



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN CIENCIAS MANEJO SUSTENTABLE
DE BIORRECURSOS Y MEDIO AMBIENTE**

**Tesis de Grado para la obtención del Título de Magíster en Ciencias:
Manejo Sustentable de Biorrecursos y Medio Ambiente.**

**INCIDENCIA DEL FLORECIMIENTO DE LA
MICROALGA CYANOPHYTA *Chroococcus*
turgidus SOBRE LOS PARÁMETROS DE
CRECIMIENTO EN JUVENILES DE *Litopenaeus*
vannamei EN CULTIVOS ACUÍCOLAS**

BLGO. RICARDO MANTILLA DÍAZ

GUAYAQUIL – ECUADOR

2015

**CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE
SUSTENTACIÓN**

DR. LUIS MUÑÍZ VIDARTE MSc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

DRA. GLADYS RODRÍGUEZ BOWEN MSc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DRA. DIALHYS COELLO SALAZAR Mgs.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DR. LUIS MUÑÍZ VIDARTE MSc.

DIRECTOR DE MAESTRÍA

DRA. CARMITA BONIFAZ DE ELAO MSc.

DECANA

CERTIFICACIÓN

Certifico que la tesis “Incidencia del florecimineto de la Microalga Cyanophyta *Chroococcus turgidus* sobre los parámetros de crecimiento de *Litopenaeus vannamei* en cultivos acuícolas” fue realizada en su totalidad por el autor **Biol. Ricardo Mantilla Díaz** y revisada por la suscrita **M.Sc. Matilde Velasco Mayor**.

MSc. Matilde Velasco Mayor
Directora de Tesis

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis hijos Alexander y Andrei, a mi hermana Soraya y a toda mi familia, con el propósito de que esta investigación se constituya en un referente de superación para todos ellos.

A la memoria de mi esposa, madre, abuela y hermano, que Dios los tenga en su gloria

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a la M.Sc. Matilde Velasco Mayor tutora de la tesis, por el apoyo incondicional y sus valiosos conocimientos para que se lleve a cabo este estudio.

Mi agradecimiento también al M.Sc. Irán Rodríguez, M.Sc. Jorge Córdova, Biol. Manuel Bajaña, Sr. Alex Santillán, que de una u otra forma contribuyeron en el desarrollo de esta tesis.

No temas, porque yo estoy contigo, no desmayes, porque yo soy tú Dios
Que te esfuerzo, siempre te ayudaré, siempre te sustentaré con la diestra de mi
justicia. Isaías 41:10

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA	I
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	II
CERTIFICACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS CIANOBACTERIAS	1
1.2. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE ESTUDIADA	3
1.3. FLORECIMIENTOS ALGALES NOCIVOS (FAN)	5
1.4. OBJETIVOS.....	9
1.4.1. <i>General</i>	9
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i>	9
1.5. HIPÓTESIS.....	10
1.6. ÁREA DE ESTUDIO	10
2. REVISIÓN DE LITERATURA	12
2.1. ROL DEL FITOPLANCTON EN PISCINAS CAMARONERAS:	12
2.1.1. <i>Generalidades sobre el fitoplancton</i>	12
2.1.2. <i>Los nutrientes y su efecto sobre la composición fitoplanctónica: ..</i>	13
2.1.3. <i>Los efectos positivos de la presencia del fitoplancton:</i>	14
2.1.4. <i>Problemas asociados con el fitoplancton</i>	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 FASE DE CAMPO.....	17
3.2 FASE DE LABORATORIO	18
3.2.1 <i>Aislamiento y cultivo de cianobacterias:</i>	18
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	21
4. RESULTADOS.....	28
4.1 VARIABLE TALLA	30
4.2 VARIABLE PESO	32
4.3 VARIABLE PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA	34

4.4 PARÁMETROS FÍSICO –QUÍMICO DEL AGUA.....	40
4.5 PARÁMETROS BIOLÓGICOS	47
5. DISCUSIÓN	49
5.1. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE LA CIANOBACTERIA	49
5.2. BIOENSAYO DE LA PROLIFERACIÓN ALGAL	49
5.2.1 <i>¿Por qué escoger la División Cyanophyta para este estudio?</i>	49
5.2.2 <i>Actividad de los organismos</i>	50
5.2.3 <i>Parámetros físicos, químicos y bacteriológicos</i>	51
6. CONCLUSIONES.....	54
7.- RECOMENDACIONES	55
8. ABREVIATURAS UTILIZADAS.....	56
9. BIBLIOGRAFÍA.....	57
10. GLOSARIO	66
ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Chroococcus turgidus</i> .	4
Tabla 2. Preparación del Medio Guillard F/2 (1968)	20
Tabla 3. Producción diaria de la microalga <i>Chroococcus turgidus</i>	20
Tabla 4. Resultados de la prueba de bondad de ajuste para verificar el supuesto de distribución de los datos obtenidos por grupo de edades de los camarones.	29
Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas por medio del test de Levene para talla, peso y porcentaje de supervivencia.	30
Tabla 6. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente talla de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.	30
Tabla 7. Resultados de las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.	31
Tabla 8. Prueba de Kruskal-Wallis de la variable peso de los camarones.	32
Tabla 9. Pruebas post hoc. Subconjuntos homogéneos.	33
Tabla 10. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente peso de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.	33
Tabla 11. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para la variable dependiente porcentaje de supervivencia.	34
Tabla 12. Resultados de la prueba paramétrica de Tukey para la variable porcentaje de supervivencia.	35
Tabla 13. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente porcentaje de supervivencia de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.	35
Tabla 14. Resultados de ANOVA de un factor para las variables dependientes talla, peso y supervivencia.	36
Tabla 15. Resultados de comparaciones múltiples de variables	

dependientes y tratamientos. Comparaciones múltiples HSD de Tukey.	37
Tabla 16. Porcentaje de Mortalidad en acuarios con densidades de algas < a 500.000 cel/ml.	39
Tabla 17. Porcentaje de Mortalidad en acuarios con densidades de algas > 500 000 cel/ml.	39
Tabla 18. Porcentaje de Mortalidad en acuarios testigos.	40
Tabla 19. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para oxígeno disuelto am.	41
Tabla 20. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para oxígeno disuelto pm.	42
Tabla 21. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para temperatura am.	43
Tabla 22. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para temperatura pm.	45
Tabla 23. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para pH am.	45
Tabla 24. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para pH pm.	46
Tabla 25. Resultados de los análisis de amonio tóxico expresados en ppm.	47
Tabla 26. Resultados de Análisis de Histopatología.	48
Tabla 27. Programa de trabajo diario en sala de Acuarios y Fitoplancton.	68
Tabla 28. Parámetros físicos, químicos y biológicos, Acuario 4.	70
Tabla 29. Tratamientos del Acuario 1	71
Tabla 30. Tratamientos del Acuario 8.	73
Tabla 31. Coordenadas Geográficas UTM de la camaronera.	75
Tabla 32. Distribución de los acuarios.	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista general de la microalga <i>Chroococcus turgidus</i>	4
Figura 2. Sector del campamento camaronero	10
Figura 3. Posición del Campamento camaronero	11
Figura 4. Arrastre superficial para obtener la muestra de fitoplancton	17
Figura 5. Técnica de diluciones seriadas.	19
Figura 6. Acuarios de Bioensayos con diferentes concentraciones de microalgas	22
Figura 7. Patrón de conteo para la cámara de Neubauer.	23
Figura 8. Gráfico de perfil que muestra las medias de la variable talla promedio de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.	32
Figura 9. Gráfico de perfil que muestra las medias de la variable peso promedio de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.	34
Figura 10. Gráfico de perfil de las medias de la variable porcentaje de supervivencia de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.	38
Figura 11. Mediana de los valores de oxígeno de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.	41
Figura 12. Mediana de los valores de oxígeno de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde.	42
Figura 13. Mediana de los valores de temperatura de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.	43
Figura 14. Mediana de los valores de temperatura de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde	44
Figura 15. Mediana de los valores de pH de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.	45
Figura 16. Mediana de los valores de pH de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde.	46
Figura 17. Caliper digital.	69

