UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA DE ZOOTECNIA

"EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL MEDIO ACUÁTICO Y PRODUCTIVIDAD PRIMARIA EN LA PRODUCCIÓN DE LARVA DE CAMARÓN MARINO (*Litopenaneus vannamei*) EN LABORATORIO SEGÚN ESTACIÓN DEL AÑO".

GUSTAVO ADOLFO REYES HURTADO

GUATEMALA, OCTUBRE DEL 2009.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA DE ZOOTECNIA.

"EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL MEDIO ACUÁTICO Y PRODUCTIVIDAD PRIMARIA EN LA PRODUCCIÓN DE LARVA DE CAMARÓN MARINO (*Litopenaneus vannamei*) EN LABORATORIO SEGÚN ESTACIÓN DEL AÑO".

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE

LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

GUSTAVO ADOLFO REYES HURTADO

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIADO ZOOTECNISTA

GUATEMALA, OCTUBRE DEL 2009.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el presente trabajo de tesis titulado.

"EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL MEDIO ACUÁTICO Y PRODUCTIVIDAD PRIMARIA EN LA PRODUCCIÓN DE LARVA DE CAMARÓN MARINO (*Litopenaneus vannamei*) EN LABORATORIO SEGÚN ESTACIÓN DEL AÑO".

Que fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de

LICENCIADO ZOOTECNISTA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO:	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I:	Med. Vet. Yeri Edgardo Veliz Porras
VOCAL II:	M. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL III:	Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV:	Br. Set Levi Samayoa López
VOCAL V:	Br. Luis Alberto Villeda Lanuza

ASESORES

Lic. Zoot. Roberto Ruano Viana

Lic. Zoot. Hugo Peñate

Lic. Zoot. Luis Franco

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por que con su esfuerzo y cariño me han apoyado en cada una de las metas que me he propuesto en vida.

Al Laboratorio Acuícola El Rincón por la confianza y apoyo para realizar mi estudio de investigación y a mi primo Byron Monterroso por su hospitalidad.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: por acompañarme en todo momento dándome sabiduría y la fortaleza para alcanzar mis metas, llenando mi vida de dicha y bendiciones.

A MIS PADRES: por el amor, comprensión y el incondicional apoyo que me han brindado, por los sacrificios que hicieron a lo largo de mi carrera, con todo mi amor esto es para ustedes.

A MIS HERMANOS: por el apoyo, cariño y ser tan importantes en mi vida.

A CARLOS ARRIAGA: por involucrarme en la camaronicultura.

A ANA VERONICA GUERRA: por su apoyo incondicional.

A MIS COMPAÑEROS: por el tiempo y los buenos momentos compartidos.

A MIS ASESORES: por su tiempo, disposición y ayuda brindada.

A MIS CATEDRÁTICOS: por sus valiosas enseñanzas.

A LA ESCUELA DE ZOOTECNIA: con agradecimiento por formarme como profesional.

Y a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron en mi desarrollo personal y profesional.

ÌNDICE

I.	INTRODUCCIÒN	1
II.	HIPÒTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
3.1	General	4
3.2	Específicos	4
IV	REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1	Características biológicas de los crustáceos	5
4.2	Clasificación taxonómica de los crustáceos (camarón marino)	5
4.3	Sistema de producción de larva de camarón marino en laboratorio	5
4.3.1	Sub-sistema hídrico	6
4.3.2	Sub-sistema biológico:	6
4.3.2.1	Maduración	6
4.3.2.2	Larvicultura	7
4.3.2.3	Raceways	7
4.4	Sub-sistema alimento natural-Productividad primaria	7
4.4.1	Algas	7
4.4.2	*Artemia salina*	8
4.5	Objetivos, Ventajas, Desventajas del sistema	9
4.6	Microbiología en larvicultura	10
4.7	Enfermedades más comunes en larvicultura	11

V. MATERIALES Y MÉTODOS 12

5.1 Localización y descripción del área 12

5.2 Materiales y Equipo 12

5.3 Manejo de estudio 13

5.3.1 Toma de la muestra 13

5.3.2 Preparación y dilución de la muestra 14

5.3.2.1 Técnica para Agar TSA Y Agar TCBS 14

5.3.3 Siembra de las muestras 15

5.3.4 Días de estudio 15

5.3.5 Variables respuesta 15

5.3.6 Análisis estadístico 15

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN 16

6.1 Discusión de las UFC presentes en las diferentes áreas estudiadas con Agar TCBS Y TSA en época seca y época lluviosa 18

VII CONCLUSIONES 25

VIII RECOMENDACIONES 26

IX RESUMEN 27

X BIBLIOGRAFÍA 31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.
Frecuencia de las pruebas por mes de las áreas evaluadas en ambas épocas 13

Cuadro 2.
Coeficiente de variación que presentó las UFC en la producción de larva de camarón marino *Litopenaneus vannamei* utilizando agar TCBS, en época seca y época lluviosa 16

Cuadro 3.
Coeficiente de variación que presentó las UFC en la producción de larva de camarón marino *Litopenaneus vannamei* utilizando agar TSA, en época seca y época lluviosa 17

Cuadro 4
Tasa de Supervivencia de Larva transferida de los tanques de larvicultura a los tanques de raceways en época seca y lluviosa 20

Cuadro 5
Características morfológicas de bacterias Gram (-) presentes en las áreas evaluadas 22

Cuadro 6.
Presencia de vibrio sp. Comparado en época seca (febrero-abril) y época lluviosa (mayo-julio) 22

Cuadro 7.
Comparación de la presencia de *Pseudomonas* en época seca (febrero-abril) y época lluviosa (mayo-julio) utilizando agar Cetrimida como medio de cultivo 23

I. INTRODUCCIÓN.

El sector de productos hidrobiológicos es de mucha importancia para el país, no solo en el orden económico sino también en el orden social. En el año 2007 las exportaciones de camarón en Guatemala fueron de 15 millones de Kilogramos equivalente a 81 millones de dólares estas cifras son un reflejo de la importancia de la producción de camarón pará el país.

A nivel de mercados internacionales los productos acuícolas guatemaltecos especialmente los camarones, han logrando ganar reputación por su calidad.

