.pdf>
- Muñoz, C. A., & Narváez, C. G. (2018). Estudio de factibilidad del cultivo híper-intensivo de camarón mediante sistema de biofloc en la provincia de El Oro. (*Tesis de pregrado*). Universidad Católica de Santiago De Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. <http://201.159.223.180/handle/3317/11562>
- Ngasotter, S., Mukherjee, S., & Bharti, D. (2021). Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND): An Emerging Threat to the Shrimp Aquaculture Industry. *Chronicle of Bioresource Management*, 5(2), 41-44. [https://www.researchgate.net/publication/351955652\\_Acute\\_Hepatopancreatic\\_Necrosis\\_Disease\\_AHPND\\_An\\_Emerging\\_Threat\\_to\\_the\\_Shrimp\\_Aquaculture\\_Industry/citations](https://www.researchgate.net/publication/351955652_Acute_Hepatopancreatic_Necrosis_Disease_AHPND_An_Emerging_Threat_to_the_Shrimp_Aquaculture_Industry/citations)
- Nillian, E., Diyana, Z. N., Lesen, D., Mohd, Y. N., Binti, I. N., Tung, T. S., & Bilung, L. (2022). Comparison distribution of *Vibrio* species in stocking to harvesting process of shrimp at commercialize shrimp farm. *Internationa, Journal of Biology and Biomedical Engineering.*, 16, 168-174. <https://doi.org/10.46300/91011.2022.16.22>
- Nillian, E., Zakaria, N., Lesen, D., Mohd-Yusoff, N., Binti-Ismail, N., Sing-Tung, T., & Bilung, L. (2022). Comparison Distribution of *Vibrio* Species in Stocking to Harvesting Process of Shrimp at Commercialize Shrimp Farm. *Biomedical International Biology and Engineering Magazine*, 16(22). <https://doi.org/10.46300/91011.2022.16.22>
- Nogueira, M. J. (2018). Análisis comparativo de la sostenibilidad de semi-intensivo (Tradicional) y super-intensivo (con reutilización del agua y uso de Bioflocs - BFT) utilizado en Brasil. (*Tesis de pregrado*). Universidad de Federal Do Ceará, Fortaleza, Brasil. [https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/40212/3/2018\\_dis\\_jfnmatias.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/40212/3/2018_dis_jfnmatias.pdf)
- Orosco, V. C. (2017). Criterios para la correcta selección del medio de cultivo e identificación de *Vibrios* sp en agua de piscinas camaroneras. (*Trabajo de Titulación*). Universidad Técnica de Machala, Machala.

[http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10516/1/DE00006\\_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10516/1/DE00006_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf)

- Rabadon, M. L., Damaso, M. F., & Corpuz, M. N. (2022). Multivariate analyses of microbial concentration and environmental variables in pond-based penaeid shrimp culture systems. *ACCI Bioflux*, *15*(2), 682-690. <https://www.bioflux.com.ro/docs/2022.682-690.pdf>
- Rodríguez, A. J. (2016). Efectos de la pre inoculación de probióticos comerciales en el agua de raceways sobre el crecimiento de postlarvas de *litopenaeus vannamei*. (*Trabajo de titulación*). Utmach, Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7630>
- Rosado, S. A. (2019). Detección de especies patogénicas del género *Vibrio* en langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) de centros de crianza de la región tumbes, mediante la aplicación de un protocolo de PCR múltiple. (*Tesis de Grado*). Universidad Peruano Cayetano Heredia, Lima, Perú. [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7028/Deteccion\\_Rosado\\_Salazar\\_Armando.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7028/Deteccion_Rosado_Salazar_Armando.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Sampaio, A., Silva, V., Poeta, P., & Aonofriesei, F. (2022). *Vibrio* spp.: Life Strategies, Ecology, and Risks in a Changing Environment. *Diversity*, *14*(2), 1-26. <https://doi.org/10.3390/d14020097>
- Sanches, F. G., Sá, C. 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. *Microbial Symbioses*, *13*, 904815. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.904815>
- Santos, H. M., Tsai, C. Y., Maquiling, J. R., Tayo, L. L., Mariatulqabtiah, A. R., Lee, C. W., & Chuang, K. P. (2020). Diagnosis and potential treatments for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): a review. *Aquaculture International*, *28*, 169–185. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00451-w>