Figura 18. Cultivo de <i>Chroococcus turgidus</i> para alimentar a los juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	77
Figura 19. Contaje de la Cionophyta en el laboratorio.	77
Figura 20. Mantenimiento de fitoplancton en el laboratorio.	78
Figura 21. Fiolas con luz natural indirecta para el cultivo de <i>Chroococcus turgidus</i> .	78
Figura 22. Piscina 34-B, donde fueron pescados los juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	79
Figura 23. Pesca de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> para bioensayos.	79
Figura 24. Control de bioensayos en laboratorio	80
Figura 25. Cultivo primario de de <i>Chroococcus turgidus</i> en el laboratorio.	80
Figura 26. Determinación de parámetros físicos en el laboratorio.	81
Figura 27. Acuario con tratamiento (Bloom de algas) y acuario control sin tratamiento.	81
Figura 28. Diseño experimental	82
Figura 29. Acuario control sin tratamiento	82

RESUMEN

Se estudió el efecto que tiene el florecimiento de la microalga *Chroococcus turgidus* sobre el crecimiento, peso y sobrevivencia de *Litopenaeus vannamei* en cultivos acuícolas. Se realizaron bioensayos en laboratorio creando proliferaciones de la microalga *Chroococcus turgidus*. El diseño experimental consistió en el empleo de 20 acuarios de 8 litros a 60% de capacidad a los cuales se agregaron 3 camarones juveniles con peso promedio de 1 gramo durante 30 días con iluminación tenue y aireación continua. El tratamiento consistió en mantener densidades de la microalga menores a 500.000 cel/ml. (tratamiento 1), mayores a 500.000 cel/ml (tratamiento 2). y los testigos (tratamiento 3). Los acuarios fueron divididos en tres grupos de edades, el grupo 1 que incluía a los camarones de 1 hasta 13 días, el grupo 2, incluye organismos de 14 hasta 23 días y el grupo 3 que incluye a los camarones de 24 hasta 30 días. El agua fue tratada con 20 ppm de Hipoclorito de Calcio. La salinidad 20 ppm y la temperatura promedio de 28 grados centígrados. El recambio de agua fue de 80% realizado diariamente mediante sifoneo, Se controlaron diariamente los parámetros bióticos y abióticos del cultivo. El alimento de tipo comercial, 3 pellets por acuario, fue proporcionado cada mañana y noche de acuerdo a su consumo. Para determinar si existe efecto de interacción entre los niveles del factor concentraciones de microalgas y los grupos de edades se realizó un ANOVA de 2 vías y la prueba del modelo lineal general univariante, para lo cual se utilizó el modelo factorial completo y se obtuvieron los gráficos de perfil que permitieron interpretar el comportamiento de las variables dependientes evaluadas. Los análisis estadísticos indican que no existen diferencias significativas en la supervivencia entre el tratamiento 1 (< ½ millón de células /ml) y los acuarios testigos (chi cuadrado, $p > 0,05$); mientras que si existen diferencias significativas entre el tratamiento 2 (> ½ millón de células/ml) y los acuarios testigos (chi cuadrado, $p < 0,05$). . En cuanto al incremento en peso y talla no se evidenciaron diferencias significativas de los camarones tratados con distintas densidades dentro de cada grupo de edad.

Palabras claves: Bloom, *Chroococcus turgidus*, Crecimiento, Incidencia, Microalga.

ABSTRACT

The effect of the flowering of microalgae *Chroococcus turgidus* on growth, weight and survival of *Litopenaeus vannamei* in fish farming was studied. Were performed in laboratory bioassays creating the microalgae blooms *Chroococcus turgidus*. The experimental design consisted of the use of 20 aquariums 8 liters at 60% of capacity which 3 juvenile shrimp were added with an average weight of 1 gram for 30 days with dim lighting and continuous aeration. The treatment consisted of holding the lower densities microalga 500,000 cells/ml. (Treatment 1), greater than 500,000 cells/ml (treatment 2) and witnesses (treatment 3). The aquariums were divided into three age groups, group 1 that included shrimp 1-13 days, the group 2 includes agencies 14-23 days and group 3 which includes shrimp 24-30 days. The water was treated with 20 ppm of calcium hypochlorite. Salinity 20 ppm and the average temperature of 28 degrees Celsius. Water exchange was 80% done daily by siphoning, biotic and abiotic cultivation parameters were monitored daily. Commercial food, 3 pellets per aquarium, was provided every morning and night according to consumption. To determine whether there is an interaction effect between the levels of concentration factor of microalgae and age groups ANOVA 2-way was conducted and the test of general linear model univariate, for which the full factorial model was used and obtained the graphics profile that allowed interpret the behavior of the dependent variables evaluated. The statistical analysis showed no significant differences in survival between treatment 1 ($1/2$ million cells / ml) and aquariums controls (chi square, $p > 0.05$); while if there are significant differences between treatment 2 (> $1/2$ million cells / ml) and aquariums controls (chi square, $p < 0.05$). Regarding the increase in weight and height were no significant differences in shrimp treated with different densities within each age group were evidenced.

Keywords: Bloom, microalgae, *Chroococcus turgidus*, growth, impact.

1. INTRODUCCIÓN

Características generales de las cianobacterias

Las cianobacterias, representan las especies más antiguas de este planeta, al ser encontradas en estromatolitos que datan de 3 mil millones de años (Schopf y Walter 1982) y son consideradas organismos responsables de la acumulación de oxígeno en la atmósfera de la tierra (Harlin y Darley 1988). Están adaptadas a casi todos los ambientes del mundo, desde agua dulce, salobre, marina y terrestre (Lucena 2008) y dado que la única limitante para su crecimiento es la humedad, pueden vivir en varios ambientes bajo condiciones extremas como en las aguas de fuentes minerales, hipersalinos, ventilas hidrotermales, géisers, en lagos antárticos con temperaturas aproximadas de 0°C y, aunque su diversidad y abundancia es mayor en medios alcalinos, se han encontrado especies en lugares con un pH de 4.0 (Bold y Wynne 1985; Dawes 1991; Ransom *et al.*, 1994; Kaebernick y Neilan 2001; Lucena 2008) y formando relaciones simbióticas y comensales con un gran número de organismos (Prescott 1968).