Los sistemas intensivos producen la mayor proporción de camarón de exportación, dicha industria se ve afectada por ciertos factores como los ambientales, en los que se incluyen la temperatura, pH y oxigeno que son indispensables para un buen desarrollo del camarón.

En condiciones naturales, un nivel más alto de oxígeno disuelto indica agua de mejor calidad. Se produce más oxígeno en época de lluvia que en época seca, pero, así mismo, las bacterias aerobias consumen más oxígeno para degradar las grandes masas de materia orgánica que son llevadas a los mares. (1)

La cantidad de oxígeno que puede disolverse en el agua (OD) depende de la temperatura. Hay diferencia en los niveles de OD entre las temperaturas del agua en invierno y las temperaturas del agua en verano. Una diferencia en los niveles de OD puede ser aparente a diferentes profundidades del agua si hay un cambio significativo en la temperatura. El agua más fría puede guardar más oxígeno en ella que el agua más caliente. (1)

El principal factor que contribuye a los cambios en los niveles de oxígeno disuelto es el crecimiento de residuos orgánicos.

---

1 Comunicación personal. Licda. En Acuicultura Verónica Guerra y Guerra. Acuícola El Rincón. S.A. Guatemala 03/2008.

El decaimiento de los residuos orgánicos consume oxígeno y frecuentemente se concentra en el verano, cuando los animales acuáticos requieren más oxígeno para soportar altos metabolismos. (1)

Subproductos sólidos, productos gaseosos (metano y dióxido de carbono) y líquidos son los contaminantes del ambiente marino, los desechos sólidos llevan valores altos de materia orgánica, de alcalinidad y de salinidad provocando un cambio en la estructura física y química del medio. (1)

Los desechos líquidos son lixiviados y sus características contaminantes varían ya que dependerán de los residuos dispuestos, de mayor importancia residuos de metales pesados como cromo, cadmio, zinc y plomo que son los causantes de los efectos nocivos del medio acuático. (1)

Bajo condiciones de cautiverio los animales se encuentran en condiciones ambientales estresantes por los cambios de temperatura, salinidad, manipulación y calidad de agua, disminuyendo los niveles de oxígeno; inmediatamente se hace sentir a niveles bioquímicos y moleculares induciendo a regulaciones de tipo hormonal, metabólico, osmoregulación y regulación inmunológica; afectando la capacidad de supervivencia, crecimiento y reproducción de los organismos. (6,14)

En condiciones de Laboratorio, el agua, como elemento básico, y los diferentes insumos, incluyendo los organismos acuáticos como alimento, han sido reconocidos como importantes fuentes de bacterias potencialmente patógenas. Aunque los problemas causados por estos recursos pueden ser exacerbados por malas prácticas de manejo (pobres prácticas de manejo) y por condiciones adversas de calidad de agua (alta carga orgánica) con efectos estaciónales. (14).

Uno de los principales microorganismos patógenos reportados en condiciones de laboratorio es el género *Vibrio.* Esta bacteria es co-habitante natural del ambiente estuario – marino, aumentando su efecto cuando las larvas se han debilitado especialmente por estrés; el diagnostico larval refleja: Anorexia, tracto digestivo semi vacio o vacio, nado errático y muerte. (6)

II. HIPÓTESIS.

- Los parámetros microbiológicos del medio acuático y productividad primaria en condiciones de laboratorio, tienen efecto sobre el comportamiento productivo de larvas de camarón marino según estaciones del año.

III. OBJETIVOS.

3.1 General

- Proporcionar información que permita identificar y conocer las condiciones microbiológicas de impacto en larvicultura según estación seca y lluviosa.

3.2 Específicos

- Caracterizar la presencia microbiológica de vibriosis y bacterias totales en el medio acuático y en la productividad primaria en época seca y época lluviosa.

- Evaluar el efecto de la presencia microbiológica en la producción de larva de camarón marino según estación del año.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA.

4.1 Características biológicas de los crustáceos

Los crustáceos son uno de los grupos zoológicos con mayor éxito biológico, tanto por el número de especies vivientes como por la diversidad de hábitats que colonizan. Esto es reflejo de la variabilidad de modelos de ciclos vitales y de estrategias reproductivas que poseen. (13)

El crecimiento por medio de sucesivas mudas condiciona una sincronización entre el ciclo de muda y el de madurez sexual. (13)

4.2 Clasificación taxonómica de los crustáceos (camarón marino)

Los camarones taxonómicamente se ubican en el Phylum Artrópoda por poseer patas articuladas, dentro de la clase crustácea por que tienen caparazón externo o exoesqueleto y a la orden decápoda por que tienen cinco pares de patas caminadoras. (8)

Phylum : *Arthropoda*
Clase: *Crustácea*
Sub-clase: *Eumalacostraca*
Orden: *Decápoda*
Sub-orden: *Natantia*
Super Familia: *Penaeoidea*
Familia: *Penaeidae*
Género: *Litopenaeus*
Nombre científico, Nombre comun
Litopenaneus vannamei (Boone, 1931) Camarón blanco. (8)

4.3 Sistema de producción de larva de camarón marino en laboratorio.

El sistema de producción de larva de camarón marino en condiciones de laboratorio se encuentra formado por los subsistemas, hídrico, biológico, alimento vivo.

4.3.1 Sub-sistema Hídrico:

El agua salada que se utiliza para la producción de larva de camarón marino proviene del Océano Pacífico. El agua entra al laboratorio con una salinidad en un rango de 26 a 34 partes por mil. Se tiene 32 puntas para la captación del agua, tubos de PVC de 5 metros , luego esta agua es tratada con ozono que es el mejor bactericida existente actualmente, esta agua es depositada en tres reservorios con una capacidad de 600 m^3 cada uno, para ser distribuida a los sub-subsistema. Las puntas están distribuidas por cuatro para cada bomba de 7.5 Hp, y más dos bombas por cada área, haciendo un total de ocho bombas. (2)

Para el agua dulce cada sector de producción cuenta con una serie de pozos. El área de maduración conjunto con los módulos de larvas cuenta con tres pozos sin filtro. El área de raceways cuenta con cuatro pozos sin un sistema de filtro. (2)

