

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**“IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION TANTO DE ALGAS COMO DE
BACTERIAS DETERMINADAS COMO PRINCIPALES FACTORES QUE
INTERFIEREN EN LA PRODUCCIÓN DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) ”**

POR:

FREDY ALEXANDER MARTINEZ LARA

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO**



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**“IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION TANTO DE ALGAS COMO DE
BACTERIAS DETERMINADAS COMO PRINCIPALES FACTORES QUE
INTERFIEREN EN LA PRODUCCIÓN DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) ”**

POR:

FREDY ALEXANDER MARTIENZ LARA

LIC. DOUGLAS DOMINGO FLORES

Asesor Principal

TESIS

**PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2013

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO por haberme dado el gran privilegio de vivir y por todas sus bendiciones que me ha dado en mi vida.

A MI MADRE YOLANDA CAROLINA LARA por su apoyo incondicional en todo momento y por ser la persona que me motiva a seguir adelante.

A MI PADRE FREDY ISRRAEL MARTINEZ por haberme apoyado en todo lo necesario y por haberme inculcado buenos valores desde mi infancia y se mi mejor amigo.

A MIS HERMANOS KRISSIA NASAREHT MARTINEZ, LUIS ALBERTO LARA, IVONNE CRUZ por ser unos excelentes hermanos y que a la vez siempre estuvieron a mi lado para darme motivación cuando más la necesitaba.

A TODA MI FAMILIA por estar siempre pendiente y darme apoyo cuando más lo necesite.

AGRADECIMIENTOS

AL DIVINO CREADOR DEL UNIVERSO por todo su amor que me ha brindado en cada momento y por haberme iluminado con su sabiduría para poder llegar hasta este momento.

A MI MADRE YOLANDA CAROLINA LARA por haberme dado los mejores consejos de mi vida y por todo su amor ofrecido.

A MI PADRE FREDY ISRRAEL MARTINEZ por ser una persona muy importante en mi formación y por todo su amor ofrecido

A MIS HERMANOS KRISSIA NASAREHT MARTINEZ, LUIS ALBERTO LARA, IVONNE CRUZ por haber estado siempre conmigo y por ser parte de mi sangre, así como ser los mejores hermanos que Dios me pudo dar.

A MIS ASESORES Lic. Douglas Domingo Flores, M.D.V Lisandro Zelaya Beltrand, Ing. José Wilfredo Lanza Núñez, por haberme brindado sus conocimientos y colaborado en la realización de mi TESIS.

A MIS COMPAÑEROS DE CLASE KAYROS Y DE CUARTO Elio David Muñoz (URRACO), Andrés Arturo Ordoñez(CAPICHI), Luis Alfredo Escobar(MONTUCA), Ariel Hernández Cárdenas (FRIJOL), Mario Roberto Pinto(SEMITA), Danilo Arturo Rojas(PERRASA), Bairon Escobar(LUPU), por ser más que compañeros son mi segunda familia y serán hasta la muerte.

A TODO EL PERSONAL QUE LABORA EN LA FINCA EL FARO Y EMPADADOR SANTA INES por haberme brindado toda su colaboración durante el desarrollo de la investigación a las Dras. Noelia y Melissa por su apoyo y enseñanza a Rosita por ser muy especial conmigo, a Pablo cabo por ser más que un asesor un amigo y a verme servido de maestro al Lic. Oscar Cruz por a verme brinda la oportunidad de trabajar en la empresa.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA por haber sido como mi segundo hogar durante todo el tiempo que recibí mi formación como profesional

CONTENIDO

	Pag.
I INTRODUCCIÓN.....	1
II OBJETIVOS.....	1
2.1 General.....	1
2.2 Específicos.....	1
III REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3.1 Fertilización de algas.....	4
3.2 Crecimiento de algas.....	4
3.3 Problema principal producido por algas.....	5
3.4 Variaciones en composición de poblaciones.....	6,7
3.5 Rangos de concentraciones recomendadas en algas.....	8
3.6 Patología del camarón.....	9
3.7 Muestreo bacteriológico.....	10
3.8 Parámetros de laboratorio para saber la gravedad de colonias bacterianas en el medio TCBSA.....	11
3.9 Bacterias patógenas para el Humano.....	11
3.9.1 <i>Vibrio Cholerae</i>	11
3.9.2 <i>Vibrio Mimicus</i>	12
3.9.3 Hepatopancreatitis necrotizante (NHP).....	13
3.9.4 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13
3.11 Agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS) es utilizado como medio selectivo para el aislamiento y cultivo de <i>Vibrio cholerae</i>	14
3.12 Agar Tripticasa soya (TSA).....	15
3.13 Interpretación y control de calidad de Medios de cultivo.....	15
3.14 Bioquímica bacteriana api 20 E.....	14
3.15 Método Rafter para conteo e identificación de algas.....	14
IV Metodología.....	15
4.1 Descripción del sitio de la práctica.....	15
4.2 Materiales y Equipo.....	15
4.3 Manejo del experimento.....	16
4.3.1 Descripción de las unidades experimentales.....	16

4.3.2 Recolección y toma de muestras en el campo.....	16
4.3.3 Procedimientos realizados en el laboratorio se realizara los siguientes procedimientos.	17
4.4 Diseño experimental.....	18
4.5 Descripción de tratamientos.....	18
4.6 Variables a evaluar.....	20
4.6.1 Cantidad de colonias verdes y amarillas de bacterias.	20
4.6.2 conteo e identificación de algas.....	20
4.6.3 tipos de bacterias.....	20
V RESULTADO Y DISCUCIONES.....	20
VI CONCLUSIONES.....	42
VII RECOMENDACIONES.....	43
IXANEXOS.....	46
9.1 Croquis de laguna.....	47
9.2 resultados api E 20	48
9.3Imagen de tabla para valores deapi20E.....	48
9.4 Talonario de valoracion de api 20E.....	49
9.5 Como se ingresan los datos al programa.....	49

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. UFC de bacterias verdes en hepatopáncreas.....	23
Cuadro 2. UFC de bacterias amarillas en hepatopáncreas.....	24
Cuadro 3. De variable predictivo de colonias amarillas y verdes de hepatopáncreas.....	25
Cuadro 4. UFC de bacterias verdes en agua.....	26
Cuadro 5. UFC de bacterias amarillas en agua.....	26
Cuadro 6. de variable predictivo de colonias de verdes y amarillas en agua.....	27
Cuadro 7. En cual se da a conocer el número de algas y su respectiva identificación.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Gráfico de (UFC) verdes de Hepatopáncreas	24
Figura 2. Gráfico de UFC amarillas de Hepatopáncreas.....	25
Figura 3. Gráfico de (UFC) verdes de agua.....	26
Figura 4. Grafico de (UFC) amarillas de agua.....	27

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Croquis de lagunas.....	48
Anexo 2. Siembra en TSA por medio de la forma Frobisher para aislamiento de colonias verdes y amarillas.....	49
Anexo 3. Imagen de tabla para valorar o darle la valoración al api E20.....	49
Anexo 4. Talonario de valoración de api E20.....	50
Anexo 5. Como se ingresan los datos al programa.....	50

Martínez Lara, FA. 2013. Identificación y cuantificación tanto algas como de bacterias determinadas como principales factores que interfieren en la producción de camarón (*Litopenaeus vannamei*) tesis Ing. Agro. Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas Olancho, Honduras, C.A.

RESUMEN

El experimento se realizó en la finca y camaronera “El Faro” ubicada en el municipio de El Triunfo a 46.5 Km, de la ciudad de Choluteca la temperatura varía entre los 25y 38 °C, con un promedio de 32.5 °C y una precipitación de 1600 mm por año, con el objetivo de cuantificar e identificar algas y bacterias como los principales factores que intervienen en la producción y calidad de la carne de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Para este experimento se utilizó, 3 Ensayos y 8 repeticiones que se dividieron de la siguiente manera, E1. 8 Muestras de agua de las laguna (dos veces por semana), E2. 1 Muestra de agua del canal (dos veces por semana) E3. 8 muestras de camarón con un peso promedio de 25gr (dos veces por semana), las variables a evaluar fueron, la Cantidad de colonias verdes (que representan las bacterias gran negativas) y amarillas (que representan las bacterias gran positivas), conteo e identificación de algas en el agua y tipos de bacterias en el camarón. El diseño que se utilizó fue el de cuadro de variable predictivo el cual nos permite juntar y cuantificar resultados, en cuanto a los resultados tanto en el agua como en el camarón, se obtuvieron resultados de 100 en unidades formadoras de colonias (UFC) que significa valores de concentraciones de serio-grave ya que tiene valores mayores de 50 unidades formadoras de colonia parámetros dados en laboratorio a 0 sin significancia ya que son menores de 50(UFC) , tanto de verdes(-) como de amarillas(+) eso se debió a varios factores que juegan un papel muy importante como la lluvia, cantidad de sal en el agua, y el uso de cal para el control de a algas y bacterias en lagunas de camarón.

I INTRODUCCIÓN

Los camarones son muy susceptibles a sufrir enfermedades por el efecto de varios factores como la sobrepoblación de algas y de igual manera de bacterias. En Honduras todas las camaroneras se esmeran por tener una buena calidad de agua, de igual manera estudios en el país han dado a conocer que siete camaroneras tales como El Faro, San Bernardo, Granjas Marinas, Granjas Deli, Finca Sur, Apintal, Roja Mar, que representan el 40% de las fincas usan alimento medicados como la Oxitetraciclina, para tratar enfermedades bacteriales entre otras prácticas que han mejorado la incidencia de enfermedades, que es el principal problema en Honduras.(C.B. Farinango, N.S. Rodriguez, M.G. Sandoval, F.Burgos 1997)

Las bacterias representan pérdidas en el cultivo de camarón de hasta el 100% de mortalidad que significa pérdidas millonarias en las empresas camaroneras, y algas estas representan problemas tales como branquias negras ya que estas sirven de filtro en el animal y ahí se retienen algas, bacterias y otros organismos, turbidez, calidad de sabor en la carne del camarón que de igual manera ocasionan perdidas en las fincas o empresas que se dedican a la producción de camarón.

En base a estos problemas la finca “El Faro” junto con la empacadora Santa Inés se ven en la necesidad de realizar un estudio basado en conocer la población de algas y bacterias patógenas en el camarón y en el agua que se cree son nocivas a altas concentraciones y que pueden ocasionar problemas sanitarios y perjudiciales y contagiosos en el cultivo de camarón (*Litopenaeus* *vannamei*).

II OBJETIVOS

2.1 General

Identificación y cuantificación de algas y bacterias determinadas como principales organismos que interfieren en la producción de camarón (*litopenaeus vannamei*).

2.2 Específicos.

Medir concentraciones de algas y bacterias patógenas nocivas que afectan el cultivo de camarón por medio de lecturas de unidades formadoras de colonias (UFC).

Identificar los diferentes tipos de algas y bacterias contenidos en el agua de cultivo y en el camarón.

III REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Fertilización de algas.

El uso de fertilizante químicos restablece el equilibrio que debe haber en la laguna entre nitrógeno y fosforo. El uso de fosforo debe ser adecuado pues un exceso, se precipita en forma insolubles. En el caso de exceso de urea o de nitrato de amonio este es liberado en forma gaseosa.