Comprenden aproximadamente 150 géneros y cerca de 2000 especies (Fott 1971; Rippka *et al.*, 1979; Carmichael 1992), de la cuales, al menos 40 son conocidas por ser toxigénicas (Skulberg *et al.*, 1993). Han sido incluidas desde el punto de vista botánico en la división Cyanophyta por la presencia de clorofila a y por lo tanto del fotosistema II, que les confiere una fisiología similar a las algas y plantas vasculares, criterio que ha sido usado para considerarlas como microalgas, denominándolas algas azul-verdes (Castenholtz y Waterbury 1989; Marshall 1991). Pueden crecer en condiciones no óptimas para el fitoplancton en general, gracias a su adaptabilidad a intensidades de luz bajas o extremadamente altas (Bonilla y Aubriot 2009). Se distinguen arbitrariamente tres categorías de acuerdo a su talla:

picofitoplancton (0,2 - 2 μm)

nanofitoplancton (2 - 20 μm)

microfitoplancton (20 - 200 μm)

En todas estas categorías hay representantes de las cianobacterias que pueden formar floraciones.

No obstante, su morfología celular es procariota, por lo cual hay Ficólogos que las empiezan a denominar cianoprocariontas, son organismos aeróbios, heterótrofos facultativos, fotoautótrofos, unicelulares, coloniales y filamentosos, terrestres, planctónicos y béticos (Marshall 1991; Golubic y Knoll; Roset *et al.*, 2001). Fijan dióxido de carbono con producción de oxígeno y presentan ambos fotosistemas (PSII Y PSI) conectados en serie. Al poseer una organización celular sencilla, todas sus actividades metabólicas se realizan dentro del citoplasma, el cual está rodeado por una unidad de membrana y una pared celular compuesta por polipéptidoglucanos. Son células Gram negativas, su ADN es una molécula única con un cromosoma circular unido a la membrana plasmática. Carecen de sistema sexual, de tal manera que su reproducción es por división celular (fisión binaria), seguida por la duplicación del ADN y a lo largo de la membrana plasmática (Golubic y Knoll 1993).

Las cianobacterias además de su característico color verde- azul pueden adquirir varias tonalidades, siendo más azules que verdes, negras, púrpuras, rojizas, violetas, amarillas, o marrón, esto es debido a la presencia de pigmentos, como la clorofila a, xantofilas, biliproteínas y las cromoproteínas que se encuentran almacenadas dentro de pequeñas invaginaciones en las membranas.

Los contenidos de células de muchas especies varían en color de acuerdo a las diferentes condiciones ambientales, esta variación es causada por alteraciones en las proporciones de los pigmentos fotosintéticos (Canter-Lund y Lund 1995).

Las cianobacterias proporcionan una contribución extraordinariamente amplia en la vida de los humanos, tanto en beneficios como en perjuicios. Dentro de los beneficios encontramos que son productores primarios importantes y generalmente su valor nutritivo es amplio (Rai 1990); mientras que entre los perjuicios encontramos que en muchas situaciones pueden llegar a ser una fuente considerable de molestias debido al crecimiento abundante en embalses de agua, creando problemas severos para dichos abastecimientos por las toxinas que llegan a desarrollar (Chorus y Bartram 1999; Mur *et al.*, 1999).

1.1. Descripción de la especie estudiada

Chroococcus turgidus (Kutzing) Nageli, 1849, Yacubson, 1980-1981)

Célula grande ovoide, con protoplasma finamente granulado, homogéneo y de color verde azulado brillante. Cuando se presenta en colonia de dos, cuatro y ocho células se encuentran envueltas en una vaina mucilaginosa, estratificada e incolora (Guzmán 1993).

Viven en hábitats terrestres húmedos, en ocasiones entre musgos del género *Sphagnum*, entre macrófitos emergidos en lagos pocos profundos y charcas más frecuentemente en aguas oligotróficas y mesotróficas, aparentemente ausente de aguas eutrofizadas (Figura 1).

Desde el punto de vista sistemático, la especie *Chroococcus turgidus* pertenece al grupo de las Cyanophytas (tabla 1).



Figura 1. Vista general de la microalga *Chroococcus turgidus*

Tabla 1. Taxonomía de *Chroococcus turgidus*

REINO	Protista
PHYLLUM	Cianophyta
CLASE	Cyanophyceae
ORDEN	Chroococcales
FAMILIA	Chroococcaceae
GÉNERO	Chroococcus
ESPECIE	<i>Chroococcus turgidus</i> (Kutzing) Nageli, 1849 Yacubson, 1980-1981.

1.2. Florecimientos algales nocivos (FAN)

Uno de los problemas relacionados con la industria acuícola, es la presencia de fitoplancton tóxico o sus productos tóxicos que pueden colapsar el cultivo o contaminar los alimentos de origen marino encaminados al consumo humano.

Las cianobacterias y las algas eucariotas del fitoplancton pueden crecer bruscamente bajo determinadas condiciones ambientales aumentando su biomasa en valores significativos con respecto a la concentración original. Este fenómeno se llama floración (en inglés: *Bloom*) (Smayda 1997).

Recientemente, se ha recomendado prestar atención al hecho de que las toxinas de microalgas y sus efectos crónicos, necesitan ser considerados en todos los niveles biológicos, poniendo especial énfasis en la salud humana y en los ecosistemas en general. (Ochoa *et al.*, 2004).

El impacto de las cianotoxinas en acuicultura puede ocurrir de tres maneras: 1) la ingestión de fitoplancton tóxico por parte de los organismos en cultivo; 2) El consumo de una presa contaminada con cianotoxinas por los organismos en cultivo; y, 3) por contacto de los organismos en cultivo con la toxina disuelta en el agua después de la lisis celular del organismo toxigénico. La exposición crónica a las toxinas puede provocar en los organismos cultivados efectos letales o subletales, conduciendo a anormalidades en los hábitos alimenticios, comportamientos extraños, disfunciones fisiológicas, reducción de tallas, crecimiento y reproducción, o también efectos patológicos y mortalidad. (Ochoa *et al.*, 2004).

Entre el fitoplancton responsable de la producción de toxinas se incluye a la División Cyanophyta (cianobacterias), impactando en mayor escala los ambientes dulceacuícolas, ya que en ambientes marinos se reduce a pocos géneros. Los programas de monitoreo del fitoplancton tóxico han considerado casi de manera exclusiva a los dinoflagelados y diatomeas tóxicas, pero ahora sabemos que es

importante que se tomen en cuenta las toxinas de cianobacterias debido al impacto que tienen en la salud humana y animal, debido a ello ya en Sudamérica existen programas bien estructurados de seguimiento a FAN de cianofitas, especialmente en Uruguay y Argentina. Algunas cianobacterias producen metabolitos secundarios que incluyen hepatotoxinas, neurotoxinas, citotoxinas, dermatotóxicas y toxinas irritantes que generan problemas agudos y crónicos de salud humana y animal, con el consecuente impacto de contaminación de reservas de agua y actividades económicas relacionadas con la recreación, turismo, pesca, acuicultura, etc. Estas toxinas pueden ser de muy diversa naturaleza química: péptidos cíclicos, alcaloides y lipopolisacáridos (Quezada *et al.*, 2008).