4.3.2 Sub-sistema Biológico:

4.3.2.1 Maduración

En esta área es necesario obtener la maduración de machos y hembras en cautividad, los camarones de télico abierto llevan a cabo el apareamiento cuando la maduración gonádica se encuentra avanzada y las hembras están listas para desovar. El número de huevos por desove se encuentra relacionado con la temperatura, especie, tamaño y condición fisiológica de la hembra y varía entre 100,000 y 1, 000,000 de huevos por desove. Los nauplios (primer estadío larvario), eclosionan a las 14 -16 horas después de la fertilización. Estos nadan intermitentemente y son atraídos a la luz (fototropismo positivo). Mudan cinco veces, alrededor de cada siete horas. Se alimenta del saco vitelino hasta que presenta su metamorfosis a zoea. (9)

4.3.2.2 Larvicultura:

El estadio nauplio 4-5 es la edad de siembra en esta área, en condiciones controladas el animal muda a la fase de zoea, (zoea 1-2-3) éstos nadan de modo continuo y se alimentan por algas, dietas liquidas ya que son netamente filtradoras y suplementos de dietas secas con un tamaño de partícula menor a 100 micras. En condiciones bien controladas mudan tres veces en cuatro a cinco días, después de lo cual ocurre otra metamorfosis que son la fase de Mysis (1,2,3), se alimentan de algas , con dietas secas de un micraje mayor a 100 y con suplemento de artemia salina. Las mysis presentan mudas y su fototropismo negativo, se caracteriza por su nado hacia atrás que es un reflejo de huida. Después de tres a cuatro días las mysis pasan al estadio de larva, se clasifican en función de su estadio de muda. Nadan hacia adelante usando pleópodos como apéndices natatorios, son bentónicos. La alimentación se basa en suplementos de dietas secas con partículas mayores a 200 micras y artemia salina, evitando una sub y sobre alimentación. [1]

4.3.2.3 Raceways

A raceways son transferidos del área de larvicultura con un pl-gramo de 1000, son alimentados con dietas de mayor micraje (300 a 500 micras) y manejados a densidades por litro menores que en larvicultura, con recambios de agua de un 100%. Las poslarvas son despachadas a finca de engorde a una edad de PL 12 en adelante con un peso de 450 que indica el pl-gramo con un tamaño de 9 a 12 mm. [1]

4.4 Sub- sistema Alimento natural- Productividad primaria:

4.4.1 Algas

Al iniciar un cultivo de camarones en condiciones de laboratorio, la producción de micro algas implica una labor delicada y continua.

---

[1] Comunicación personal. Licda. En Acuicultura Verónica Guerra y Guerra. Acuícola El Rincón. S.A. Guatemala 03/2008.

Este sistema trabaja bajo dos principios: producir un cultivo puro y libre de contaminaciones y una concentración o densidad de micro algas (células-ml) necesaria para suplir la demanda del laboratorio. Existen diferentes especies de algas utilizadas en la producción de larva en condiciones de laboratorio, entre las más utilizadas se encuentran *Chaetoceros gracilis, Thalciossira sp.* por su fácil crecimiento, adaptabilidad al trópico y, sobre todo los valores alimenticios que proporcionan una dieta balanceada a las larvas de crustáceos. En este sub sistema se trabajan con densidades de 800 mil a 1,000,000 de células por ml y 500 a 800 mil células por ml respectivamente, esta densidad es la más recomendable. (10-11)

4.4.2 *Artemia Salina*:

El nauplio artemia salina es un alimento natural con alto contenido proteico y de vital importancia en laboratorios de producción de larva de camarón marino, Los quistes de artemia se encuentran en una especie de paréntesis biológico que es reactivado con su hidratación durante una o dos horas en agua dulce. (7-10)

Los quistes se pueden adquirir con o sin la cápsula denominada corion. Si los adquirimos sin descapsular es necesario utilizar una dilución con hipoclorito sódico. Se prepara la mezcla y sumergen los huevos que con la oxidación pasarán de un color marrón oscuro a un naranja vivo. (4-7-10)

La artemia descapsulada facilita el mantenimiento óptimo de las condiciones acuáticas además de permitir un mayor número de eclosiones y reducir el tiempo de eclosión de 48 a 24 horas. La artemia recién eclosionada recibe el nombre de nauplio y está especialmente indicada para alimentar larva. La temperatura del agua influye en la velocidad de eclosión. Cuando la temperatura es inferior a los 24º C el proceso tarda entre las 36 y las 48 horas. Sin embargo con temperaturas entre los 25 y los 30º C este proceso se reduce hasta las 24; Una vez los nauplios han eclosionado se procede a extraerlos, para poder ser utilizados como una buena fuente de alimentación. (4-10)

4.5 Objetivos, Ventajas, Desventajas del sistema:

Objetivos del sistema	Ventajas	Desventajas
Producir larva de camarón marino en cualquier época del año	Producción de larva en todo el año.	Alto costo de producción.
Formar genéticamente mejores ejemplares para su engorda tolerante a enfermedades.	Larva con mejores características físicas.	Influencia alta de bacterias patógenas en relación a intensificación y prácticas de manejo.
Minimizar costos de producción en finca.	Mejores índices de sobrevivencia.	
Obtener crecimientos estables de la especie en su engorde.	Crecimientos más estables en el engorde.	
Disminuir la captura de larva de camarón silvestre.	Formación de líneas genéticas mejoradas.	
Perpetuar la especie. Potencial izar la industria del camarón a nivel regional	Proteger el ecosistema	

4.6 Microbiología en larvicultura.

La microbiología en acuicultura se basa en el estudio de microorganismos que se dividen en cuatro grupos principales: Bacterias, Virus, Hongos y Parásitos. (3)

La salud del camarón es reflejo de la calidad de las aguas, es por ello que determinar las bacterias presentes en ella, especialmente los grupos de bacterias Gram (-) no fermentadoras correspondientes a la familia Vibrionacea, Pseudomonadacea y de bacterias deslizantes, bacterias con pedúnculos, bacterias con vaina y bacterias luminiscentes es de suma importancia. (3)

La mayoría de bacterias marinas son gran negativas y móviles, anaeróbicas facultativas. De crecimiento lento y capaz de utilizar concentraciones muy bajas de nutrientes lo cual hace que presenten fácilmente plemorfismo, y bacterias que normalmente presenten forma de bacilos pueden aparecer como cocos, vibrios o espirilos más o menos largos.(6)