La fertilización debe ser reducida a medida que sube la biomasa y debe condicionarse al desarrollo de cantidad de algas ya que la aplicación de nutrilake es fundamental en los primeros días del cultivo para el crecimiento del fitoplancton dentro de las lagunas y que su función principal es proporcionar alimento al camarón (Lacto Bac 2003).

3.2 Crecimiento de algas.

El fitoplancton por ser un organismo autótrofo, emplea materia inorgánica, agua, CO_2 y la luz del sol para desarrollarse por medio de la fotosíntesis. Esta permite la producción de carbohidratos, grasas y proteínas, la cual puede ser consumida después por los organismos heterótrofos.

El fitoplancton es la base de la cadena alimenticia en las lagunas cultivadas con camarón. Donde la fotosíntesis es una reacción en la cual la clorofila de las plantas utiliza la energía luminosa para reducir carbono inorgánico hasta carbohidratos, liberando oxígeno gaseoso en el proceso (Boyd 1990).

3.3 Problema principal producido por algas.

El principal problema cuando no hay control adecuado del crecimiento de algas en el agua tiende a tener problemas de sabor en el camarón tales como, tierra, moho, barro o metal de estos sabores lo más comunes son el sabor a tierra o muchas veces a moho y se debe a desechos metabólicos de las Cianofitas, *Anabaena* sp, y *Oscillatoria* sp, que liberan toxinas orgánicas como la geosmina que caracteriza el sabor a tierra.

En la actualidad existen dos sustancias aprobadas por FDA (Federación de Desarrollo Acuícola) para el control de algas productoras del mal sabor en acuicultura estas son: el sulfato de cobre y el diuron (un derivado de la urea). Estas sustancias han sido utilizadas en cultivos de peces y camarón marino. Sin embargo existen controversias por la contaminación y la eliminación de algunas algas que son benéficas que ocasionan en los estanques de cultivo. (Carlos A. Ching 2006)

Son compuestos que al disolverse en el agua inmediatamente aumentan el nivel de nutrientes en la misma. Al hacer esto permiten un mayor crecimiento del fitoplancton, los cuales a su vez van a empujar todo el engranaje de la cadena trófica (zooplancton especialmente) que sirven de alimento al camarón. (Fabrizio Marcillo Morla. 1995)

3.4 Variaciones en composición de poblaciones.

El fitoplancton que hay en lagunas camaroneras incluye miembros de los siguientes grupos de algas:

- Bacillariophyceae (Diatomeas)
- Chlorophyceae (Algas verdes)

- Cyanophyceae (Algas azul-verdes)
- Dinophyceae (Dinoflagelados)
- Chrysophyceae (otras algas pardas)

Normalmente se ha considerado que una población de diatomeas es más favorable para el crecimiento de camarón que otros tipos de algas. Reportan que una población de diatomeas equivalente al 20 a 30 % del total del fitoplancton es considerada adecuada.

En general las diatomeas responden bien a rangos de N: P altos, preferiblemente de 10: 1 a 20: 1. Sin embargo ciertos investigadores afirman lo contrario. Para cultivo de diatomeas recomiendan una relación de alrededor de 5: 1 de relación N: P en agua de mar.

La presencia de una especie en particular de alga dentro de un cuerpo de agua depende de un sinnúmero de complejas interacciones espaciales y temporales entre los factores ambientales, los cuales afectan la tasa de crecimiento y las características del comportamiento de las algas y otros organismos.

El número de géneros de fitoplancton en una muestra de agua puede variar desde 1 hasta más de 50. Una alta diversidad de fitoplancton crea ecosistemas más estables, ya que las variaciones causadas por una especie en particular tienen menor efecto en la totalidad del ecosistema. Esto sucede porque en este caso la probabilidad de que una sola especie domine con un alto porcentaje la población total es mínima, disminuyendo de esta forma la probabilidad de una caída masiva del Bloom de algas con todos sus problemas. (Boyd 1990).

3.5 Rangos de concentraciones recomendadas en algales.

En general se considera óptimo tener concentraciones de algas en los rangos de 300,000 a 400,000 cel/ml. De lo cual se espera que por lo menos un 30% ósea 90,000 cel/ml sean diatomeas. En general se puede trabajar bien con rangos sobre 150,000 cel/ml.

Una forma bastante precisa de medir la concentración de algas es el conteo directo mediante una cámara de sedimentación como la Sedgwick - Rafter, en donde se coloca 1 ml de agua de piscina fijada con lugol, para luego contar una área conocida de la misma y extrapolar el dato obtenido, dándonos esto una lectura en células por mililitro.

Debido a las dificultades que presenta realizar contajes directos de algas, en general se usa la turbidez o profundidad de visibilidad del disco Secchi como indicador de concentración de las mismas. En general se considera la turbidez como un buen indicador de la concentración algal.

Es una buena medida corregir los datos de lectura de turbidez con contajes microscópicos de alga para cada camaronera por época, para tener una idea razonable de los rangos de concentración algal que corresponden a dichas mediciones. Para reducir la variación debida a la turbidez por sedimentos o a otras causas, es recomendable que las mediciones las haga una misma persona a una hora determinada y en un lugar donde no se cause turbulencia en el agua como por ejemplo en un Muelle. En general se considera buena una turbidez de 30 a 40 cms, aunque este dato puede variar debido al tipo de algas y a la cantidad de sedimento en el agua. (Boyd y Daniels, 1993).

3.6 Patología del camarón.

Una causa muy frecuente en la muerte de camarón en estanques es por enfermedades bacterianas, que provocan septicemias bacteriales. La identificación de estos agentes causales requieren de aislamientos de las cepas puras y la realización de varias pruebas bioquímicas también existen algunos métodos moleculares para detectar estos patógenos. El efecto patógeno de las bacterias se ve favorecido por el estrés que causan algunos factores del medioambiente.

Las bacterias pertenecen al sub- grupo de los procariotas. Son células de tamaño variable, las bacterias procariotas tienen una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores (Eucariotas) y en los estanques de camarón podemos encontrar bacteria gran positiva que en agar TCBS (Triosulfato Citrato Bilis Sacarosa) da una coloración amarilla y gran negativas en este mismo medio da una coloración verde. (C.B. Farinango, N.S. Rodriguez, M.G. Sandoval, F.Burgos 1997)

3.7 Muestreo bacteriológico.

Los camarones cultivados pueden tener condiciones con variables niveles con bacteremia, sin necesidad que los animales tengan signos clínicos de enfermedades, las bacterias pueden ser aisladas principalmente de hepatopáncreas y hemolinfa, aunque también de estómago, tejido muscular, cutícula y otros tejidos.

Según estudios realizados por Carmen Gómez (2008) un brote de enfermedad es definido por la aparición de menos de 10 camarones enfermos en todos los estanques, considerado de igual manera como brote leve la aparición de menos de 5 camarones con signo de

enfermedad por estanque, y brote fuerte se establece en la aparición de 10 camarones enfermos por estanque.

La cuantificación se hace generalmente extrayendo hemolinfa, del seno ventral de los camarones con una jeringa de 1 ml, la cual contiene anticoagulante en igual volumen al hemolinfa extraída constituido con un 10% de formol. (Carmen E. Suarez Gómez 2008)

3.8 Cuantificaciones de colonias bacterianas mediante parámetros establecidos en el laboratorio.

Tipos de UFC en Hepatopáncreas	Rangos >	Rango <
Verdes Luminiscentes 100%	Muy grave	Grave
Verdes 50%	Serio- muy grave	Normal
Amarillas 50%	Grave	Normal

Tipos de UFC en agua (H2O)	Rangos >	Rango <
Verdes Luminiscentes 100%	Muy grave	Grave
Verdes 50%	Serio- muy grave	Normal
Amarillas 50%	Grave	Normal

La tabla 3.8 representa tipos de colonias de bacterias presentes en el medio TCBS frente a las concentraciones que serían problemáticas, o que llegarían a generar un problema en la producción de camarón en ese caso la que se utilizara será la Hepatopáncreas UFC/g.

3.9 Bacterias patógenas para el Humano.

3.9.1 *Vibrio cholerae*.

Vibrio cholerae, la especie tipo del género *Vibrio*, es el agente causante de brotes, Varias propiedades bioquímicas y tipos antigénicos lo caracterizan. Se puede diferenciar de otras especies de *Vibrio*, excepto *Vibrio mimicus*, porque su requerimiento obligado para el ion sodio (Na⁺) puede ser satisfecha por las trazas presentes en la mayoría de los componentes de los medios de comunicación. Enterotoxina del cólera es el principal factor de virulencia de la enfermedad del cólera. Una isla de patogenicidad genética designado VPI (*Vibrio* isla de patogenicidad), que contiene la mayoría de los genes necesarios para hacer que el cólera se ha demostrado para regular el gen. La mayoría de las cepas de *Vibrio cholerae* se recuperaron de los casos de cólera epidémico contienen un antígeno somático comunes e incluyen serogrupo. Se han identificado más de 150 tipos conocidos antigénicos somáticos. Hasta hace poco, sólo el cero grupo se asoció con epidemias de cólera. Sin embargo, en 1993,

Un gran brote de cólera ocurrido en India / Bangladesh desde un nuevo, hasta entonces desconocido serogrupo. Numerosos casos se han registrado en la que los pacientes tenían los síntomas típicos de cólera clásico, el cólera grave, hasta ahora sólo se observan con el serogrupo. Excepto para el antígeno y la presencia de una cápsula de polisacárido, este serogrupo es casi idéntico a la séptima cepa pandémica de *Vibrio cholerae*. La cepa se ha convertido en endémica en la región de Bengala y es la causa de lo que puede ser conocido como la Octava pandemia de cólera.

Las cepas de *Vibrio cholerae* que son idénticos a, o se asemejan, cepas clínicas en las características bioquímicas, pero no para aglutinar en cualquiera de anti-sueros se denominan ahora como *Vibrio cholerae*. Estos serológicamente distintas cepas son abundantes en los estuarios. La evidencia indica que las cepas se esporádicamente involucrados en cólera-como las enfermedades diarreicas, pero rara vez en los brotes. De hecho, se encontró que el factor de permeabilidad producida por una cepa durante la investigación de un brote de cólera que son biológicamente e inmunológicamente

indistinguible de la. Algunos non-cepas también son invasivos, producen una toxina termoestable, y han causado infecciones sépticas en individuos con predisposición condiciones médicas. La mayoría de las cepas no producen, la diferencia clave entre estos y la epidemia de *Vibrio cholerae*. (Boletín Nicovita 2013)

3. 10.2 *Vibrio mimicus*.

Vibrio mimicus se ha asociado con la diarrea tras el consumo de mariscos crudos o poco cocidos. Aisladas de muestras durante una búsqueda de *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus* puede diferenciarse de ese patógeno estrechamente relacionado, por no fermentar sacarosa. El organismo aparece como colonias verdes en sales biliares sacarosa agar tiosulfato citrato (TCBS) y crece en la mayoría de los medios de comunicación comunes sin NaCl añadido. Virulencia es mal caracterizado, pero se han encontrado algunas cepas que poseen el gen de la toxina del cólera, producir CT demostrable en un ensayo de cultivo de tejidos, y el gen ctx puede ser detectada mediante amplificación por PCR. (Boletín Nicovita 2013)

3.10.3 Hepatopancreatitis necrotizante (NHP).

Las bacterias que causan NHP es un patógeno intracelular obligado que afecta las células epiteliales hepatopancreáticas; Los factores ambientales que disparan al NHP son salinidades mayores al 16‰ y temperaturas superiores a 26 °C, la demostración histológica de esta enfermedad incluye la observación de los túbulos de hepatopáncreas atrofiado y lesiones multifocales tipo granulomas. (Boletín Nicovita 2013)

3.10.4 *Vibrio parahaemolyticus*.