Las hepatotoxinas, pueden considerarse las cianotoxinas más importantes tanto por su abundancia en la naturaleza, como por la elevada toxicidad que pueden presentar. Entre ellas distinguimos las **microcistinas (MC)** producidas por cianobacterias planctónicas (Anabaena, Microcystis, Planktothrix, Nostoc y Anabaenopsis) y bentónicas (Hapalosiphon) y las **nodularinas** producidas por Nodularia. Ambos tipos son péptidos cíclicos (7 y 5 aminoácidos respectivamente). Estas toxinas son extremadamente comunes en aguas dulces y son hidrosolubles. Una característica importante es que son extremadamente estables y no se destruyen por los oxidantes más utilizados en los tratamientos de agua tales como la cloración, incluso aguantan la ebullición del agua donde están disueltas (Quezada, 2006).

Las Neurotoxinas son de naturaleza alcaloidea, son menos habituales que las hepatotoxinas y sus efectos son muy severos y rápidos. Las toxinas más habituales son **anatoxina-a**, anatoxina-a(S) y las saxitoxinas (que son como las producidas por las mareas rojas en las zonas litorales y que tanto afectan a la economía). La anatoxina-a es producida por Anabaena, Aphanizomenon y Oscillatoria, anatoxina-a(S) exclusivamente por Anabaena y las saxitoxinas por Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya y Cyllindrospermopsis.

El grupo de las citotoxinas está representado fundamentalmente por una toxina, la **cilindropermopsina**, sobre la que se está trabajando mucho en la actualidad. Su naturaleza química es alcaloidea. Se han descrito organismos productores dentro de las especies *Cylindropermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon ovalisporum* y del género *Raphidiopsis*. Esta toxina aunque está apareciendo en muchos cuerpos de agua es más sensible a los oxidantes y los tratamientos tradicionales la destruyen.

Las **dermatotoxinas**, son normalmente alcaloides como aplisiatoxina y lyngyatoxina, produciendo dermatitis severa con el simple contacto cutáneo. Están producidas por *Lyngbya*, *Oscillatoria* y *Schizothrix*.

En cuanto a las **toxinas irritantes**, éstas son de naturaleza lipopolisacáridica (LPS), que es un componente habitual en la pared de todas las bacterias Gram negativas. Es la parte lipídica de esta molécula la que produce unos efectos irritantes o alergénicos en los mamíferos expuestos (Quezada *et al.*, 2008). La mayor parte de las especies de cianobacterias deben ser combatidas en estadios tempranos de su desarrollo ya que una vez establecidas, las medidas correctivas cuando son posibles, son de alto costo (Scheffer 1998).

Las cianobacterias son un grupo diverso de organismos por lo que no pueden ser estudiadas como una única entidad ya que presentan una alta diversidad de respuestas y efectos ambientales (Reynolds 2006).

A nivel ecológico lo más importante es la disminución de la biodiversidad, y la falta de oxígeno, aunque en realidad estas son consecuencias directas de la presencia del afloramiento masivo independientemente de si este es toxico o no lo es. Sin embargo la presencia de toxina a nivel de ecosistema también tiene gran importancia, porque puede suponer una variación en las especies de zooplancton, ya que muchas son sensibles a dichas toxinas, permaneciendo aquellas que no lo son, pero que pueden tener diferente valor nutricional para los organismos acuáticos que se alimentan de ellos, o incluso pueden no servir de alimento para dichos organismos que se alimentan de ellos, por lo que la estructura trófica del ecosistema quedaría desequilibrada (Quezada *et al.*, 2008).

De las 5 000 especies de algas marinas descritas (Andersen, 1996), aproximadamente 300 pueden presentar floraciones. Este tipo de evento es causado por diversos microorganismos y algunas especies pueden ser nocivas incluso a bajas densidades, es decir, sin llegar a formar “blooms” ó cambios de coloración aparente en las masas de agua (Anderson, 2003; Van Egmond *et al.*, 2005). Los crecimientos explosivos ocurren a veces al cambiar las condiciones climáticas, pero otras causales agregadas pueden ser variaciones en las corrientes verticales, la temperatura, transparencia, turbulencia o salinidad de las aguas, la concentración de nutrientes disueltos, los vientos o la iluminación artificial (Bower *et al.*, 1981).

Algunas especies producen decoloraciones del agua básicamente inocuas. Otras especies, en cambio, pueden florecer tan densamente bajo condiciones excepcionales que matan indiscriminadamente peces e invertebrados agotando el oxígeno. Otras especies de algas pueden ser perjudiciales para peces e invertebrados (especialmente en sistemas de acuicultura intensivo) dañando o tapando sus agallas. Hay, además unas 75 especies de microalgas capaces de producir poderosas toxinas que se desplazan por la cadena alimentaria (moluscos, crustáceos y peces de escama) para ser consumidos finalmente por seres humanos, provocando diversas enfermedades gastrointestinales y neurológicas. Algunas especies de algas ya producen toxinas poco concentradas, de unos pocos cientos de células por litro, en tanto que otras deben contar con millones de células por litro, para resultar de alguna manera perjudiciales (Hallegraeff *et al.*, 1995; Lindahl 1998).

Alonso-Rodríguez *et al.* (2004) nombra eventos ocasionados por microalgas productoras de FANs en cultivos de camarón en diferentes países del mundo. La cianobacteria *T. erythraeum* ha formado floraciones en Vietnam, causando la mortalidad del cultivo al llegar a concentraciones de 300-500 millones de cel/L, debido a su toxicidad. En el Golfo de Guayaquil en Ecuador, *G. instriatum* provocó la mortalidad de los cultivos por generar condiciones de anoxia. Una concentración de 34 millones de células por litro de *P. mínimum* en Sinaloa,

México ocasionó fertilización consecutiva y adición de ácidos húmicos en estanques causando un 80% de mortalidad.

El presente estudio tiene objetivo determinar el impacto que causan las proliferaciones de la microalga *Chroococcus turgidus* sobre los parámetros de crecimiento y sobrevivencia de *Litopenaeus vannamei* y evaluar el efecto de esta especie en distintas concentraciones celulares sobre los juveniles de *L. vannamei*.

1.3. Objetivos

1.4.1. General

Determinar el impacto que causa la floración de la microalga *Chroococcus turgidus* sobre los parámetros de crecimiento y porcentaje de sobrevivencia de juveniles de *Litopenaeus vannamei* en cultivos acuícolas.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el impacto que tiene el florecimiento de la microalga *Chroococcus turgidus* sobre la sobrevivencia, peso y crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.
- Evaluar el efecto de la microalga *Chroococcus turgidus* en 2 niveles de concentraciones celulares sobre la sobrevivencia, peso y crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.
- Determinar los rangos deseables de la microalga *Chroococcus turgidus* en cultivos de *Litopenaeus vannamei*.

1.4. Hipótesis

El florecimiento de la microalga *Chroococcus turgidus* tiene un impacto sobre el crecimiento, peso y supervivencia de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* en cultivos acuícolas.

1.5. Área de estudio

La investigación se realizó en un campamento camaronero ubicado en la isla Josefina del Golfo de Guayaquil sector las “Esclusas” Cantón Guayaquil, Provincia del Guayas (Figuras 2 y 3).