La temperatura óptima del crecimiento bacteriano se encuentra entre los 18 a 22 ˚C, por lo tanto la proporción de bacterias psicrofilas es alta en el mar. (3)

4.7 Enfermedades más comunes en larvicultura

Tipo de enfermedad	Nombre común de la enfermedad	Edad de Larva que afecta	Sintomatología
Enfermedades Fúngicas	Langenidium	Todas las etapas larvarias	Micosis sistemática con poca inflamación Infección progresiva, punto de entrada a otros patógenos oportunistas, muerte.
Enfermedades Bacterianas	Bolitas Blanca	Su mayor presencia es en al fase de Z2 a Z3 aunque puede aparecer en toda fase de crecimiento.	Anorexia, tracto digestivo semi vacio o vacio , nado errático y, muerte
	Bacterias Luminiscentes	Z2 a Z3 y Z3 a M1 son las edades en donde se muestra una mayor presencia.	Se le relaciona a la enfermedad de la bolitas blancas debido a su sintomatología, la lumisecencia expuesta dentro del animal es como se identificación. Anorexia, tracto digestivo semi vacio o vacio, nado errático y, muerte

(6-13)

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 Localización y descripción del área

El laboratorio Acuícola el Rincón se localiza directamente en la jurisdicción de la aldea Madre Vieja del municipio de Taxisco, Departamento de Santa Rosa.

Al proyecto se llega por la carretera asfaltada Ruta CA-9 Sur, correspondiente al tramo Guatemala-Escuintla (Ruta Autopista Palín) y a la altura del kilómetro 60, se desvía a la izquierda por la carretera asfaltada que conduce por la Autopista Escuintla-Puerto Quetzal (km100), luego se desvía de Puerto Quetzal hacia Iztapa, para retomar la ruta a Monterrico hasta llegar a la aldea Madre Vieja en el Litoral del Océano Pacífico en el kilómetro 130. (2)

Las características climáticas del área en donde se realiza el estudio son:

- Clima: Cálido sin estación fría definida, muy húmeda con poca precipitación durante el invierno.
- Altura: 6 msnm.
- Precipitación: 1,674.5 mm
- Temperatura: 26.2 °C min. y 35°C máx.
- Humedad Relativa: 77.3%.

5.2 Materiales y Equipo.

Recursos a evaluar	Equipo a usar	Equipo a usar
Agua de mar (fuente)	Incubadora	Agua dulce purificada
Agua de pozo	Campana biológica Autoclave	Alícuotas
Agua de Reservorio	Tubos de ensayo	Estufa
Agua de tanques de larvicultura	Pipeta	Gas propano
Algas marina	Cajas de petri	Papel aluminio
Artemia salina	Agar Tiocitrato Sulfato Sales Biliares (TCBS) y Agar Tripticasa de Soya (TSA)	Refrigeradora

Reproductores-nauplio	Solución salina	Esterilización del material

5.3 Manejo del estudio

5.3.1 Toma de muestra

Las áreas a evaluar para este trabajo de investigación serán de los lugares que a continuación se describen junto con su frecuencia por mes.

Cuadro No. 1

Frecuencia de las pruebas por mes de las áreas evaluadas en ambas épocas.

	Época Seca			Época Lluviosa		
Estudio a evaluar	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 1	Mes 2	Mes 3
Agua de Mar-Fuente	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Reservorio	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Artemia	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Agua de pre-siembra de	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Tk de larvicultura	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Algas	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Pozo agua dulce	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X
Nauplio	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X	X X X X

X: Toma de la muestra por semana.

Se seleccionó una muestra de cada área a evaluar (agua de mar, de reservorio, de pozo, de tanques de larva pre-siembra, algas, artemia, nauplio), una vez por semana. Las muestras se tomaron por las mañanas en tubos de ensayo esterilizados e identificados del área de donde provienen, luego se enviaron para su análisis al laboratorio de bacteriología de dicha institución.

5.3.2 Preparación y dilución de la muestra:

5.3.2.1 Técnica para Agar TSA- Agar TCBS

- Esterilizar campana biológica de trabajo (alcohol-mechero).
- Ingresar todo el material a utilizar a la campana biológica ya esterilizada.
- Homogenizar la muestra mediante movimientos de rotación.
- Tomar una alícuota de 1 ml /1 gr. y transferirla a un tubo de ensayo conteniendo 9 ml de solución salina. Homogenizar (aguas, algas y artemia), macerar y homogenizar (animales).
- Con una pipeta estéril transferir alícuotas de 1 ml a tubos de 9 ml de diluyente, se obtiene la dilución 10 -2
- Continuar el proceso haciendo diluciones hasta 10 -5 para aguas y 10-4 para animales.
- Por cada dilución utilizar pipeta estéril.
- Cada dilución sucesiva que se realice disminuye 10 veces la concentración.
- Flamear la alza previo a la siembra de la muestra
- Cada dilución es sembrada por el medio de frotación
- Incubar las placas invertidas a 30 o 32˚C por 24 horas.
- Contar todas las colonias por el método de recuento de placa profanada.
- El número de colonias contadas multiplicarlas por el inverso del factor de dilución
- Hacer descripción de las colonias de acuerdo con los siguientes parámetros: forma, borde, elevación, consistencia, tamaño, coloración.
- Cada una de las colonias se cuentan como una unidad formadora de colonia (UFC).

5.3.3 Siembra de las muestras.

Las muestras de las aéreas evaluadas se sembraron en dos medios de cultivo, Agar especifico para vibrio spp. (TCBS) y un agar no selectivo para crecimiento total de bacterias (TSA). Los crecimientos bacterianos de cada muestra fueron observados y cuantificados 24 horas después de la siembra y expresados en unidades formadoras de colonia (UFC).

5.3.4 Días de estudio.

El estudio experimental duró 180 días, dividido en dos períodos, cada uno tuvo una duración de 90 días, distribuidos de la manera siguiente:

- Época Seca, 90 días, (periodo - febrero a abril).
- Época Lluviosa, 90 días, (periodo - mayo a julio).

5.3.5 Variables respuesta.

- Presencia de las Unidad Formadora de Colonia (UFC) en la producción de larva de camarón marino según época del año.
- Supervivencia de larva por época.