Es una bacteria entérica, cuyo hábitat natural son las costas marinas, pues requiere sal para su desarrollo. En la época de calor se encuentra en las aguas litorales y mariscos bivalvos, mientras que en la época fría se encuentra en los sedimentos marinos. Existen

diferentes clones patógenos de este agente, algunos de los cuales tienen distribución mundial y otros son propios de algunas regiones específicas.

No existe claridad sobre la dosis infectante requerida para provocar un cuadro gastroentérico y en consecuencia, los brotes epidémicos tienen frecuencias y características que varían ampliamente según la región. Desde el punto de vista de la salud pública, la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en los productos del mar ha sido identificada en todo el mundo como una importante causa de brotes de intoxicación alimentaria.

Los antecedentes disponibles en el país demuestran que se producen brotes epidémicos extensos en número de casos y dispersión regional, aun cuando existen bajas concentraciones de *Vibrio parahaemolyticus* en productos frescos recolectados en los puntos de extracción. Muestra de esto son los brotes ocurridos en los dos últimos años, (entre los meses de enero y fines de abril), donde en el año 2005 se notificaron 10.984 casos, en el año 2006, hubo 3.651 casos notificados. Durante el verano 2007-2008 se han notificado 3643 casos. (Boletín Nicovita 2013)

3.11 Agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS) es utilizado como medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae*.

El Agar TCBS, por las iniciales de Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa, es preparado de acuerdo con la fórmula de Kobayashi y col. siendo una modificación del medio de Nakanishi. En el Agar TCBS crecen todas las especies de *Vibrio* patógenas para el humano excepto *Vibrio hollisae*. Las muestras pueden ser de materiales tanto clínicos como no clínicos.

El Agar TCBS es altamente selectivo para las especies de *Vibrio* debido a sus componentes nutricionales y a la alta concentración de sales y es ampliamente utilizado en placa para el primoaislamiento. Este medio junto en el Agua Peptonada alcalina es utilizado para el aislamiento de *Vibrio cholerae* y otras especies a partir de muestras fecales. En este medio el extracto de levadura y las peptonas proporcionan la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos.

El citrato de sodio, el tiosulfato de sodio y la bilis actúan como agentes inhibidores de microorganismos Gram positivos y coliformes dando alcalinidad al medio. La sacarosa es el carbohidrato fermentable. El cloruro de sodio promueve el crecimiento. El tiosulfato de sodio es la fuente de sulfuro y el citrato de hierro es un indicador para detectar la producción de H_2S . El azul de timol y de bromotimol actúan como indicadores de pH. El agar bacteriológico es agregado como agente solidificante. (MacFadding, J.D. 1985)

3.12 Agar Tripticasa soya (TSA)

Es un medio utilizado para propósitos generales que favorece el desarrollo y el aislamiento de una gran variedad de microorganismos aerobios por medio de la forma frobisher, anaerobios facultativos y estrictos. Se prepara según las recomendaciones del fabricante. Se autoclave 15 minutos a 121°

3.13 Interpretación y control de calidad de Medios de cultivo

Medio	Cepa control	Reacción esperada	Incubación
TCBC	<i>V.cholerae</i>	Colonia amarilla (sacarosa +)	Atmósfera normal 18-24 hrs. 35°C
	<i>V.parahaemolyticus</i>	Colonia verde (sacarosa -)	
	<i>E.coli</i>	Sin desarrollo	
Agar sangre	<i>S.pyogenes</i>	Crece (β hemólisis)	Atmósfera normal 18-24 hrs. 35°C
	<i>S.pneumoniae</i>	Crece (α hemólisis)	
	<i>Vibrio spp.</i>	Crece	
Agar TSA	<i>S.aureus</i>	Crece	Atmósfera normal 18-24 hrs. 35°C
	<i>N.gonorrhoeae</i>	No crece	
	<i>Vibrio</i>	Crece	
Agua peptonada alcalina	<i>V.parahaemolyticus</i>	Crece al subcultivo	Atmósfera normal 4-6 hrs. 35°C
	<i>E.coli</i>	Inhibición parcial en subcultivo	

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar durante 18 - 24 h en atmósfera aerobia a 35 - 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>V. cholerae</i> NCTC 8021 o ATCC 9459	Crecimiento de regular a excelente; zonas amarillas alrededor de las colonias
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Crecimiento de regular a excelente; colonias de color de verde a verde azulado; medio prácticamente sin cambios
<i>V. alginolyticus</i> ATCC 17749	Crecimiento de regular a excelente; zonas amarillas alrededor de las colonias
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición de parcial a completa; colonias pequeñas de color amarillo
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Inhibición de parcial a completa; colonias pequeñas y translúcidas
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibición de parcial a completa; colonias de color azul
Sin inocular	Color verde a azul verdoso

Las tablas representan los tipos de medios más utilizados para la identificación de Vibrios y otras bacterias patógenas para el camarón y el humano de los cuales el agar o medio Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS) y el Agar Tripticasa Soya (TSA) son los que utilizamos en la investigación en la segunda tabla nos indica que tipo de bacterias se desarrolla más en agar TCBS dado por la fermentación de sacarosa.

3.14 Bioquímica bacteriana api 20 E

Es muy utilizado para la identificación de vibrios por medio de placas que está conformada por diferentes celdas y cada una de estas contiene 2 nitrato fenil D-galacto (ONPG), L-arginina (ADH), L-lisina (LDC), L-ornitina (ODC), citrato trisódico (CIT), Urea (UREA), C-triptófano (TDA), etc.

Cada uno de estos reactivos tiene un color y de acuerdo a esta coloración se da la nomenclatura de positivo (+) y negativo (-) y esta se apunta en talonarios de papel con la forma del api 20 E este es muy utilizado por las empresas camaroneras pero solo se puede ingresar por medio de claves que se compran a BIOMERIEUX empresa creadora de este programa. (Imagen 2 anexo) (perso.wanadoo.es citado 2013)

3.15 Método Rafter para conteo e identificación de algas.

Este método consiste en la cuantificación e identificación de algas por medio de cámara de Rafter que esta tiene forma de porta objeto utilizado en laboratorio con la diferencia que este está dividido en campos de los cuales se selecciona a la forma que más le parece conveniente haciendo uso del microscopio, para hacer el conteo y la identificación de algas se mezcla el agua con lugol para fijarlas se espera por 20 min y se coloca un ml en la cámara Rafter y se ubica en el microscopio y se procede a la lectura.

IV MATERIALES Y METODO

4.1 Descripción del sitio de la práctica.

El experimento se realizo en la finca y camaronera “El Faro” ubicada en el municipio de El Triunfo a 46.5 Km, de la ciudad de Choluteca la temperatura varía entre los 25y 38 °C, con un promedio de 32.5 °C y una precipitación de 1600 mm por año, la investigación, tendrá una duración de 3 meses aproximadamente donde se comienza desde el mes de julio y culmina en el mes de septiembre que abarca invierno y verano.

4.2 Materiales y Equipo.

- Bolsas estériles
- Pipetas de 1000ml
- Puntas estériles
- Tubos de ensayo de 15 ml
- Placas Petri
- Agar TCBS
- Incubadora
- Auto-clave
- Alcohol al 70%
- Algodón
- Estufa de laboratorio
- Agua Peptonada Buferada
- Microscopio
- Api 20 E
- Aza

- Aceite
- Lugol
- Agar TSA al 2% y 3%

4.3 Manejo del experimento.

Las unidades experimentales consisten en lagunas artificiales con un área de 800 m² con una profundidad promedio de 1.5m y 1.7m de las cuales se obtendrán las muestras de agua y camarón que serán tomadas los días martes y jueves para ser llevadas al laboratorio.

4.3.1 Descripción de las unidades experimentales.

La empresa eligió 8 lagunas ya que son de interés para ellos porque son las que se encuentran a las orillas y al centro de la finca ya que se piensa que hay mas retención de agua, que prácticamente abarca toda la finca de cada laguna se tomaran 8 muestra de agua 1 del canal que abastece dicha laguna y 8 de camarón vivo de 25gr cada uno.

4.3.2 Recolección y toma de muestras en campo.

1. Se prepararan bolsas estériles de 240 ml para el agua de laguna.
2. Una vez que se toman las muestras de agua, serrar las bolsas de manera segura para que la muestra no se derrame durante el transporté al laboratorio.
3. Las muestras deben transportarse en una hielera con suficiente hielo para detener el proceso de crecimiento de otras bacterias hasta que se llegue al laboratorio.

4.3.3 Procesos realizados en el laboratorio se realizara los siguientes procedimientos.

1. En el laboratorio colocar 1 tubo de ensayo por cada muestra, agitar la muestra de la bolsa y esterilizar con alcohol al 70%, antes de abrir la bolsa.
2. Colocar 1 ml de la muestra principal en la placa TCBS agar y realizar una dilución 1×10^5 Ml en un tubo de ensayo que contiene 9 ml de Agua Peptona Buferada y colocar 1 ml de la dilución en placa TCBS Agar.
3. La muestra de camarón, se deberá tomar una muestra del hepatopáncreas y sembrar de manera directa en la placa de TCBS Agar.
4. Incubar las placas en incubadora a 37 °C durante 24 horas.
5. Si a las 24 Horas no se observa crecimiento de deberán dejar las placas en incubación 24 horas más.
6. Leer los resultados contando las colonias de color amarillas y las verdes de manera separada, considerando así la carga bacteriana existente en cada muestra.
7. Hacer aislamientos de colonias en agar TSA por medio del método Frobisher (imagen anexo 3) de las muestras de las lagunas V4, B10, B0.

8. Del aislamiento de TSA se toma un poco y se coloca en frascos de solución salina al 0.85% y se deposita en las capsulas del api 20 E.
9. Hacer lectura por medio del programa en línea api.
10. Hacer lectura de agua del canal para identificar algas por medio del método de Rafter.
11. Reportar los resultados que se dieron para hacer el análisis y determinar resultados.

4.4 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño de cuadro de variable predictivo con 3 Ensayos y 8 repeticiones para un total de 24 unidades experimentales.

Este diseño se utiliza ya que analiza el fenómeno en un corto tiempo, es repetible, caracteriza la frecuencia o distribución de la perfectamente del ensayo.

4.5 Descripción del ensayo.

Las 8 lagunas a analizar cada una de estas tienen su propia identificación tal como B0, B1, B2, B3, B9, B10, V3, V4. Estas lagunas no van a variar durante la investigación. (Imagen 1 de anexos).

Ensayo 1

Se utilizó 8 muestras de agua de la lagunas antes mencionadas que el agua será recolectada en bolsas estériles de 450 ml cada una se colectaran dos veces por semana (martes y jueves) estas muestras serán introducidas en hieleras para ser transportadas al laboratorio para ser analizada.

Ensayo 2.

Se utilizó 1 muestra por canal de cada entrada de las lagunas para hacer un total de 8 muestras que serán recolectadas en botellas de refrescos portátiles personales de igual manera se recolectaran dos veces por semana (martes y jueves) estas muestras serán introducidas en hieleras para ser transportadas al laboratorio para ser analizada.

Ensayo 3.