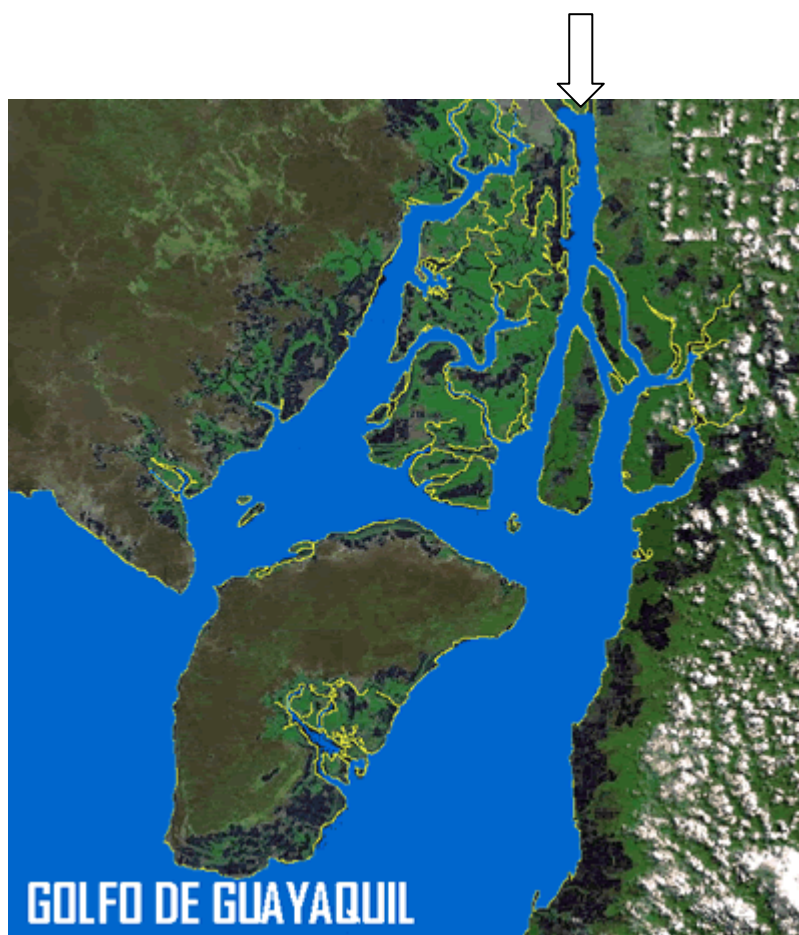


Figura 2, Sector del campamento camaronero



Figura 3. Posición del Campamento camaronero

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ROL DEL FITOPLANCTON EN PISCINAS CAMARONERAS:

2.1.1. Generalidades sobre el fitoplancton

El fitoplancton es la comunidad de microalgas y cianobacterias que habitan la columna de agua de los sistemas acuáticos. El fitoplancton contribuye a la producción primaria de los sistemas acuáticos, a través de la fotosíntesis, siendo muchas veces la comunidad principal en todo el ecosistema para esta función (Bonilla y Aubriot 2009).

El fitoplancton, es el tipo de planta dominante en piscinas de producción acuícola. Los grupos más abundantes en aguas salobres son las diatomeas (Bacillariophyceae), los dinoflagelados (Dinophyceae), las algas azul-verdes (Cyanophyceae) y las algas verdes (Chlorophyceae) (Cajas *et al*, 2000; Yusoff *et al*, 2002). Su composición y abundancia varían de un cuerpo de agua a otro, con el tiempo y están controladas por factores abióticos como la luz, temperatura, salinidad y concentración de nutrientes y por factores bióticos como presencia y composición del zooplancton (Tilman *et al*, 1982).

La luz es indispensable para el crecimiento de las algas. A través de la fotosíntesis, el fitoplancton captura la energía solar para reducir el carbono inorgánico en carbono orgánico y producir oxígeno. La intensidad mínima para la realización de la fotosíntesis es de 1% de la luz incidente o equivalente a un mínimo de 25 lux de las radiaciones activas para la fotosíntesis (Boyd y Tucker, 1998). Sin embargo, estudios reportan que los requerimientos de luz son distintos para los diferentes grupos de algas.

Una baja intensidad favorece el crecimiento de cianobacterias debido a su mayor habilidad para captar la luz y su punto bajo de compensación de luz (Van Liere y Mur, 1980; Tilzer, 1987).

2.1.2. Los nutrientes y su efecto sobre la composición fitoplanctónica:

Las concentraciones instantáneas de nutrientes inorgánicos disueltos en los sistemas acuáticos están reguladas por una serie de procesos físicos, químicos y biológicos (p.e. intercambio con otros sistemas, reciclamiento bentónico, reciclamiento pelágico interno), que pueden condicionar sus proporciones relativas y por ende su disponibilidad (Sánchez *et al.*, 2011). La disponibilidad de estos compuestos puede limitar y regular la producción primaria si las proporciones relativas de Nitrógeno orgánico disuelto (NID) y Fósforo inorgánico disuelto (FID), no se encuentran dentro de los requerimientos de los productores primarios (Parson *et al.*, 1984; Howart 1988), que debería ser 16:1 para las poblaciones fitoplanctónicas marinas.

Redfield (1934) descubrió que la biomasa marina guardaba una relación estequiométrica entre las masas moleculares del N, P Y C. Los procesos biológicos en el mar se producen de modo a la relación C:N:P = 106:16:1. Además, Elser *et al.*, (1990) concluyeron que la combinación de fósforo y nitrógeno aumenta el crecimiento del fitoplancton de manera más marcada que la adición simple de nitrógeno o fósforo.

A pesar de un sinnúmero de estudios publicados, no existe un consenso sobre las concentraciones mínimas de nitrógeno y fósforo para soportar una población fitoplanctónica en un cuerpo de agua.

En estanques de camarón en Tailandia el alimento es el mayor aporte de nutrientes al sistema, constituye un 78%, 51% y 40% del nitrógeno, fósforo y carbono total suministrado, respectivamente (Briggs y Funge – Smith 1994), no

obstante de un 25 a 45% de nitrógeno, 20-30% de fósforo y 10-15% del carbón es asimilado y convertido en biomasa (Boyd y Teicher-Coddington 1995; Boyd y Tucker 1998). La porción no asimilada y la no consumida entran al ciclo biogeoquímico del estanque de producción. Una parte es inmovilizada por la absorción del suelo y fijación por bacterias, otra es volatilizada, absorbida por el fitoplancton o descargada en los efluentes (Ritvo *et al.*, 1998).

Los fertilizantes constituyen el segundo ingreso de nutrientes en sistemas de cultivo. Florecimientos fitoplanctónicos se producen por una excesiva carga de nutrientes colaborando con el proceso de eutrofización. Al morir estas microalgas forman materia orgánica que es descompuesta por bacterias con la consecuente disminución de los niveles de oxígeno disuelto (Boyd 1989).

En piscinas no fertilizadas las cianobacterias constituyen apenas el 5% del conteo total, mientras que en piscinas fertilizadas o recibiendo altas tasas de alimento artificial, las cianobacterias representan mínimo un 75% de la biomasa fitoplanctónica con una, dos o tres especies dominantes (Paerl y Tucker, 1995). Algunas cianobacterias tienen la habilidad de fijar nitrógeno atmosférico, lo que les da ventaja sobre otras especies que dependen solamente del nitrógeno combinado presente en la columna de agua (Paerl, 2000).