5.3.6 Análisis estadístico

Se utilizó una prueba no paramétrica de U Mann Whitney para muestras independientes. El diseño experimental fue completamente al azar. Con dos tratamientos (época seca, época lluviosa) y siete áreas a evaluar dentro del sistema, con un total de 24 repeticiones para cada estudio (12 repeticiones en época seca y 12 repeticiones en época lluviosa).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el cuadro 2 y 3 se observan los resultados obtenidos de las áreas evaluadas en los dos medios de cultivo, en ambas épocas, observándose lo siguiente:

Cuadro. 2

Coeficiente de variación que presentó las UFC en la producción de larva de camarón marino (*Litopenaneus vannamei)* utilizando agar TCBS, en época seca y época lluviosa

Áreas evaluadas	**Promedio de UFC en Agar TCBS. Época Seca**	**Limite de UFC-utilizada en Acuícola El Rincón (2007) y Gómez Gil B.(2005) Agar TCBS (ı) Época Seca**	**Diferencia de UFC comparado con los autores. (ı)**	**Promedio de UFC en Agar TCBS. Época Lluviosa**	**Limite de UFC-utilizada en Acuícola El Rincón (2007) y Gómez Gil B.(2005) Agar TCBS (ı) Época lluviosa**	**Diferencia de UFC comparado con los autores. (ı)**
Mar	797 NS ±9	100	967	2,290 NS ±20	100	2,190
Reservorio	136 NS ±17	100	36	123 NS ± 19	100	23
Pozo	231 ±18	100	131	703 NS ±15	100	603
Artemia (congelada)	30,200 a ±10 P≤0.05	1,000	29,200	24,300 b ±21 P≤0.05	1,000	23,300
Agua de tanques de larvicultura, pre-siembra	10 b ±8 P≤0.05	100	90	882 a ±20 P≤0.05	100	782
Algas	21,000 NS ± 18	100	2,000	10,800 NS ±19	100	10,700
Nauplio	24,700 NS ±4	1,000	23,700	97,000 NS ±18	1,000	96,000

Cuadro. 3

Coeficiente de variación que presentó las UFC en la producción de larva de camarón marino (*Litopenaneus vannamei)* utilizando agar TSA, en época seca y época lluviosa.

Áreas evaluadas	Promedio de UFC en Agar TSA. Época Seca	Limite de UFC-utilizadas en Acuícola El Rincón (2007) y Gómez Gil B.(2005) Agar TSA (ı) Época seca	Diferencia de UFC comparado con los autores. (ı)	Promedio de UFC en Agar TSA. Época Lluviosa	Limite de UFC-utilizada en Acuícola El Rincón (2007) y Gómez Gil B.(2005) Agar TCBS (ı) Época lluviosa	Diferencia de UFC comparado con los autores. (ı)
Mar	2,830 NS ±6	1,000	1,830	35,500 NS ±15	1,000	34,500
Reservorio	2,040 NS±8	1,000	1,040	29,600 NS±18	1,000	28,600
Pozo	53,500 NS ± 12	1,000	52,500	131,000 NS ± 18	1,000	130,000
Artemia (congelada)	183,000 a ± 11 P≤0.05	10,000	173,000	121000 b ± 11 P≤0.05	10,000	111,000
Agua de tanques de larvicultura, pre-siembra	90,900 a ± 18 P≤0.05	1,000	89,900	41,700 b ± 17 P≤0.05	1,000	40,700
Algas	12,800 NS ± 14	1,000	11,800	110,000 NS ±10	1,000	10,900
Nauplio	39,100 NS ± 4	10,000	29,100	86,000 NS ±13	10,000	76,000

Abreviaturas para cuadro 2 y cuadro 3:

a,b. Medidas con significancia estadística (P≤0.05)

NS Medidas sin significancia estadística (P≤0.05)

* Insumos- Productividad Primaria

(**ı**) UFC- Acuícola El Rincón (2007) y Gómez Gil B. (2005) Agar TCBS

Fuente: Trabajo de investigación, Acuícola El Rincón - Santa Rosa, Guatemala 2008

6.1 Discusión de las UFC presentes en las diferentes áreas estudiadas con agar TCBS y TSA en época seca y época lluviosa:

Agua de Mar:

En esta fuente NO presento diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes en ambos agares y ambas épocas del año; sin embargo presentó su mayor concentración de bacterias en la época lluviosa en ambos agares (TCBS y TSA).

Agua de Reservorio:

El agua de reservorio en ambas épocas y agares NO presentó diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes, pero la presencia de UFC en el agar TCBS fue superior en la época seca, así como el agar TSA mostró mayor concentración de bacterias en época lluviosa.

Nauplio de *artemia salina*:

El sector de producción del insumo nauplio de artemia salina. Mostró en esta evaluación bacetriana diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes en ambas épocas y agares, siendo la época seca en donde existió mayor concentración de bacterias.

Agua de tanques de larvicultura - presiembra de naupliio:

Con los resultados obtenidos al evaluar la carga bacteriana del agua de los tanques presiembra, en ambas épocas y agares, se observó diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes. Mostrando mayor presencia de UFC en

la época lluviosa en agar TCBS, contrario al agar que presento mayor concentración bacteriana en la época seca.

Algas:

El área de producción del insumo algas o bien de la productividad primaria que es utilizada para el desarrollo larval, la evaluación bacteriana No presento diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes, en ambas épocas y agares. Sin embargo la concentración de bacterias en el medio de cultivo agar TCBS fue mayor en la época seca, mientras el cultivo TSA demostró mayor concentración en la época lluviosa.

Nauplio (*Litopenaeus vannamei*):

Al evaluar las UFC presentes en la población de nauplio, No presento diferencia estadística significativa (P≤0.05) a la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes, en ambos agares y épocas, pero la presencia bacteriana fue mayor en la época lluviosa para el medio de cultivo agar TCBS y TSA.

Agua de Pozo:

Los datos obtenidos en la evaluación de este recurso, demostraron que en las dos épocas del año y los dos agares utilizados, una negativa a la significancia estadística a la prueba (P≤0.05) no paramétrica de U Mann Whitney para muestras independientes.