Se utilizó 8 muestras de camarón que serán recolectadas en bolsas plásticas y cada una de estas contendrá 6 camarones vivos y de igual manera serán recolectados dos veces por semana (martes y jueves) estas muestras serán introducidas en hieleras para ser transportadas al laboratorio para ser analizada.

Descripción	
E1	8 Muestras de agua de las laguna (2 veces por semana)
E2	1 Muestra de agua del canal (2 veces por semana)
E3	8 muestras de camarón con un peso promedio de 25gr (2 veces por semana)

4.6 Variables a evaluar.

4.6.1 Cantidad de colonias verdes (-) y amarillas (+) de bacterias.

Por medio de la cuantificación de colonias de colores verdes (-) y amarillas (+) en unidades formadoras de colonias (UFC/g) el conteo se realizara de forma visual en las cajas o placas Petri, este conteo será dos veces por semana, la siembra se hará en agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), para luego ser resembrados en agar Tripticasa Soya (TSA).

4.6.2 conteo e identificación de algas.

Que se realizó por medio del método Rafter con una cámara en forma de porta objetos utilizada en laboratorios dividida en 9 campos que se hace de igual manera de forma observacional por medio del microscopio esta lectura se hará los días martes y jueves que son los días en que se traen las muestras.

Formula que se utilizó para dicho conteo:

$$\text{Formula: Tipo de alga} = \frac{\text{cantidad encontradas} \times N^0 \text{ de campos utilizados}}{100\%} =$$

4.6.3 tipos de bacterias.

Se realizara por medio del programa api E 20 dado que este identifica si hay o no bacterias que tipo de bacterias y si es o no problema para los Humanos estas muestras serán sacadas de los aislamientos en TSA de 3 lagunas V4, B10, B0 esta lectura se hará los viernes y lunes. (Imagen 2 anexos)

La ventaja de este diseño es que se toman en cuenta los ceros y se agrega al cuadro como contables en el caso de incontables es el mismo valor de cien pero se toma como incontable para realizar y llevar a cabo la fórmula del diseño y ver qué tipo de unidades formadoras de colonias (UFC) predomina y ver la diferencia entre las bacterias de Hepatopáncreas y bacterias de agua tanto amarillas como verdes de ambas.

Entre las dos fórmulas del diseño de cuadro de variable predictivo se ve notoriamente que las colonias tanto verdes como amarillas de Hepatopáncreas tienen el valor mayor que las colonias verdes y amarillas de agua esto se debe a que el (HP) es contenido más concentrado que el agua ya que el HP es como un filtro donde se contienen o retiene mucho más bacterias que en el caso del agua que están más en movimiento.

El diseño usado fue elegido por la empresa para determinar lo anterior dicho y determinar cuál de los dos tipos de métodos da a conocer mayor concentración de bacterias y hacer uso de mejores métodos de control para evitar problemas que tengan que ver con estos microorganismos que perjudican la producción y calidad del camarón cultivado en este caso camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).

4.6.4 Forma de leer el api E20

La batería de pruebas API20E es un sistema de identificación rápida para bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y otras bacterias Gram -. Básicamente consta de 21 tests bioquímicos estandarizados y miniaturizados, y una base de datos. Este sistema presenta las ventajas de ser rápido, eficaz y de permitir realizar numerosas pruebas a la vez. Cada tira de API 20E contiene 20 microtubos o pocillos con distintos sustratos deshidratados. Cada tubo es una prueba bioquímica distinta. La prueba número 21, la oxidasa, se hace de forma independiente a la tira.

Prueba	Reacción / Enzimas
ONPG	Beta-galactosidasa
ADH	Arginina deshidrolasa
LDC	Lisina descarboxilasa
ODC	Ornitina descarboxilasa
CIT	Utilización del citrato
H₂S	Producción de H ₂ S
URE	Ureasa
TDA	Triptófano desaminasa
IND	Producción de indol
VP	Producción de acetoina (Voges-Proskauer)
GEL	Gelatinasa
GLU	Fermentación/oxidación de glucosa
MAN	Fermentación/oxidación de manitol
INO	Fermentación/oxidación de inositol
SOR	Fermentación/oxidación de sorbitol
RHA	Fermentación/oxidación de ramnosa
SAC	Fermentación/oxidación de sacarosa
MEL	Fermentación/oxidación de melobiosa
AMY	Fermentación/oxidación de amigdalina
ARA	Fermentación/oxidación de arabinosa
OX	Citocromo oxidasa

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuadros que se presentan tales como (1,2,3,4) se dieron resultados de colonias verdes(-) y amarillas(+), en las fechas que van desde julio hasta septiembre donde el último mes se comparó en cada uno de los cuadros por la época lluvia que según estudios realizados, las bacterias de *Vibrio* principal mente necesitan una concentración de sal de 3 a 8 ppm para desarrollarse por lo tanto en épocas de lluvia se verá reducido el crecimiento por la baja concentración de sal.

En el cuadro (1) se representa las unidades formadoras de colonias (UFC) de hepatopáncreas (HP) el cual se obtiene de las heces del animal, de igual manera se representan los parámetros tales como, cantidad de lluvia, los niveles de salinidad que se miden por medio de un salinometro ya que la lluvia como la salinidad juegan un papel importante en la reproducción de colonias tanto de algas como de bacterias.

Cuadro 1. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias Amarillas en hepatopáncreas.

Comparaciones y fechas de unidades formadoras de colonias (UFC) Amarillas de Hepatopáncreas									
Uso de cal en los meses de muestreo	Lluvia cms	Julio 6 cms				Agosto 0 cms			Septiembre 11 cms
	oxigeno	5.3	2.7	5.0	4.7	4.6	3.5	3.3	3.4
	temperatura	30.8	30.3	29.6	30.2	30.4	29.7	30.8	29.5
	Salinidad	27	27	28	28	28	29	29	20
	Lagunas	16/07/13	23/07/13	28/07/13	30/07/13	01/08/13	06/08/13	08/08/13	10/09/13
	2,500 lbs	B0	100	0	18	0	14	100	0
	2,200 lbs	B1	100	0	0	0	25	0	0
5,800 lbs	B2	90	100	0	24	0	16	23	0
5,150 lbs	B3	100	0	7	0	0	0	1	12
7,350 lbs	B9	100	12	0	1	13	0	19	1
7,350 lbs	B10	100	0	0	100	0	0	0	0
1,650 lbs	V3	100	6	100	0	0	3	0	0
1,150 lbs	V4	6	100	100	5	100	2	31	0

Las colonias amarillas en Agar TCBS no tienen muy buen desarrollo dado que no son fermentadores de sacarosa como en el caso de las colonias verdes que si lo hacen, ver tablas (3.13).

La laguna B0 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas están entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio y 6 de agosto que tuvieron rangos mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B1 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas están entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio que tuvo un rango mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B2 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas están entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio y 23 de julio que tuvieron rangos mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B3 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas están entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio que tuvo un rango mayor de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B9 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas están entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio que tuvo un rango mayor de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B10 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio y 30 de julio que tuvieron rangos mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna V3 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 16 de julio y 28 de julio que tuvieron rangos mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna V4 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menor de 50 (UFC) con excepción de las fechas 23 de julio, 28 de julio y 1 de agosto que tuvieron rangos mayores de 50 (UFC) para un rango de serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

Cuadro 2. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias Verdes en hepatopáncreas

Comparaciones y fechas de unidades formadoras de colonias (UFC) Verdes de Hepatopáncreas									
Uso de cal en los meses de muestreo	Lluvia Cms	Julio 6 cms				Agosto 0 cms			Septie 11 cms
	Oxigeno	5.3	2.7	5.0	4.7	4.6	3.5	3.3	3.4
	temperatura	30.8	30.3	29.6	30.2	30.4	29.7	30.8	29.5
	Salinidad	27	27	28	28	28	29	29	20
	Lagunas	16/07/13	23/07/13	28/07/13	30/07/13	01/08/13	06/08/13	08/08/13	10/09/13
2,500 lbs	B0	77	100	100	100	100	100	100	100
2,200 lbs	B1	0	100	100	100	47	100	100	19
5,800 lbs	B2	7	100	100	100	100	18	2	23
5,150 lbs	B3	0	100	42	100	100	100	100	7
7,350 lbs	B9	43	100	100	7	100	100	100	21
7,350 lbs	B10	0	100	100	4	100	100	12	100
1,650 lbs	V3	0	0	28	100	100	12	100	41
1,150 lbs	V4	100	0	100	1	100	100	100	100

Las colonias verdes en Agar TCBS tienen muy buen desarrollo dado que son fermentadores de sacarosa caso contrario de las colonias amarillas no lo hacen, ver tablas (3.13).

La laguna B0 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B1 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 1 de agosto y 19 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B1 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 1 de agosto y 10 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B2 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 6 de agosto, 8 de agosto y 10 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B3 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 28 de julio y 10 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B9 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 30 de julio y 10 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B10 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 30 de julio y 12 de agosto que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna V3 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 16 de julio, 23 de julio, 28 de julio, 6 de agosto y 10 de septiembre que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna V4 presenta (UFC) no aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango mayores de 50 (UFC) para un rango estipulado como serio muy grave a excepción de las fechas 23 de julio, 30 de julio y que dieron resultados menores de 50 (UFC) para un rango aceptable de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

De igual manera las colonias de unidades formadoras de colonias (UFC) de hepatopáncreas fueron mayores que las del agua dado que el hepatopáncreas sirve de filtro para el animal y por ello es que se retiene más microorganismo en ese lugar de donde se sacaron las muestras.

Muchas fechas no tienen valores representativos como en el caso que dan menores que 50 (UFC) dado que en esas lagunas se hacían prácticas de control para algas haciendo uso de cal que no solo controla algas si no bacterias presentes en las lagunas.

Otro factor que se dio para no tener valores semejante o cercanos entre fechas es que el agua de las laguna está en constante movimiento y esto tuvo que ver mucho ya que las colonias de bacterias estaban en constante crecimiento.

Cuadro 3. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias verdes en aguas

Comparaciones y fechas de unidades formadoras de colonias (UFC) verdes de agua										
Lluvia Cms		Julio 6 cms				Agosto 0 cms			Septiembre 11 cms	
Oxígeno		5.3	2.7	5.0	4.7	4.6	3.5	3.3	3.4	5.0
Temperatura		30.8	30.3	29.6	30.2	30.4	29.7	30.8	29.5	29.0
Salinidad		27	27	28	28	28	29	29	20	17
Uso de cal	Lagunas	16/07/13	23/07/13	28/07/13	30/07/13	01/08/13	06/08/13	08/08/13	10/09/13	12/09/13
2,500 lbs	B0	1	3	100	4	27	52	3	1	3
2,200 lbs	B1	11	14	100	9	100	26	5	8	5
5,800 lbs	B2	1	17	100	38	16	37	8	18	3
5,150 lbs	B3	45	14	100	35	22	40	9	12	1
7,350 lbs	B9	4	5	49	30	100	29	30	20	16
7,350 lbs	B10	19	5	68	37	16	8	25	0	1
1,650 lbs	V3	6	1	100	6	42	7	15	0	3
1,150 lbs	V4	2	12	100	22	12	19	18	4	6

Las colonias amarillas en Agar (TCBS) no tienen buen desarrollo dado que no son fermentadores de sacarosa caso contrario de las colonias verdes que si lo hacen de la mejor manera, ver tablas (3.13).