2.1.3. Los efectos positivos de la presencia del fitoplancton:

La presencia del fitoplancton en piscinas acuícolas permite durante el día la acumulación de oxígeno disuelto disponible para otros organismos acuáticos, la disminución de dióxido de carbono y el incremento del pH. La magnitud de las fluctuaciones diarias en las concentraciones de estas variables se incrementa con poblaciones de fitoplancton más alta (Boyd y Tucker, 1998). La presencia del fitoplancton también influye en la calidad del agua a través de la remoción de nutrientes.

En piscinas de producción, las concentraciones de amonio total y fósforo soluble reactivo son más bajas en presencia de una población fitoplanctónica con crecimiento rápido (Burford, 1997). Tucker *et al*, (1984) demostraron que existe una relación estrecha entre la concentración de amonio total y la presencia del fitoplancton en piscinas de producción de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*).

El alimento natural de los camarones incluye fitoplancton, zooplancton y bentos. Sin embargo, diferentes especies de camarones exhiben distintas preferencias por el alimento natural. *Litopenaeus vannamei* es considerada una de las especies menos carnívoras, dependiendo más de la productividad natural primaria (Chong y Sasekumar, 1981). Gamboa (2001) reportó que el contenido estomacal de *L. vannamei* (entre 6 y 8 g) en un sistema semi-intensivo en Ecuador, estaba compuesto de 91% de alimentos naturales.

2.1.4. Problemas asociados con el fitoplancton

Se considera que la mayoría de los problemas de calidad de agua en piscinas camaroneras es el resultado de un inapropiado control y manejo de la comunidad fitoplanctónica (Tucker y Lloyd, 1984). Poblaciones de fitoplancton densas y con poca variedad son muy inestables y pueden tener colapsos repentinos provocando caídas abruptas de oxígeno disuelto y estrés o muerte en los animales en cultivo (Boyd y Tucker, 1998). Se considera que la completa recuperación de un colapso del fitoplancton en piscinas de producción puede tomar hasta siete días (Boyd *et al*, 1975).

Las cianobacterias generalmente asociadas con condiciones eutróficas presente en piscinas camaroneras, no son una buena fuente de producción primaria y aportan con poco oxígeno disuelto al medio (Paerl y Tucker, 1995). Algunas pueden producir metabolitos olorosos que han sido consideradas como la fuente primaria de sabor a choclo o terroso en los camarones (Massaut, 1999). Estos malos olores desaparecen cuando el animal no es expuesto por un cierto tiempo al compuesto oloroso, lo que normalmente requiere un recambio de agua

fuerte y tiempo extra antes de la cosecha, traduciéndose en un incremento en los costos de producción (Boyd y Tucker, 1998). Muchas poblaciones de fitoplancton dominadas por cianobacterias son completamente inofensivas pero algunas pueden causar episodios tóxicos (Pearl, 2000). Aunque las cianobacterias son muy comunes en piscinas de camarón, son pocos los reportes de efectos tóxicos, Lightner (1978) y Smith (1996) reportan la presencia de toxinas producidas por cianobacterias en concentraciones sub-letales que probablemente causan el debilitamiento del camarón haciéndolo propenso a infecciones bacteriales secundarias.

Las floraciones algales nocivas (HABs en inglés) son no predecibles, usualmente dominadas por una sola especie. El crecimiento y la acumulación seguidos por la interrupción de la fotosíntesis y la subsecuente descomposición del plancton acumulado causa la desoxigenación del agua, llevando a la muerte a peces e invertebrados. Aún especies inocuas pueden causar daño de esta manera. Algunas especies, cuándo abundantes, pueden secretar polímeros en sus alrededores que pueden tornar al agua tan viscosa que los organismos pueden tener dificultades en bombearla a través de sus branquias. Otras como *Chaetoceros concavicornis* son espinosas y pueden irritar las branquias llevando a una superproducción de mucosa, daño branquial e intercambio gaseoso reducido. Floraciones de estos tipos causan anualmente graves pérdidas en el área acuícola de muchos países, poniendo serios obstáculos a las futuras inversiones en esta industria.

Las toxinas de las especies nocivas pueden ser pasadas a través de las cadenas tróficas. Son muchas las especies de cianobacterias que desarrollan floraciones en ambientes de agua dulce, salobre o marina. Los géneros de cianobacterias de aguas continentales que han registrado floraciones tóxicas con mayor frecuencia a nivel mundial, se destacan, *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis*, y *Nodularia* (De León, 2004).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología desarrollada en esta investigación incluyó fases de campo, laboratorio y experimental que se describen a continuación.

3.1 Fase de Campo

El estudio se realizó en una camaronera ubicada en el Golfo de Guayaquil, isla Josefina, Provincia Guayas, al suroeste de la ciudad de Guayaquil, sector el Guasmo. A partir del mes de Agosto del año 2012, se empezaron a muestrear las piscinas y reservorio de la camaronera, con el fin de tener una idea del tipo de fitoplancton de la zona. Las muestras fueron tomadas mediante arrastre superficial (figura 4) con una red de 50 micrómetros a 2 nudos por 10 minutos. Las muestras fueron colocadas en frascos plásticos de 200 ml de capacidad, y depositadas en una hielera para evitar alteraciones por procesos biológicos.



Figura 4. Arrastre superficial para obtener la muestra de fitoplancton

3.2 Fase de Laboratorio

3.2.1 Aislamiento y cultivo de cianobacterias:

El cultivo se realizó en una primera fase en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Naturales, Escuela de Biología de la Universidad de Guayaquil y la segunda fase en el laboratorio de la camaronera.

El aislamiento de cianobacterias se realizó por el método de diluciones sucesivas descrito por Velasco (1994) (figura 5). Se prepararon 15 tubos de ensayo, y se siguió el procedimiento siguiente:

- a) Enumeramos 5 tubos de ensayo del 1 al 5.
- b) Agregamos 14 ml de agua estéril de la piscina a cada tubo de ensayo (1 al 5).
- c) Tomamos 1 ml de la muestra de la piscina y le agregamos al tubo # 1.
- d) Agitamos la muestra, y tomamos 1ml del tubo # 1 y le agregamos al tubo # 2 y así sucesivamente hasta llegar al tubo # 5, el cual se convertirá en el tubo principal, ya que los 4 tubos restantes se eliminan.
- e) En los 10 tubos de ensayos de los 15 que preparamos, colocamos 10 ml del medio de cultivo (Guillard F/2) (Guillar y Ryther, 1962) (tabla 2).
- f) Del tubo # 5 tomamos 1 ml y agregamos 2 gotas a cada uno de ellos, se homogeniza la muestra, se tapan los 10 tubos de ensayos, se ubican en la gradilla con iluminación permanente de lámparas fluorescentes (1500 lux) y a temperatura ambiente (24-28°C) por 8 días.

Diariamente los tubos fueron agitados 3 veces al día manualmente para evitar que las algas se sedimenten y facilitar el intercambio gaseoso. Cada semana se escogió el mejor tubo de ensayo, es decir que presente células sanas, sin daño en su estructura interna, buen contenido de pigmentación, libre de bacterias adheridas, sin protozoarios y libres de sedimentación para dilución. Las fotografías de las microalgas fueron tomadas con una cámara fotográfica digital.



Figura 5. Técnica de diluciones seriadas.