Las variaciones de las UFC en la investigación fueron de 3 a 6 unidades exponenciales (1,000 a 1,000,000) en todas las áreas evaluadas , en ambos agares y en las dos épocas del año, estas altas concentraciones bacterianas es una respuesta a los problemas en la tasa de supervivencia que se obtuvo en ambas épocas. Miranda C. y Rojas R. fortalece lo

anteriormente escrito ya que ellos indican que variaciones de 3 a 7 (1,000 a 10,000,000) unidades exponenciales en la carga bacteriana ya es un nivel crónico en la producción larval a nivel de laboratorio afectando así los rendimientos productivos.(12)

El laboratorio de microbiología /Acuícola El Rincón (2007) a calculado algunos indicadores específicos de UFC para cada área y medio de cultivo que es utilizado para el desarrollo de larva de camarón marino; el estudio obtuvo la presencia de indicadores superiores e inferiores a los recomendados por el laboratorio Acuícola El Rincón. Estos datos actualizados que se generaron son de importancia a tomar para nuevos estudios de investigación y para la producción larval en Guatemala.

Cuadro 4

Tasa de Supervivencia de Larva transferida de los tanques de larvicultura a los tanques de raceways en época seca y lluviosa.

Nauplio sembrado en Época Seca	Larva Transferida en Época Seca	Supervivencia %	Nauplio sembrado en Época Lluviosa	Larva Transferida en Época Lluviosa	Supervivencia %
870,829,000	360,511,000	41	621,460,000	207,783.000	34

El cuadro 4 muestra la tasa de supervivencia de larva transferida en ambas épocas del año, los resultados obtenidos indican que SI existe relación con los parámetros microbiológicos en el medio acuático y productividad primaria con respecto al comportamiento productivo larval.

En general, podemos afirmar que las razones de las bajas tasas de supervivencia en el cultivo tienen una relación directa al estrés, este estrés que actúa bajando las defensas inmunes de la larva, en este momento es cuando el desarrollo y proliferación de microorganismos heterótrofos – oportunistas – patógenos actúa. (12)

La tasa de supervivencia de larva transferida en este estudio mostró un 41% en la época seca comparado con un 34% en la época lluviosa, estas tasas de supervivencia no tuvieron un acercamiento a lo propuesto en el plan de trabajo del laboratorio acuícola El Rincón para el año 2008, ya que la institución calculó una tasa de supervivencia del 55 al 60 % en el inicio de la producción, disminuyendo paulatinamente conforme pasan los ciclos, llegando a una supervivencia final en el año del 40% debido a la carga bacteriana generada por las constantes producciones a lo largo del ciclo.

La Finca Ixtán ubicada en el Puerto de Champerrico – Retalhuleu, Guatemala en su producción de larva en la estación lluviosa en el año 2008, obtuvó supervivencias de 50 a 60% utilizando densidades de 250 nauplios por litro misma utilizada en Acuícola El Rincón. Esta gran diferencia de supervivencia probablemente tiene relación con el tipo y calidad del alimento, condiciones naturales y en general con la practicas de manejo que trabaja cada laboratorio. **2**

Asimismo Godinez Daniel E., Díaz Amulfo H. y Maria Gallo en su investigación " Índice de desarrollo y supervivencia de larva de camarón azul *Litopenaneus stylirostris*, alimentadas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans*" obtuvieron supervivencias de 70, 80 y 90 % con densidades de 100 nauplios por litro, utilizando diferentes densidades de algas en la alimentación en los estadios de zoeas y mysis en Mexico. (5)

En otro estudio de investigación Cohelo, tuvo supervivencias de larva de 73% en Brasil. (2003) utilizando 20 mil a 100 mil cel/ml de *Chaetoceros calcitrans* en los estadios de zoea y mysis. (5).

La evaluación por medio del cultivo TSA para crecimiento de bacterias totales, tal como se muestra en el cuadro 4 específicamente bacterias con característica gran (-), presentó un desarrollo parecido en ambas épocas del año, sin embargo en la época lluviosa existió una variación con la presencia de otra bacterias gran (-) siendo identificada y reportada .

---

2 Comunicación personal. Lic. En Acuicultura Marco Valdez. Finca camaronera Ixtan, Camarsa. Guatemala 07/2008.

La identificación morfológica de las bacterias que se presentó en la investigación fue empleada bajo las condiciones que el laboratorio de microbiología de Acuícola El Rincón tienen como referencia.

Cuadro 5

Características morfológicas de bacterias Gram (-) presentes en las áreas evaluadas.

Morfología de Bacterias Gram (-)					
Época Seca		Época Lluviosa			
Forma	Irregular	Forma	Irregular	Forma	Redonda
Tamaño	mediana- grande	Tamaño	mediana- grande	Tamaño	mediana- grande
Color	Crema	Color	Crema	Color	Amarilla
Forma	Filamentosa	Forma	Filamentosa		
Tamaño	mediana- grande	Tamaño	mediana- grande		
Color	Crema	Color	Crema		
Forma	Convexa	Forma	Convexa		
Tamaño	mediana- grande	Tamaño	mediana- grande		
Color	Crema	Color	Crema		

Fuente: Trabajo de investigación, Acuícola El Rincón - Santa Rosa, Guatemala 2008.

Los datos obtenidos en el cuadro 5 define la época lluviosa con más problemas de calidad del medio, debido quizá a la gran riqueza de material orgánico, nutrientes y condiciones de temperatura, que permiten el desarrollo de microfloras especiales adaptadas a estas condiciones. (15).

Cuadro 6

Presencia de vibrio sp. Comparado en época seca (febrero-abril)y época lluviosa (mayo-julio).

Época del año	Presencia de *vibrio spp.* con tinción amarilla	Presencia de *vibrio spp.* con tinción verde
Época Seca	35%	65%
Época Lluviosa	31%	69%

Fuente: Trabajo de investigación, Acuícola El Rincón - Santa Rosa, Guatemala 2008.