La laguna B0 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fechas 28 de julio, 6 de agosto que dieron resultados mayores de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B1 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fechas 28 de julio, 1 de agosto que dieron resultados mayores de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B2 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fechas 28 de julio que resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B3 presenta (UFC) aceptable dado que en su totalidad las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fechas 28 de julio que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B9 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fecha 1 de agosto que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna B10 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fecha 28 de julio, que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna V3 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fecha 28 de julio, que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

La laguna V4 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fecha 28 de julio, que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra, y que las colonias verdes fermentan la sacarosa como anteriormente se dijo.

Cuadro 4. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias amarillas en aguas

Comparaciones y fechas de unidades formadoras de colonias (UFC) Amarillas de Agua										
Lluvia cms		Julio 6 cms				Agosto 0 cms			Septiembre 11 cms	
Oxígeno		5.3	2.7	5.0	4.7	4.6	3.5	3.3	3.4	5.0
temperatura		30.8	30.3	29.5	30.2	30.4	29.7	30.8	29.5	29.0
Salinidad		27	27	28	28	28	29	29	20	17
Uso de cal	Lagunas	16/07/13	23/07/13	28/07/13	30/07/13	01/08/13	06/08/13	08/08/13	10/09/13	12/09/13
2,500 lbs	B0	2	0	0	2	0	5	0	4	4
2,200 lbs	B1	16	6	0	20	0	30	7	8	2
5,800 lbs	B2	9	0	0	5	11	11	45	13	0
5,150 lbs	B3	2	0	0	10	13	11	7	27	3
7,350 lbs	B9	0	30	12	3	100	29	10	11	5
7,350 lbs	B10	13	3	14	1	2	3	25	24	3
1,650 lbs	V3	7	5	0	2	8	1	5	10	1
1,150 lbs	V4	18	5	38	0	12	20	11	9	8

Las colonias amarillas en Agar TCBS no tienen muy buen desarrollo dado que no son fermentadores de sacarosa como en el caso de las colonias verdes que si lo hacen, ver tablas (3.13).

La laguna B0 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna B1 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna B2 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna B3 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna B9 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal a excepción de las fecha 1 de agosto, que dio un resultado mayor de 50 (UFC) para un rango serio muy grave de acuerdo con la tabla (3.8), a estas lagunas pueda ser que los factores ambientales le favorecieron para desarrollarse en ese momento de recolectar la muestra.

La laguna B10 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna V3 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

La laguna V4 presenta (UFC) aceptable dado que la mayoría de las fechas estan entre el rango menores de 50 (UFC) para un rango estipulado normal, de acuerdo con la tabla (3.8), a esta laguna notoria mente la formación de colonias de bacterias fue menor.

Tanto el hepatopáncreas como el agua se dieron los mismos resultados en cuanto a las (UFC) verdes y amarillas pero no tienen nada que ver con la metodología de extraer las muestras por lo tanto no tienen similitud, ni se comparan entre los dos, en el caso del agua las colonias se ven menos concentradas dado que las bacterias se encuentran más dispersas por que sencillamente no están concentradas como en el caso del hepatopáncreas.

En el caso de los factores que les perjudican son el mismo, dado que la lluvia como anteriormente se dijo reduce las concentraciones que necesitan las bacterias para desarrollarse, otro factor es la cal, y el movimiento constante del agua que favorece al menor desarrollo de las bacterias.

Cuadro 5. De variable predictivo de colonias amarillas y verdes de hepatopáncreas.

Tipo de colonias	Características de colonias		
	Contables	Incontables o (mayores de 100%)	
Colonias amarillas	68 _(a)	38 _(b)	106 _(a+b)
Colonias verdes	43 _(c)	14 _(d)	57 _(c+d)
	111 _(a+c)	52 _(b+d)	(a+b)+(c+d) (a+c)+(b+d) 163

Significado de las letras en el cuadro:

a = colonias contables amarillas.

b = colonias incontables amarillas.

c = colonias contables verdes.

d = colonias incontables verdes.

a+b = colonias contables amarillas + colonias incontables amarillas.

c+d = colonias contables verdes + colonias incontables verdes.

a+c = colonias contables amarillas + colonias contables verdes.

b+d = colonias incontables amarillas + colonias incontables verdes

Cuadro 6. De variable predictivo de colonias de verdes y amarillas en agua.

Tipo de colonias	Características de colonias		
	Contables	Incontables o (mayores de 100%)	
Colonias amarillas	64 _(a)	8 _(b)	72 _(a+b)
Colonias verdes	71 _(c)	1 _(d)	72 _(c+d)
	135 _(a+c)	9 _(b+d)	(a+b)+(c+d) (a+c)+(b+d) 144

Significado de las letras en el cuadro:

a = colonias contables amarillas.

b = colonias incontables amarillas.

c = colonias contables verdes.

d = colonias incontables verdes.

a+b = colonias contables amarillas + colonias incontables amarillas.

c+d = colonias contables verdes + colonias incontables verdes.

a+c = colonias contables amarillas + colonias contables verdes.

b+d = colonias incontables amarillas + colonias incontables verdes.

Cuadro 7. Cuantificación e identificación de algas.

Uso de cal en los meses de muestreo	Conteo de Algas								
	Canal	24/07/13	26/07/13	31/07/13	02/08/13	07/08/13	09/08/13	11/09/13	13/09/13
2,500 lbs	B0	Diatomeas 1/5	Cianofitas 68/5	Cianofitas 46/5	Cianofitas 15/5	Diatomeas 39/5 Cianofitas 3/5	Cianofitas 37/5 Diatomeas 29/5	Diatomeas 19/5	Diatomeas 30/5 Cianofitas 13/5
2,200 lbs	B1	Cianofitas 70/5	Diatomeas 13/5 Cianofitas 45/5	0/5	Cianofitas 95/5	Diatomea 1/5 Cianofitas 5/5	0/5	Cianofitas 22/5	Cianofitas 71/5 Diatomeas 12/5
5,800 lbs	B2	Cianofitas 3/5	Cianofitas 8/5 Diatomeas 28/5	0/5	Cianofitas 44/5	0/5	0/5	Cianofitas 35/5	Diatomeas 17/5 Cianofitas 42/5
5,150 lbs	B3	0/5	0/5	0/5	Cianofitas 18/5	Cianifitas 1/5	Cianofitas 48/5 Diatomeas 23/5	0/5	0/5
7,350 lbs	B9	0/5	Diatomeas 12/5	0/5	Cianofitas 5/5	0/5	Diatomeas 29/5	Cianofitas 16/5	Cianofitas 40/5 Diatomeas 27/5
7,350 lbs	B10	0/5	0/5	0/5	Cianofitas 11/5	Diatomeas 25/5 Cianofitas 3/5	Cianofitas 27/5 Diatomeas 27/5	Cianofitas 10/5	Diatomeas 30/5
1,650 lbs	V3	Cianofitas 34/5 Diatomeas 5/5	Cianofitas 89/5	Cianofitas 16/5	0/5	Diatomeas 50/5 Cianifitas 5/5	Diatomeas 32/5	Cianofitas 67/5	0/5
1,150 lbs	V4	0/5	0/5	Cianofitas 2/5	Cianofitas 6/5	0/5	Diatomeas 12/5	Diatomeas 23/5	0/5

En el siguiente cuadro se especifica el tipo de algas que se encontró en cada muestra y su respectiva fecha que nos dice el día en que fue recolectada la muestras.

Como se puede observar los números resultaron bajos y otros en cero no es que no se encuentran en los canales de las respectivas lagunas lo que sucedió que el agua no es agua que se retiene si no que está en constante movimiento por lo tanto a cada momento hay formaciones de colonias nuevas.

Como también están en constante, en cuanto al uso de cal para controlar los problemas de bacterias y de algas, entonces no da lugar a una gran propagación de algas o una masiva colonización de estas.

5.6 Formula para determinar número de algas.

$$\begin{array}{rcl} \text{Tipo de alga= Cianofitas 1020 celu X 170 campos (34 muestras)} & & \\ \hline & & = 1,734 \text{ celu/ml} \\ & 100\% & \end{array}$$

$$\begin{array}{rcl} \text{Tipo de alga= Diatomeas 484 celu X 105 campos (34 muestras)} & & \\ \hline & & = 508 \text{ celu/ml} \\ & 100\% & \end{array}$$

Se utilizó la fórmula para saber cuál de los dos tipos de algas encontradas fue mayor, como se ve en los resultados las algas cianofitas se encuentran más en el agua de cada laguna estudiada lagunas.

Los resultados observados en las formulas son de los tipo de algas, se contabilizo cada una de las fechas en las que se encuentran estas, de igual manera se contabilizo los campos de cada muestra de alga sumada y se sumaron que cada fecha contiene uno o dos tipos de algas y cada una dividida entre los 5 campos que se utilizaron para contabilizar por medio del meto Rafter.

5.7 Interpretación

La lectura de los resultados se lleva a cabo por comparación de los colores de cada pocillo con los de las tablas de lectura, y anotando el resultado como positivo o negativo (más adelante se explicará con detalle).

Prueba	Reacción / Enzimas	Negativo	Positivo
ONPG	Beta-galactosidasa	sin color	amarillo
ADH	Arginina deshidrolasa	amarillo	rojo o naranja
LDC	Lisina descarboxilasa	amarillo	rojo o naranja
ODC	Ornitina descarboxilasa	amarillo	rojo o naranja
CIT	Utilización del citrato	verde	azul oscuro o turquesa
H ₂ S	Producción de H ₂ S	sin precipitado negro	precipitado negro
URE	Ureasa	amarillo	rojo o naranja
TDA	Triptófano desaminasa	amarillo	marrón-rojo
IND	Producción de indol	amarillo	color rosa o anillo rosa-rojo
VP	Producción de acetoina (Voges-Proskauer)	sin color	rosa-rojo
GEL	Gelatinasa	sin difusión	difusión de pigmento
GLU	Fermentación/oxidación de glucosa	azul o verde	amarillo
MAN	Fermentación/oxidación de manitol	azul o verde	amarillo
INO	Fermentación/oxidación de inositol	azul o verde	amarillo
SOR	Fermentación/oxidación de sorbitol	azul o verde	amarillo
RHA	Fermentación/oxidación de ramnosa	azul o verde	amarillo
SAC	Fermentación/oxidación de sacarosa	azul o verde	amarillo
MEL	Fermentación/oxidación de melobiosa	azul o verde	amarillo
AMY	Fermentación/oxidación de amigdalina	azul o verde	amarillo
ARA	Fermentación/oxidación de arabinosa	azul o verde	amarillo
OX	Citocromo oxidasa		

Del conjunto de reacciones y resultados se obtiene un perfil numérico de 7 cifras. Los pocillos están separados en grupos de tres: en total tenemos 7 grupos de tres tubos o tripletes (el test número 21 corresponde al test de la oxidasa).

Para obtener el perfil numérico de 7 cifras, a cada pocillo se le dará el valor 0, 1, 2 ó 4, de acuerdo a los siguientes criterios:

Si la reacción es negativa se pone 0.

Si la reacción es positiva se pone: 1 si es el primer pocillo de un triplete, 2 si es el segundo, 4 si es el tercero.

Se suman los valores de cada triplete, con las sumas de los siete tripletes se obtiene un código de 7 cifras, ver anexo

Con este código se busca en la tabla de identificación la especie de que se trata, para realizar esta operación hay programas informáticos.