El 17 de diciembre del año 2012, se logra aislar *Chroococcus turgidus*, en el laboratorio de Ficología de muestras provenientes de las piscinas 32 y 12 de la camaronera con 26 ppt de salinidad.

El cultivo general de producción de la microalga *Chroococcus turgidus* para llegar a mayor volumen se realizó de la siguiente manera:

a) Las cepas fueron transferidas a fiolas de 250 ml con 150 ml de medio de cultivo y 50 ml de inóculo dando un volumen total de 200 ml, siendo el tiempo de crecimiento de 3 días.

b) Una vez alcanzada suficiente biomasa, se transfirió el cultivo a fiolas de 1000 ml, agregando 200 ml de cultivo de cianobacterias más 800 ml del medio de cultivo esterilizado. El tiempo de crecimiento para esta fase de cultivo fue de 2 días.

c) Estos cultivos intermedios se emplearon como inóculo para un cultivo en galoneras, en la proporción de 3000 ml de medio de cultivo esterilizado y 1000 ml del cultivo de cianofitas.

Tabla 2. Preparación del Medio Guillard F/2 (1968).

REACTIVO	CONCENTRACIÓN
NO ₃ Na	75 g
PO ₄ H ₂ Na.2H ₂ O	5 g
Agua destilada	1 L
EDTA. Na ₂	4.36 g
Fe Cl ₃ . 6 H ₂ O	3.15 g
CuSO ₃ .5H ₂ O	0.01 g
ZnSO ₃ .7H ₂ O	2.2 g
ClCO. 6H ₂ O	0.01 g
MnCL2.4H ₂ O	0.18 g
NaMoO ₄ ,2H ₂ O	0.006 g
Agua destilada	1 L
VITAMINA	
Tiamina (B1)	0.5 g
Cyanocobalamina (B12)	0.1 g
Biotina (H)	0.1 g
Agua destilada	1 L

Tabla 3. Producción diaria de la microalga *Chroococcus turgidus*.

MATERIAL	MEDIO DE CULTIVO	INÓCULO	VOLUMEN TOTAL	DÍAS DE CRECIMIENTO
5 fioles de 250 ml	150 ml	50 ml	1 L	3
5 fioles de 1000 ml	800 ml	200 ml	5 L	2
5 galoneras	3000 ml	1000 ml	20 L	2

3.3. Diseño Experimental

El bioensayo consistió en exponer juveniles de *L. vannamei* a diferentes concentraciones de *Chroococcus turgidus* con peso promedio de 1 gramo, procedentes del laboratorio que mantiene la Compañía en la Península de Santa Elena y sembrados directamente en la piscina 34-B de la camaronera, con 18 días de siembra al momento de recogerlos para el experimento. Los juveniles fueron transferidos a la sala de aclimatación donde estuvieron 4 días con alimento formulado y aireación. Se aseguró que la mortalidad sea menor al 5% y que los animales lleguen en buenas condiciones para el bioensayo.

Se utilizaron 20 acuarios de vidrio (figura 6) incluidos los controles, con una capacidad de 8 litros los cuales fueron llenados a 5 litros con agua del canal reservorio de la camaronera y tratada con 20 ppm de Hipoclorito de calcio por 24 horas. El sistema de aireación estuvo compuesto por un soplador marca (JAD-Electro-Magnetic Air compressor. Model: ACQ-012- volt: 110 V, fre:60 HZ- Power 500 W, Output: 210 L/Min) y una piedra difusora por acuario. Se colocaron 3 animales juveniles en cada acuario, durante 30 días con iluminación tenue. La salinidad fue de 20 ppm medida con un Refractómetro marca VEEGEE-STX-3 salinity 0-100‰ y la temperatura promedio fue de 27.7°C (termómetro de mercurio), el recambio del agua estuvo en el orden del 80% diario mediante sifoneo. El alimento de tipo comercial (28% de proteínas) fue proporcionado en dosis de 3 pellets por acuario. En las mañanas, luego del recambio de agua se aplicaba la dosis de la cianobacteria, con excepción de los acuarios control a los cuales se los alimentaba sólo con balanceado. Las concentraciones de la microalga fueron calculadas mediante conteos en la cámara de Neubauer conocida como hemocitómetro (0.1 mm de profundidad) del tipo Neubauer, marca Boeco, que es el más usado en los laboratorios de larvas para contar algas microscópicas desde 2 a 30 micras. En la figura 7 se representa el método de conteo, se usó el cuadrante del centro y se contaban las células de los 4 extremos y del centro. Se utilizó un microscopio Cole Parmer Vernon Hills, Illinois 60061. Doce acuarios se utilizaron para tratamiento y los ocho acuarios restantes como control.