El cuadro 6 demuestra que la presencia de *vibrio spp*. Si existe, presentándose en la época lluviosa en un 69% el vibrio con tinción verde, este vibrio a sido reconocido como *Vibrio parahaemoliticus* de mayor importancia en larvicultura ya que se identifica como el mayor causante de la mortalidades en todas las áreas donde se produce larva. (6,14)

Del mismo modo el vibrio con tinción amarilla Si se presento y es identificado como *Vibrio anghinolyticus*. Este vibrio se cataloga como patógeno aunque los mayores perdidas en larvivcultura se relacionan con la presencia del *vibrio parahaemoliticus*. Si se recomienda controlar su presencia y desarrollo. (6,14)

Por otro lado se presentó una bacteria oportunista llamada *Pseudomona spp*. el cuadro 6 demuestra su presencia en ambas épocas, para su identificación se utilizo agar Cetrimida que es especifico para el crecimiento de *Pseudomona* , con una incubación de 48 horas para registrar su crecimiento. Estas pruebas se realizaron únicamente a las áreas de estudios de agua de mar, agua de pozo, agua de reservorio, algas, agua de tanques de larvicultura pre-siembra del nauplio.

Cuadro 7

Comparación de la presencia de *Pseudomonas* en Época seca (febrero-abril) y Época Lluviosa (mayo-julio) utilizando agar Cetrimida como medio de cultivo.

Época del Año	Presencia de *Pseudomona* en el medio acuático
Época Seca	38%
Época Lluviosa	52%

Fuente: Trabajo de investigación, Acuícola El Rincón - Santa Rosa, Guatemala 2008.

La presencia de *Pseudomonas* en época lluviosa es mayor con un 52% comparado con un 38% en época seca, debido a que las condiciones ambientales como humedad y fluctuaciones de temperatura, favorece su crecimiento.

Las *Pseudomonas spp.* se encuentran frecuentemente en todo lugar en donde existe materia orgánica esta bacteria actúa directamente en el exoesqueleto del organismo ocasionando problemas de muda y opacidad en el músculo, debilitando fisiológicamente al organismo dando oportunidad a otros agentes patógenos como el *vibrio spp*. [1]

[1]Comunicación personal. Licda. En Acuicultura Verónica Guerra y Guerra Acuícola El Rincón. S.A. Guatemala 03/2008.

VII CONCLUSIONES.

1. La evaluación microbiológica en la producción de larva de camarón marino en ambas épocas del año, permitió reconocer a la estación lluviosa con mas presencia de UFC patógenas, bacterias de tipo Vibrio con tinción verde, *Pseudomonas*, y Bacterias totales con caracteristicas Gram (-).

2. La presencia de UFC en la producción de larva de camarón marino presentó diferencia estadística significativa (P≤0.05) en ambos agares y épocas de las áreas de estudio evaluadas de nauplio de artemia congelada y en el agua de tanques presiembra.

3. Las UFC en las áreas de estudio de Agua de mar, agua de reservorio, algas, nauplio, No presentaron diferencia significativa (P≤0.05) en ambos agares y en ambas épocas.

4. La Viibriosis con tinción verde se presento porcentualmente más en la época lluviosa. (69%) en todas las áreas evaluadas.

5. Las bacterias totales presentes con características Gram(-) se presentaron mas en la época lluviosa, en las áreas de estudio evaluadas de agua de mar, agua de pozo, agua de reservorio, algas , artemia, nauplio (insumos)

6. Para la variable supervivencia de larva transferida, si existió diferencia porcentual entre épocas, obteniendo mejores resultados en la época seca 41% que en época lluviosa 34%.

7. La presencia de *Pseudomonas* en el medio acuático fue mayor en época lluviosa con un 52%.

VIII. RECOMENDACIONES.

1. Continuar con los estudios bacteriológicos y físico-químicos del agua y de los insumos que conforman la producción de larva de camarón, durante ambas épocas.

2. Evaluar sistemas de saneamiento del agua, para mejorar la supervivencia de larva.

3. Profundizar el control en los componentes agua de tanques y nauplio de artemia, por ser recursos potenciales a contaminarse de acuerdo al protocolo analizado.

4. Adecuar la capacidad de carga de siembra de nauplio a las condiciones que presenta el laboratorio Acuícola El Rincón.

IX. RESUMEN.

Reyes Hurtado, Gustavo Adolfo. 2009. Evaluación microbiológica del medio acuático y productividad primaria en la producción en laboratorio de larva de Camarón marino (*litopenaneus vannamei*) Según estación del año. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, GT., USAC/FMVZ. 41p.

Palabras claves: Unidades Formadoras de Colonia (UFC), supervivencia, agar TCBS y TSA.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Acuícola El Rincón, la cual se encuentra a 6 msnm, su clima se caracteriza por una estación calida sin estación fría definida, muy húmeda.

Con el objetivo de evaluar la presencia de UFC en el medio acuático y productividad primaria en la producción de larva de camarón marino *(Litopenaneus vannamei)* en ambas épocas del año, su efecto en la supervivencia. Utilizando medio de cultivo especifico para Vibriosis (agar TCBS) y bacterias totales (agar TSA).

Se utilizó una prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes. El diseño experimental fue completamente al azar. Con dos tratamientos (época seca, de febrero a abril y época lluviosa de mayo a julio) y siete áreas a evaluar dentro del sistema, con un total de 24 repeticiones para cada estudio (12 repeticiones en época seca y 12 repeticiones en época lluviosa).

Según el análisis estadístico para las variables de presencia de UFC, SI Existió diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en ambos tratamientos en las aéreas de estudio evaluadas de Agua pre-siembra en el sector de larvicultura y el sector de Artemia, este insumo (productividad primaria) evaluado en estado de congelamiento.

En el estudio se observo la presencia de Vibriosis en ambas épocas del año, con presencia de tinción verde, que identifica al *Vibrio parahaemoliticus*, identificado como el causante de las bajas tasas de supervivencias en todos los lugares del mundo en donde se produce larva de camarón marino y vibrio con tinción amarilla que representa al *Vibrio anghinolyticus*, que no presentó daños relevantes.

De igual forma se evaluó la presencia de *Pseudomonas* en ambas épocas del año, se hizo el análisis utilizando un agar especifico llamado Cetrimida, esta bacteria se presentó en un alto porcentaje en la época lluviosa (54%), debido a las características de desarrollo de esta bacteria.

Así mismo para la variables supervivencia de larva, si existió diferencia porcentual entre tratamientos, obteniendo supervivencias de 41% en época seca y un 34% en época lluviosa; tasas de supervivencia bajas a lo comparado con el plan de producción del laboratorio en el 2009.