Perfiles numéricos.	
0104140	<i>Shigella flexneri</i>
0104452	<i>Salmonella paratyphi A</i>
0104504	<i>Pasteurella multocida</i>
0104521	<i>Yersinia enterocolitica</i>
0140004	<i>Pasteurella multocida</i>
0144042	<i>Shigella boydii</i>
0206042	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
0210004	<i>Achromobacter sp.</i>
0210004	<i>Alcaligenes faecalis</i>
0210004	<i>Alcaligenes sp.</i>
0314000	<i>Proteus mirabilis</i>
0504512	<i>Salmonella paratyphi A</i>
0676001	<i>Proteus vulgaris</i>
0776000	<i>Proteus mirabilis</i>
1000004	<i>Pasteurella sp.</i>
1014743	<i>Klebsiella ozaenae</i>
1104112	<i>Shigella sonnei</i>
1214012	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
1214773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2206004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2504752	<i>Salmonella spp.</i>
3005573	<i>Enterobacter cloacae</i>
3246527	<i>Aeromonas hydrophilia</i>
4004550	<i>Salmonella choleraesuis</i>
4004550	<i>Salmonella typhi</i>
4104100	<i>Salmonella gallinarum</i>

Esto solo es una parte de los códigos ya que se encuentran muchos más códigos para la identificación de bacterias en el api 20E, las pruebas en contra lo que nos especifica es que de acuerdo al número de reactivos que se den positivos o negativos a si se dará la puntuación y de acuerdo al porcentaje (%) que esté presente nos indica que probabilidad hay que se esa bacteria determinada, si la galería no muestra pruebas en contra nos indica que si es dicha bacteria ver resultados de la investigación en anexos 7.6, a 7.11 (Microdominguez 2013)

VI Conclusiones

El estudio de algas y bacterias son de suma importancia para la canaricultura dado que de esta depende en gran parte de una buena cosecha ya que si no se tiene un control en cuantos a estas tendremos pérdidas considerables.

La prueba bioquímica api 20E es de suma importancia para la identificación de bacterias y que es una práctica rápida de hacer y da los resultados rápidamente y no es difícil de utilizar, el método Rafter de igual manera es de suma importancia en la investigación ya que por medio de este se dio la cuantificación e identificación de algas.

En cuanto a los resultados se obtuvieron valores de 100 a 0 esto por los factores esperados como precipitación, salinidad, usó de cal en lagunas artificiales los resultados se vieron notoriamente en las 8 lagunas estudiadas.

VII Recomendaciones

Para realizar un estudio de esta categoría se debió a ver tenido un estudio ya hecho para hacer comparaciones ya que a lo largo de la investigación se tuvieron algunas dudas que al final fueron aclaradas.

El uso de cal en lagunas es importante pero este puede tener consecuencias por que no se sabe lo residual que es el los suelos de las lagunas o en el agua de las lagunas y este como es un sistema de constante movimiento en algunas se concentra más y puede traer problemas por contaminación en los suelos.

Remover el suelo cada fin de ciclo para evitar que la cal sedimentada este de forma residual en el suelo de las lagunas y evitar que los removidos regresen a las lagunas por lluvia.

El programa api 20E es de suma importancia en la empresa para identificar tipos de bacterias pero muchas veces tendía a fallar a la hora de leer los resultados por lo tanto seria de suma importancia darle mantenimiento a ese programa y actualizarlo en todo momento que se pueda.

VIII BIBLIOGRAFÍA

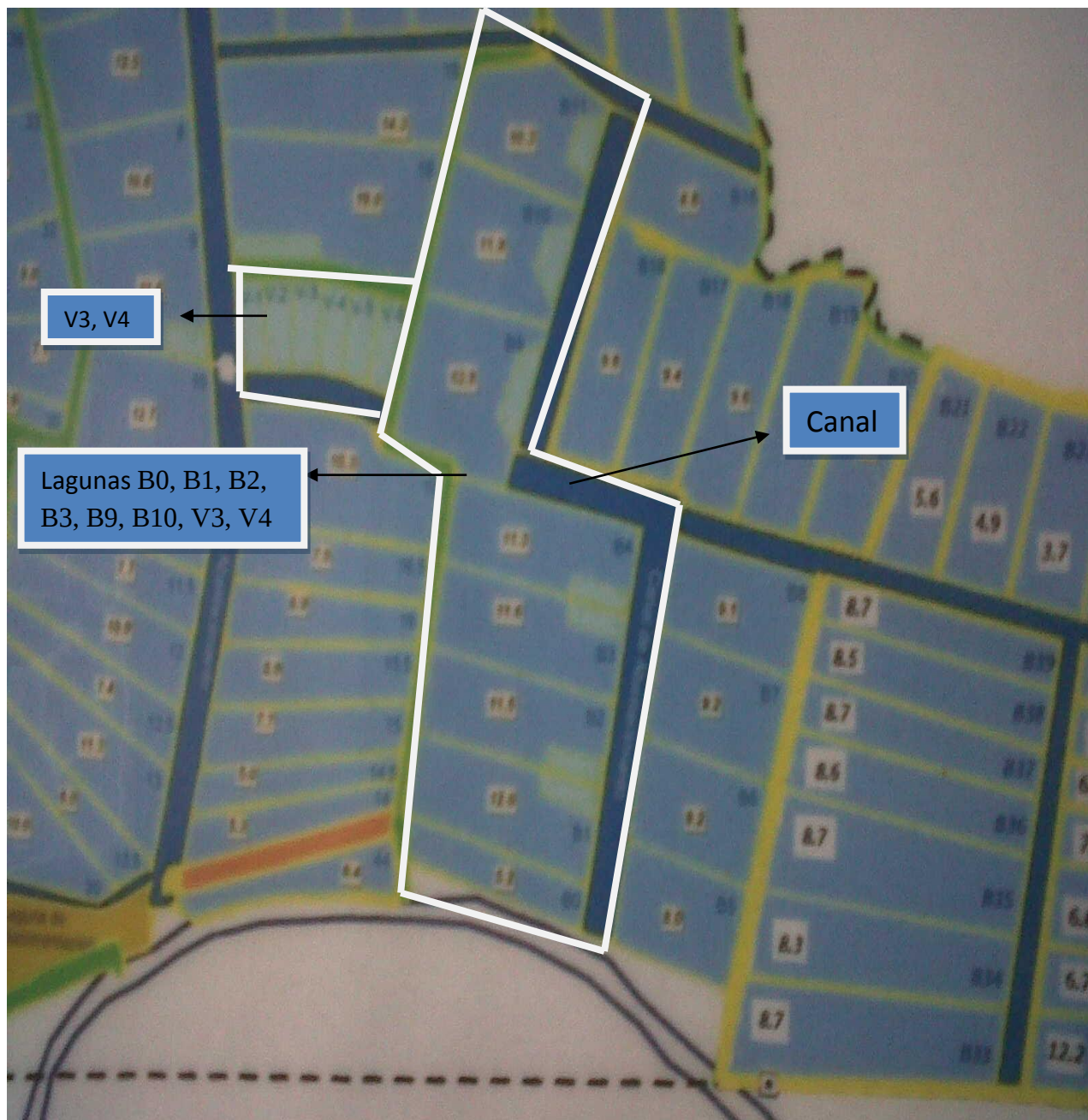
- Boyd, C.; Daniels, H. 1989. Strategies and Tactics for management of fertilized Hatchery Ponds.
- Boyd, C. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture, citado Julio del 2013.
- Carmen E. Suarez Gómez, Cuantificación y caracterización molecular de bacterias de hemolinfa de camarón, enero del 2008, Bogotá DC
- Carlos A. Ching, mal sabor en el camarón de cultivo, edición abril-junio del 2006.
- Fabrizio Marcillo Morla. 1995 fertilización y encalado en piscinas camaroneras, 4 edición, volumen 9.
- C.B. Farinango, N.S. Rodriguez, M.G. Sandoval, F.Burgos, caracterización de bacterias presente en suelos de piscinas de camarón, facultad de ingeniería marítima y ciencias del mar, Guayaquil Ecuador.
- Cook C.I. and H.C. Clifford. Aquaculture Magazine. Fertilization of shrimp ponds and nursery tanks. Volumen 4 – ejemplar 02.
- Lacto Bac. Concentración de Vibrio y otros patógenos. Disponible en info@escualem.com.

- <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/API.htm> citado 2013
- <http://perso.wanadoo.es/microdominguez/API.htm>

IX ANEXO

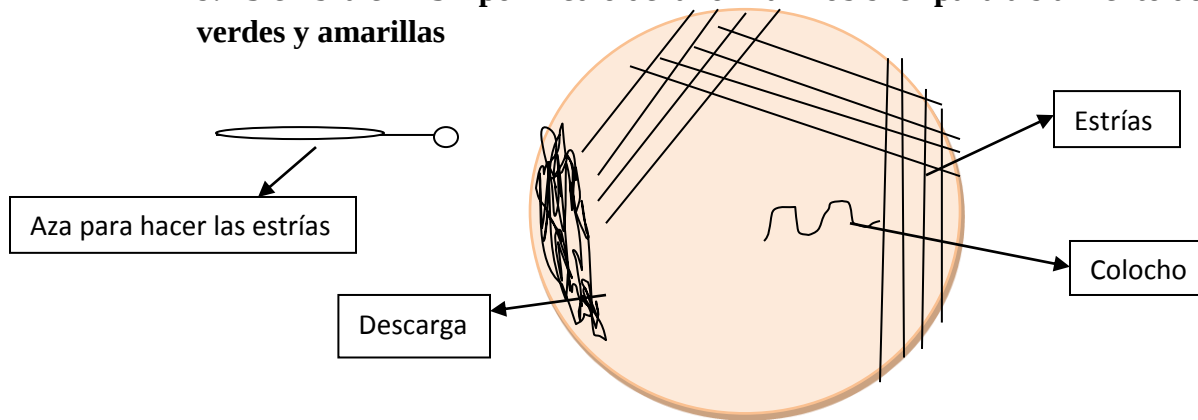
IX ANEXOS

9.1 Croquis de lagunas



En la presente imagen se muestran las lagunas utilizadas en la investigación que fueron seleccionadas por la empresa que van desde la B0, B1, B2, B3, B9, B10, V3, V4 con una profundidad de 1.5 a 1.7 en promedio y de unos 800 m² aproximadamente.