- Sarango, V. E. (2021). Identificación de microorganismos patógenos que afectan en el estado larval de camarón blanco (*litopenaeus vannamei*). (*Examen complejo*). UTMACH, Machala, Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/17520>
- Sarjito, & Sabdon, A. (2021). Associated Vibrio Species in Shrimp Vibriosis from Traditional Brackish Water Pond in the North Coastal of Central Java, Indonesia. *Genetics of Aquatic Organisms*, 5(2), 45-54. [http://doi.org/10.4194/2459-1831-v5\\_2\\_01](http://doi.org/10.4194/2459-1831-v5_2_01)
- Sotomayor, C. A. (2020). Evaluación de dos concentraciones de salinidad para la producción del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en piscinas de agua dulce, cantón Arenillas, provincia de El Oro. (*Tesis de pregrado*). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/15500/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-173.pdf>
- Soto-Rodriguez, S. A., Gomez-Gil, B., & Lozano-Olvera, R. (2010). 'Bright-red' Syndrome in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is caused by *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms.*, 92(1), 11-9. <https://doi.org/10.3354/dao02274>
- Suárez, M. G., Medina, Z., Montiel, M., Ibarra, J., & Salcedo, A. (2015). Distribución de *Vibrio* spp. en agua y sedimento de estanques productores de camarón *Litopenaeus vannamei* cultivados con agua del lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Científica*, 25(4), 293-299. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95941173003.pdf>
- Suguna, T. (2020). Disease Diagnosis Prevention and Control of Diseases in *L. vannamei*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 9(9), 764-776. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.096>
- Tamilarasu, A., Nethaji, M., Bharathi, S., Lloyd, C. C., & Somu, S. L. (2020). Review on the emerging white feces syndrome in. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(5), 680-684. <https://www.entomoljournal.com/archives/2020/vol8issue5/PartJ/8-4-439-779.pdf>
- Tang, K. F. (2019). Impacts of acute hepatopancreatic necrosis disease on commercial shrimp aquaculture. *Rev Sci Tech*, 38(2), 477-490. <https://doi.org/10.20506/rst.38.2.2999>

- Tatsuo, K., & Colwell, R. R. (1973). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Journal of Bacteriology*, 1-10. <https://doi.org/10.1128/jb.113.1.24-32.1973>
- Ullsco, A. E., Garzón, M. V., Quezada, C. J., & Barrezueta, U. S. (2021). Análisis del comportamiento económico de la exportación en el sector camaronero en el Ecuador, Periodo 2015-2019. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas.*, 4(S1), 112-119. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/418/438>
- Valenzuela-Madrigal, I. E., Valenzuela-Quiñónez, W., Esparza-Leal, H. M., Rodríguez-Quiroz, G., & Aragón-Noriega, E. A. (2017). Effects of ionic composition on growth and survival of white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture at low-salinity well water. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(1), 103-112. <https://doi.org/10.4067/S0718-1957201700010000>
- Varela, A., & Choc-Martínez, L. F. (2020). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), 1-13. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18165>
- Varela-Mejías, A. (2018). Patologías del hepatopáncreas en camarones marinos cultivados. *Revista AquaTIC*(50), 13-30. <https://www.redalyc.org/journal/494/49460101003/49460101003.pdf>
- Vera, C. E., & Mendoza, J. (2020). Evaluación de parámetros físico-químicos de aguas de pozo para cultivo intensivo de camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* con baja tasa de recambio. *Tesis de pregrado*. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/51448/1/T-76728.pdf>
- Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005). The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. *Fish & Shellfish Immunology*, 18(4), 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.07.008>
- Zhao, S., Ma, L., Wang, Y., Fu, G., Zhou, J., Li, X., & Fang, W. (2018). Antimicrobial resistance and pulsed-field gel electrophoresis typing of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from

shrimp mariculture environment along the east coast of China. *Marine Pollution Bulletin*, 136, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.017>

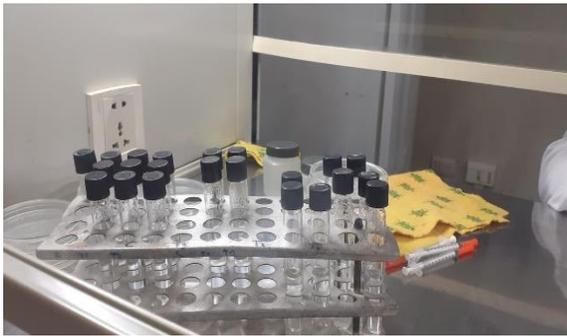
## 12. ANEXOS



**Anexo 1:** Área de trabajo desinfectado



**Anexo 2:** Preparación de las cajas petris



**Anexo 3:** Disoluciones de NaCl



**Anexo 4:** Disoluciones



**Anexo 5:** Muestras de agua recipientes plásticos esterilizados.



**Anexo 6:** Enfundado de placas