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente trabajo podemos decir que la presencia de UFC entre épocas en la producción de larva de camarón marino se incrementa, reflejando bajas tasas de supervivencia, las practicas de desinfección dentro de la producción del larva de camarón marino son muy importantes llevarlas a cabo y fortalecerlas.

SUMMARY

Reyes Hurtado, Gustavo Adolfo. 2009. Microbiological evaluation of acuatic environment and primary productivity of procution in laboratory of Shimo larvae according to season of year. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, GT., USAC/FMVZ. 41p.

Keywords: Colony Formation UnitsUnidades (UFC), survivaral, agar TCBS y TSA.

This research was conducted at the Aquaculture Laboratory Corner, which is 6 m, its climate is characterized by a defined cold season with warm, very wet.

With the aim of assessing the presence of CFU in the aquatic environment and primary productivity in the production of larvae of marine shrimp (*Litopenaneus vannamei)* in both seasons, its effect on survival. Using culture medium specific for Vibriosis (TCBS agar) and total bacteria (TSA agar).

We used a nonparametric test of Mann-Whitney U for independent samples. The experimental design was completely random. With two treatments (dry season from February to April and rainy season from May to July) and to assess seven areas within the system, with a total of 24 repetitions for each study (12 repetitions in the dry season and rainy season in 12 repetitions).

According to the statistical analysis for the presence of CFU variables, whether there was a significant difference ($P \leq 0.05$) in both treatments in the study evaluated air Water pre-sowing in the sector and the larvicultural statuss and Artemia this input (productivity primary) evaluated in a state of freeze.

The study showed the presence of vibriosis in both seasons, with the presence of green staining, which identifies the Vibrio parahaemoliticus, identified as the cause of low survival rates in all parts of the world where shrimp larvae marine

vibrio, is produced and staining with yellow representing the *Vibrio anghinolyticus*, which presented no significant damage.

Similarly assessed the presence of Pseudomonas in both seasons, the analysis was done using a specific named Cetrimide agar, the bacterium is present in a high percentage in the dry season (54%) due to the nature of development of this bacterium.

Also for the variable survival of larvae, if there percentage difference between treatments, giving 41% survival in the dry season and 34% in the rainy season, low survival rates as compared with the production plan of the laboratory in 2009.

Under the conditions in which this work was done, we can say that the presence of CFU between seasons in the production of larvae of marine shrimp is increasing, reflecting low rates of survival, disinfection practices in the production of larvae of marine shrimp are very important to carry out and strengthen them.

X. BIBLIOGRAFÍA

1 Alvarez R. 2005. Oxígeno disuelto y temperatura. Querétaro, Qro. México, s.e. p. 1-3

2 Cazali Vega, P. 2006. Informa final de práctica profesional supervisada: Laboratorio de camarón blanco *Litopenaneus vannavei* Finca El Rincón. Santa Rosa, Gt. CEMA. p. 13, 17, 22, 45,46.

3 CENIACUA (Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia, CO.). 1996. Curso introductorio de microbiología aplicada en laboratorio de larvicultura. Santafé de Bogotá, CO. p. 4, 6, 18,31-41.

4 De Clunnie A.et a. Manejo y cultivo de artemia y rotíferos. Programa regional de apoyo de desarrollo de la pesca en el istmo centroamericano (PRADEPESCA). (en línea). Consultado 15 ene. 2008. 4:1.

5. Godínez Daniel E., Díaz Amulfo H., Maria Gallo. Índice de desarrollo y supervivencia de larva de camarón azul *Litopenaneus stylirostris,* alimentadas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans* (en línea). Consultado 15 oct. 2008. Universidad de Guadalajara MX. Disponible en: www.scielo.org.co/pdf

6 Gómez Gil, B. Et al. 2005. Enfermedades más comunes en la camaronicultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos. México. Consultado 20 abr. 2008. (en línea). Disponible en: www.cesaibc.org/pdf/infointeres/crustaceos/enfermedadesmexico.pdf

7 Gonzalez, J. s.f. *Artemia salina* : Reproducción y cíia. (En línea). Consultado 2 de mayo 2008. Disponible en: www.geocities.com/jgonz.geo/trucos_acuario/artemia

8 Gutiérrez García R. 2004. Camarones costeros del pacífico nicaragüense, ciclo de vida y distribución. Nicaragua. Consultado 20 feb.2008. (En línea). Disponible en: www.mific.gob.ni

9 Martínez Córdova, L.R. 2002. Camaronicultura, Avances y Tendencias: reproducción de camarón: Un punto de vista fisiológico. /Departamento de investigaciones científicas y tecnológicas Universidad de Sonora México. México, Agt. Editor. p. 46-48.

10 Martínez Palacios, C. A. et a. La nutrición y alimentación en la acuicultura de América latina. (En línea). Ecuador. Consultado 2 mayo 2008. *Artemia salina* (nauplios recién eclosionados) y algas vivas (Chaetoceros sp., Tetraselmis sp). Disponible: www.fao.org

11. Morales V. V., De Velotti A. 2001. Fitoplancton. Programa regional de apoyo de desarrollo de la pesca en el istmo centroamericano (PRADEPESCA). (En línea). Consultado 10 feb. 2008. 2:1

12. Miranda C. y Rojas R. Manual de Higiene del Cultivo de Moluscos. Laboratorio de Patología Acuática. Universidad Católica del Norte. Chile.

13 Sarda, F. 2002. La reproducción de los crustáceos: fisiología: factores de regulación de la reproducción. Potencial reproductivo. Instituto de ciencias del mar Barcelona. Ecuador, s.e. p. 251-252.

14. Viera Herrera, G. 2003. Anomalías ocurridas en larvas de *Litopenaneus vannamei* cultivadas en laboratorio. Guayaquil, Ecuador. (En línea). Consultado 18 abr.2008. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. “Anomalías ocurridas en larvas de L. vannamei cultivadas en laboratorio” Tesis de grado. Disponible en: http://www.cib.espol.edu.ec

15. Vicente, Molina 2002 Técnico en piscifactorías tomo I 246 p. y tomo II 230 p. Madrid, España. 2002. Cultural S.A.