9.2 Siembra en TSA por medio de la forma Frobisher para aislamiento de colonias verdes y amarillas



9.3 Imagen de tabla para valorar o darle la valoración al api E20

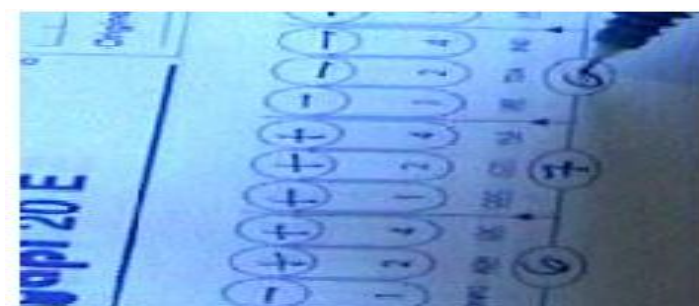
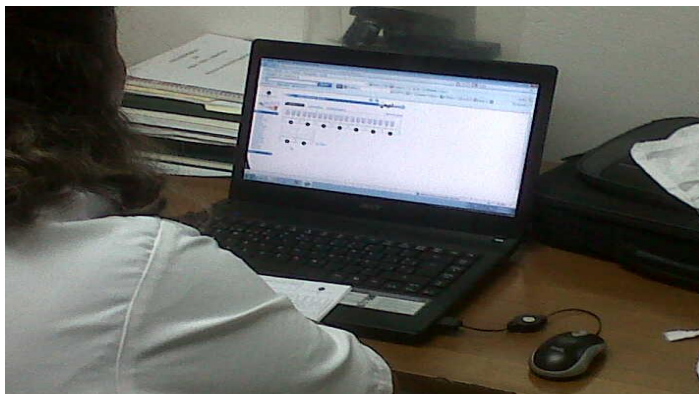
TABLA DE LECTURA DE API 20E

Test	Componente activo	Resultado	
		Negativo	Positivo
ONPG	2 nitro fenil D-galacto	Incoloro	Amarillo
ADH	L-arginina	Amarillo	Rosado/Amarillo
LDC	L-lisina	Amarillo	Rosado/Amarillo
ODC	L-ornitina	Amarillo	Rosado/Amarillo
CIT	citrato trisodico	Verde pálido/amarillo	Azul-Verde/Azul
H2S	Tiosulfato Sodico	Incoloro/Grisáceo	Deposito negro/rojo blanqueado
UREA	Urea	Amarillo	Rosado/Amarillo
TDA	L-triptofano	Amarillo	Rosado/Amarillo
IND	L-triptofano	Incoloro/verde pálido/amarillo	Rosado/Amarillo
VP	Piruvato Sodico	Incoloro/rosa pálido	Rosado/Amarillo
GEL	Gelatina	No difuso	Amorfo/pigmento negro
GLU	D-glucosa	Azul/rojo/verde	amarillo/amarillo grisáceo
MAN	D-manitol	Azul/rojo/verde	Amarillo
INO	D-inositol	Azul/rojo/verde	Amarillo
SOR	D-sorbitol	Azul/rojo/verde	Amarillo
RHA	L-ramnosá	Azul/rojo/verde	Amarillo
SAC	D-sacarosa	Azul/rojo/verde	Amarillo
MEL	D-melibiosa	Azul/rojo/verde	Amarillo
AMY	amigdalina	Azul/rojo/verde	Amarillo
ARA	L-arabinosa	Azul/rojo/verde	Amarillo

9.4 Talonario de valoración de api E20



9.5 Como se ingresan los datos al programa



9.6 Primera semana resultados de api E20




API 20 E V4.1
[Impresora](#)
[Exportar](#)
[Nuevo test](#)
[Modificar](#)

REFERENCIA
 Finca El Faro, B.O

FECHA
 18/07/13

COMENTARIO
 Muestra # 4 Hepatopancrea Siembra en TSA Al 2%

API

- API 10S
- API 20 A
- API 20 C AUX
- API 20 E
- API 20 NE
- API 20 STREP
- API 50 CHB
- API 50 CHE
- API 50 CHL
- API CAMPY
- API CANDIDA
- API CORYNE
- API LISTERIA
- API NH
- API STAPH
- RAPID 20 E

ID32

BAJA DISCRIMINACION

Galería API 20 E V4.1
Perfil 5 0 4 2 1 2 5
Nota POSIBILIDAD DE *Vibrio fluvialis*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra									
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	51.5	0.41	ADH	90%	LDC	25%	GLU	99%	ARA	75%		
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 2	27.2	0.34	ADH	97%	CIT	80%	VP	80%	GLU	97%		
<i>Vibrio vulnificus</i>	14.0	0.24	ODC	90%	GLU	99%	SAC	1%				
<i>Vibrio cholerae</i>	6.7	0.2	ODC	97%	CIT	75%	GLU	98%	AMY	5%		

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra									
<i>Vibrio fluvialis</i>	0.2	0.02	ADH	99%	LDC	0%	GLU	75%	ARA	75%		

Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g	O/129 R	CELac	GLUCOSA _{as}
<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	38%	+
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	-	20%	NT
<i>Aeromonas sobria</i>	+	+	v	+
<i>Vibrio cholerae</i>	0%	-	0%	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	0%	-	100%	-



API

API 10S
 API 20 A
 API 20 C AUX
 API 20 E
 API 20 NE
 API 20 STREP
 API 50 CHB
 API 50 CHE
 API 50 CHL
 API CAMPY
 API CANDIDA
 API CORYNE
 API LISTERIA
 API NH
 API STAPH
 RAPID 20 E

ID32

API 20 E V4.1

[Impresora](#)
[Exportar](#)
[Nuevo test](#)
[Modificar](#)

REFERENCIA

Finca El Faro, B,0

FECHA

19/07/13

COMENTARIO

Muestra # 4 Hepatopancrea Siembra en TSA Al 2%

BAJA DISCRIMINACION

Galería

API 20 E V4.1

Perfil

5 0 4 2 1 2 5

Nota

POSIBILIDAD DE Vibrio fluvialis

Taxón significativo

% ID

T

Pruebas en contra

Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1

51.5

0.41

ADH 90% LDC 25% GLU 99% ARA 75%

Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 2

27.2

0.34

ADH 97% CIT 80% VP 80% GLU 97%

Vibrio vulnificus

14.0

0.24

ODC 90% GLU 99% SAC 1%

Vibrio cholerae

6.7

0.2

ODC 97% CIT 75% GLU 98% AMY 5%

Taxón siguiente

% ID

T

Pruebas en contra

Vibrio fluvialis

0.2

0.02

ADH 99% LDC 0% GLU 75% ARA 75%

Pruebas complementarias(s)

GLUCOSA_g

O/129 R

CELac

GLUCOSA_{as}

Aeromonas caviae

-

+

+

+

Aeromonas hydrophila

+

+

38%

+

Vibrio fluvialis

0%

-

20%

NT

Aeromonas sobria

+

+

v

+

Vibrio cholerae

0%

-

0%

+

Vibrio vulnificus

0%

-

100%

-



API 20 E V4.1

[Impresora](#)
[Exportar](#)
[Nuevo test](#)
[Modificar](#)

REFERENCIA

Finca El Faro, V4

FECHA

19/07/13

COMENTARIO

Muestra #8 Hepatopancrea Siembra en TSA Al 3%.

API

API 10S

API 20 A

API 20 C AUX

API 20 E

API 20 NE

API 20 STREP

API 50 CHB

API 50 CHE

API 50 CHL

API CAMPY

API CANDIDA

API CORYNE

API LISTERIA

API NH

API STAPH

RAPID 20 E

PERFIL INACEPTABLE

Galería

API 20 E V4.1

Perfil

1 1 6 6 1 0 6

Nota

POSIBILIDAD DE Vibrio fluvialis

ID32

Taxón significativo

% ID T

Pruebas en contra

Vibrio mimicus

LDC 99% TDA 0% ARA 0%

Vibrio vulnificus

LDC 91% TDA 0% AMY 90% ARA 0%

Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1

ADH 90% ODC 1% TDA 0% SAC 97%

AMY 75%

Vibrio parahaemolyticus

ONPG 0% LDC 100% TDA 0%

Vibrio fluvialis

ADH 99% ODC 0% TDA 0% SAC 75%

9.7 Segunda semana



JAIME SORIANO - GETAFE



API

API 20 E V4.1

[Impresora](#)
[Exportar](#)
[Nuevo test](#)
[Modificar](#)

REFERENCIA

HEPATOPANCREAS

FECHA

27/07/13

COMENTARIO

EL FARO-B0-230713, SIEMBRA EN TSA AL 3%

API

[API 10S](#)
[API 20 A](#)
[API 20 C AUX](#)
[API 20 E](#)
[API 20 NE](#)
[API 20 STREP](#)
[API 50 CHB](#)
[API 50 CHE](#)
[API 50 CHL](#)
[API CAMPY](#)
[API CANDIDA](#)
[API CORYNE](#)
[API LISTERIA](#)
[API NH](#)
[API STAPH](#)
[RAPID 20 E](#)

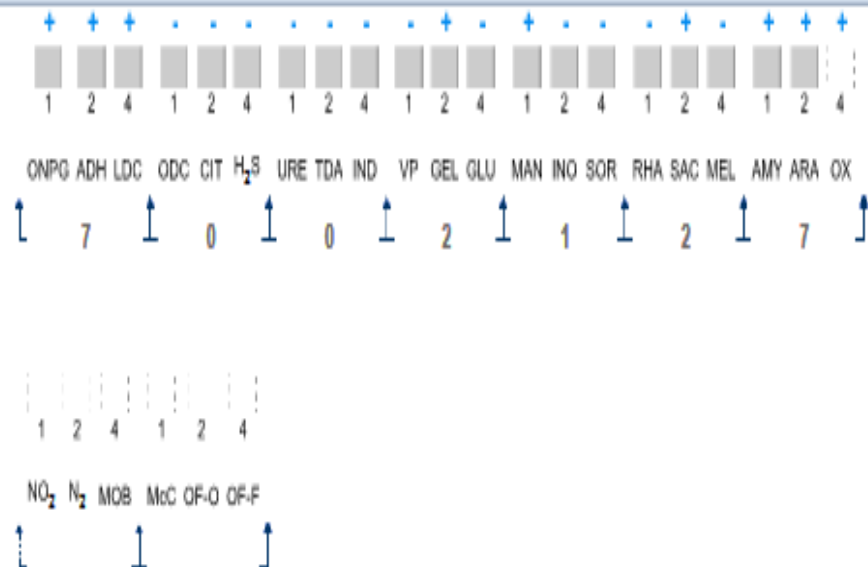
ID32

PERFIL DUDOSO

Galería	API 20 E V4.1
Perfil	4 1 0 6 1 0 6
Nota	

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Vibrio parahaemolyticus	99.8	0.67	IND 100%			

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra					
Burkholderia cepacia	0.1	0.27	LDC 25%	ODC 16%	CIT 78%	MAN 1%		
			ARA 20%					



REFERENCIA
Hepatopancreas

FECHA
27/07/13

COMENTARIO
EL FARO-V4-230713, SIEMBRA EN TSA 2%

✓ BUENA IDENTIFICACION

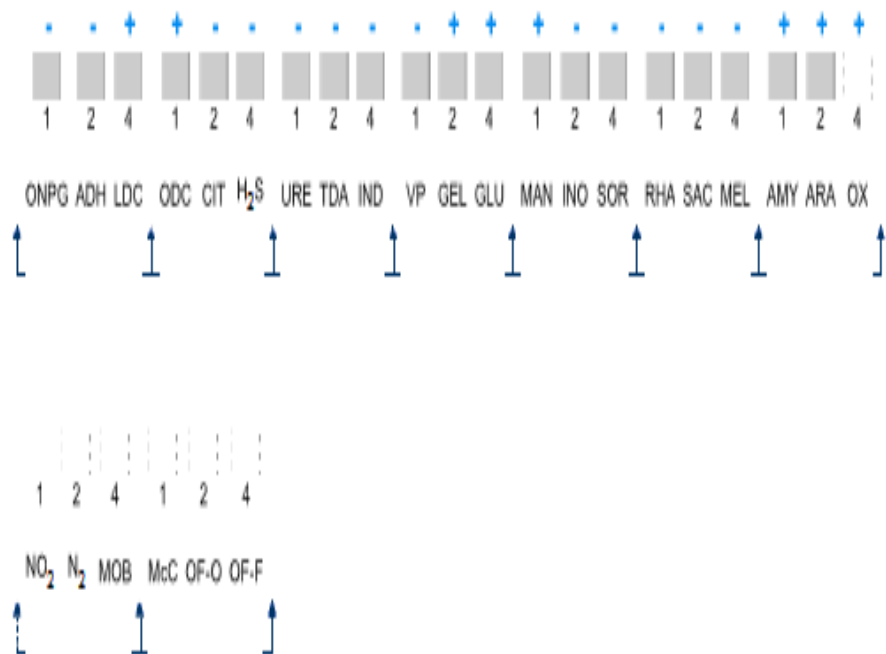
Galeria
Perfil
Nota

API 20 E V4.1
7 0 0 2 1 2 7
POSIBILIDAD DE *Vibrio fluvialis*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	94.0	0.52	LDC 25% IND 85% GLU 99%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Vibrio fluvialis</i>	3.2	0.28	LDC 0% IND 80% GLU 75%

Pruebas complementarias(a)	GLUCOSA _g	ESC (HYD.)	O/129 R	RM/MR
<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	86%
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	NT	-	NT
<i>Aeromonas sobria</i>	+	-	+	-



REFERENCIA
AGUA

FECHA
27/07/13

COMENTARIO
EL FARO-B10, 230713, SIEMBRA EN TSA AL 3%

PERFIL DUDOSO

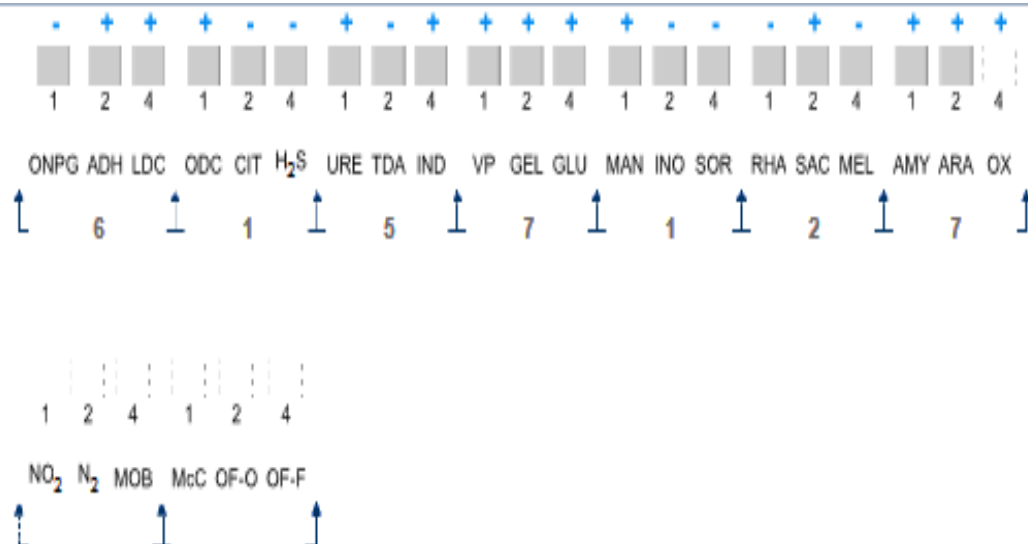
Galería
Perfil
Nota

API 20 E V4.1
4108107

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Vibrio parahaemolyticus	99.8	0.52	IND 100% AMY 12%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Vibrio vulnificus	0.1	0.0	ONPG 99% IND 99% ARA 0%

9.8 Tercera semana



REFERENCIA
BO, HP

FECHA
5/08/13

COMENTARIO
BO, HEPATOPANCREAS-8082013 AL 2%

PERFIL INACEPTABLE

Galería
Perfil
Nota

API 20 E V4.1
6157127
POSIBILIDAD DE *Vibrio fluvialis*

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	98%		ONPG 98% LDC 25% ODC 1% URE 0% VP 25%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 2	99%		ONPG 99% ODC 1% CIT 80% URE 0% ARA 5%

REFERENCIA	FECHA																																																																																					
V4,HP	5/08/13																																																																																					
COMENTARIO																																																																																						
V4 HEPATOPANCREAS TSA 2%02082013																																																																																						
 PERFIL DUDOSO																																																																																						
Galería	API 20 E V4.1																																																																																					
Perfil	5 3 4 6 1 2 7																																																																																					
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Vibrio fluvialis</i>																																																																																					
<table><tr><th>Taxón significativo</th><th>% ID</th><th>T</th><th colspan="8">Pruebas en contra</th></tr><tr><td><i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1</td><td>57.8</td><td>0.36</td><td>ADH</td><td>90%</td><td>LDC</td><td>25%</td><td>ODC</td><td>1%</td><td>CIT</td><td>25%</td></tr><tr><td><i>Vibrio cholerae</i></td><td>33.3</td><td>0.27</td><td>AMY</td><td>5%</td><td>ARA</td><td>0%</td><td colspan="4"></td></tr></table><table><tr><th>Taxón siguiente</th><th>% ID</th><th>T</th><th colspan="8">Pruebas en contra</th></tr><tr><td><i>Vibrio vulnificus</i></td><td>4.0</td><td>0.1</td><td>CIT</td><td>25%</td><td>SAC</td><td>1%</td><td>ARA</td><td>0%</td><td colspan="2"></td></tr></table><table><tr><th>Pruebas complementarias(s)</th><th>GLUCOSA_g</th><th>O/129 R</th><th>ESC (HYD.)</th><th>CELac</th></tr><tr><td><i>Aeromonas caviae</i></td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td><i>Aeromonas hydrophila</i></td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>38%</td></tr><tr><td><i>Vibrio fluvialis</i></td><td>0%</td><td>-</td><td>NT</td><td>20%</td></tr><tr><td><i>Aeromonas sobria</i></td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>v</td></tr><tr><td><i>Vibrio cholerae</i></td><td>0%</td><td>-</td><td>NT</td><td>0%</td></tr></table>		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra								<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	57.8	0.36	ADH	90%	LDC	25%	ODC	1%	CIT	25%	<i>Vibrio cholerae</i>	33.3	0.27	AMY	5%	ARA	0%					Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra								<i>Vibrio vulnificus</i>	4.0	0.1	CIT	25%	SAC	1%	ARA	0%			Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g	O/129 R	ESC (HYD.)	CELac	<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	38%	<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	-	NT	20%	<i>Aeromonas sobria</i>	+	+	-	v	<i>Vibrio cholerae</i>	0%	-	NT	0%
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																																																																			
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	57.8	0.36	ADH	90%	LDC	25%	ODC	1%	CIT	25%																																																																												
<i>Vibrio cholerae</i>	33.3	0.27	AMY	5%	ARA	0%																																																																																
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra																																																																																			
<i>Vibrio vulnificus</i>	4.0	0.1	CIT	25%	SAC	1%	ARA	0%																																																																														
Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g	O/129 R	ESC (HYD.)	CELac																																																																																		
<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+																																																																																		
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	38%																																																																																		
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	-	NT	20%																																																																																		
<i>Aeromonas sobria</i>	+	+	-	v																																																																																		
<i>Vibrio cholerae</i>	0%	-	NT	0%																																																																																		

REFERENCIA	FECHA									
V4,HP	5/08/13									
COMENTARIO										
V4 HEPATO PANCREAS,3%8082013										
PERFIL DUDOSO										
Galería	API 20 E V4.1									
Perfil	5 3 4 6 1 2 7									
Nota	POSIBILIDAD DE Vibrio fluvialis									
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra							
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	57.8	0.36	ADH	90%	LDC	25%	ODC	1%	CIT	25%
Vibrio cholerae	33.3	0.27	AMY	5%	ARA	0%				
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra							
Vibrio vulnificus	4.0	0.1	CIT	25%	SAC	1%	ARA	0%		
Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g		O/129 R		ESC (HYD.)		CEL _{lac}			
Aeromonas caviae	-		+		+		+			
Aeromonas hydrophila	+		+		+		38%			
Vibrio fluvialis	0%		-		NT		20%			
Aeromonas sobria	+		+		-		V			
Vibrio cholerae	0%		-		NT		0%			

9.9 Cuarta semana

REFERENCIA FECHA

V4,HP 6/08/13

COMENTARIO

V4, HP Siembra en TSA al 3%

 MUY BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO

Galería API 20 E V4.1

Perfil 4 1 4 6 1 2 7

Nota

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Vibrio parahaemolyticus	52.2	0.53	SAC	1%	AMY	12%
Vibrio alginolyticus	47.3	0.49	AMY	10%	ARA	1%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra							
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	0.4	0.19	ONPG	98%	ADH	90%	LDC	25%	ODC	1%

Pruebas complementarias(s)	CELac
Vibrio alginolyticus	100%
Vibrio parahaemolyticus	0%

REFERENCIA FECHA

BO, HP 6/08/13

COMENTARIO

BO, HP siembra en TSA al 2%

BAJA DISCRIMINACION

Galería API 20 E V4.1

Perfil 0 0 4 0 0 0 4

Nota

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra
Grimontia hollisae	83.2	1.0	
Pasteurella multocida 1	12.6	0.92	SAC 75%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra
Chryseobacterium meningosepticum	1.7	0.76	ONPG 77% GEL 90%

Pruebas complementarias(s)	MAC CONKEY	OF/O	OF/F	XILOSAac
Grimontia hollisae	98%	98%	98%	0%
Pasteurella multocida	2%	23%	23%	61%

9. 10 Quinta semana

REFERENCIA FECHA

laguna B10	14/09/13
------------	----------

COMENTARIO

HP. TSA 2%

Galería

API 20 E V4.1

Perfil

4 0 0 2 0 0 4

Nota

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Burkholderia cepacia	60.8	0.78	LDC25%	CIT78%		
Aeromonas salmonicida ssp salmonicida	19.0	0.63	LDC 1%			
Stenotrophomonas maltophilia	14.2	0.54	CIT 75%	OX 1%		

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Myroides spp/Chryseobacterium indologenes	2.3	0.42	LDC0%	URE75%		

Pruebas complementarias(s)	OF/F	DNAsa	XILOSAac	MOT
Aeromonas salmonicida ssp salmonicida	98%	2%	2%	2%
Burkholderia cepacia	0%	2%	+	98%
Stenotrophomonas maltophilia	0%	98%	-	100%

9.11 Sexta semana

REFERENCIA	FECHA
laguna B10	17/09/13
COMENTARIO	
H2O TSA 3%	

BAJA DISCRIMINACION

Galería	API 20 E V4.1
Perfil	5 0 4 2 1 2 5
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Vibrio fluvialis</i>

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	51.5	0.41	ADH90%	LDC25%	GLU99%	ARA75%
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 2	27.2	0.34	ADH97%	CIT 80%	VP 80%	GLU97%
<i>Vibrio vulnificus</i>	14.0	0.24	ODC90%	GLU99%	SAC 1%	
<i>Vibrio cholerae</i>	6.7	0.2	ODC97%	CIT 75%	GLU98%	AMY 5%

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
<i>Vibrio fluvialis</i>	0.2	0.02	ADH99%	LDC 0%	GLU75%	ARA75%

Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g	O/129 R	CELac	GLUCOSA _{as}
<i>Aeromonas caviae</i>	-	+	+	+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	38%	+
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%	-	20%	NT
<i>Aeromonas sobria</i>	+	+	v	+
<i>Vibrio cholerae</i>	0%	-	0%	+
<i>Vibrio vulnificus</i>	0%	-	100%	-