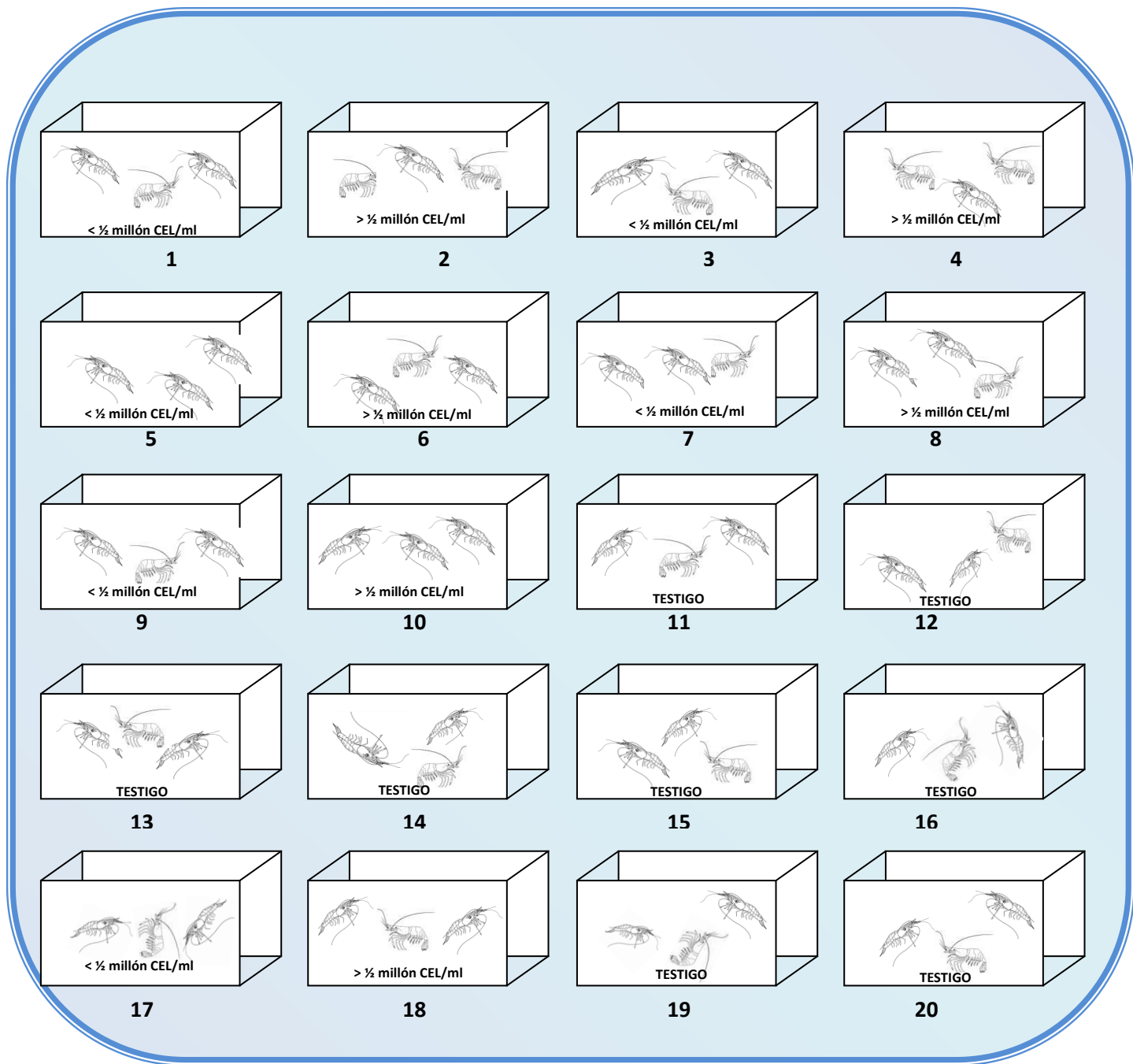


Figura 6. Acuarios de Bioensayos con diferentes concentraciones de microalgas

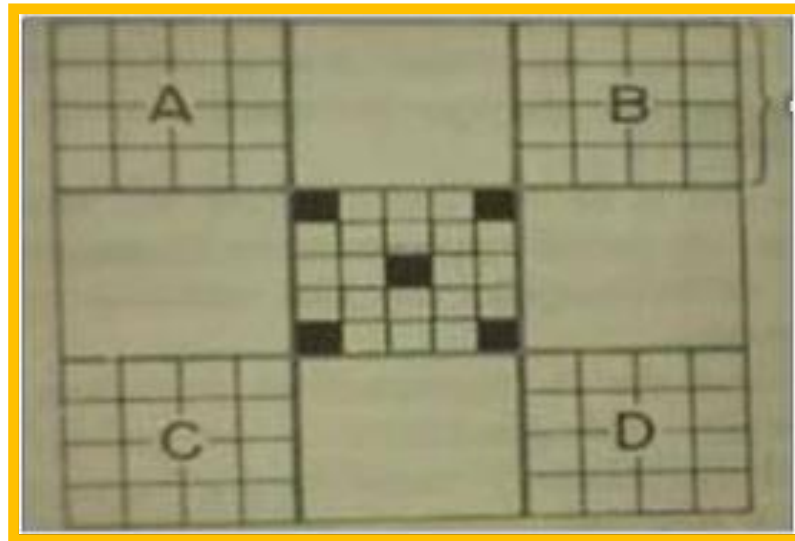


Figura 7. Patrón de conteo para la cámara de Neubauer.

Los 12 acuarios fueron divididos de la siguiente manera: 6 acuarios réplicas con densidades menores a 500.000 células/ml de la microalga (tratamiento 1), y 6 acuarios réplicas con densidades mayores a 500.000 células/ml de la microalga (tratamiento 2), los 8 acuarios restantes quedaron como testigos (tratamiento 3).

Durante el proceso todos los animales fueron pesados semanalmente utilizando una balanza digital marca Scout Pro Ohaus SP401 con capacidad de 400 gramos y medidos con un Caliper digital (0-4" Fowler), un total de 8 veces durante el proceso del experimento. También se llevó un registro diario de actividad de los animales, referente a contenido intestinal, alimentación y las variables ambientales temperatura, pH, utilizando un pechímetro (Waterproof Tester –Hanna instruments), salinidad y oxígeno disuelto empleando un oxigenómetro (YSI-55 Dissolved Oxygen model#55-12FT) y cada semana se monitoreaba amonio tóxico en los acuarios 1, 2, 3, 4, 15, 17, 19, 20 con un Espectrofotómetro HACH, mod. DR/2400, igualmente se realizaron análisis microbiológicos para bacterias totales, Pseudomonas y vibrios en agar Soya, Cetrimide y T.C.B.S. En los acuarios 8, 10, y 17, se realizaron análisis histopatológicos.

3.4. Procesamiento Estadístico

3.4.1 Variables

Variables de pendientes:

Crecimiento, peso y porcentaje de sobrevivencia de camarones en estado juvenil. Es la variable respuesta.

Variables independientes:

Factor concentraciones de la microalga. Se dividió en tres niveles. Concentraciones menores a 500 000 cel/ml. (tratamiento 1), concentraciones mayores a 500 000 cel/ml. (tratamiento 2) y el testigo o control (tratamiento 3) en el que no se aplicaron microalgas.

Factor grupo de edades. Se dividió en tres niveles, el grupo 1, el cual incluye a los camarones juveniles de 1 a 13 días y se realizaron 3 observaciones (los días 1, 4 y 13 del mes considerado), el grupo 2, incluye a los organismos de 14 hasta 23 días y se efectuaron 3 observaciones (los días 16, 19 y 23) y el grupo 3 el cual incluye camarones de 24 hasta 30 días y se efectuaron 2 observaciones (los días 26 y 30). Estas son las variables causas de variación en la variable dependiente y son las que se controlan en función del cumplimiento de los objetivos de la presente investigación.

3.4.2. Análisis estadísticos

Primeramente se verificó el cumplimiento de los supuestos del análisis de Varianza (ANOVA): para lo cual se comprobó si las poblaciones de datos determinadas por las densidades de microalgas en función de los grupos de edades de los camarones en estado juvenil son independientes, se distribuyen normalmente y presentan homogeneidad de varianzas; mediante la utilización del paquete estadístico SPSS versión 20 para Windows.

La verificación del primer supuesto del ANOVA se garantizó en el diseño del experimento y en las observaciones de cada tratamiento y grupo de edades las que se tomaron aleatoriamente, de forma que fueron independientes unas de otras.

El supuesto de normalidad de distribución de los datos se verificó mediante una prueba de bondad de ajuste, para este caso se utilizó la prueba de Kolmogórov Smirnov (K-S de una muestra) y el contraste de las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (H_0): Las medias de las observaciones de cada grupo de edades en relación con la talla, peso y el porcentaje de sobrevivencia de los camarones son iguales. $H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu$

Hipótesis alternativa (H_1): Al menos una de las medias de las observaciones de cada grupo de edades en relación con la talla, el peso y el porcentaje de supervivencia de los camarones es diferente.

$$H_1 : \text{Existe un } \mu_i \neq \mu \text{ con } i = 1, 2, 3$$

Para verificar si la distribución de datos presenta homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba de Levene y las siguientes hipótesis de contraste:

Hipótesis nula (H_0): La varianzas de las observaciones de cada grupo de edades en relación con la talla, el peso y el porcentaje de sobrevivencia de los camarones son iguales.

$$H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_k^2 = \sigma^2$$

Hipótesis alternativa (H_1): Al menos una de las varianzas de las observaciones de cada grupo de edades en relación con la talla, el peso y el % de supervivencia de los camarones es diferente.

$$H_1 : \text{Existe una varianza distinta a } \sigma^2$$

Para determinar si existe efecto de interacción entre los niveles del factor concentraciones de microalgas (Factor A) y los grupos de edades (Factor B) se realizó un ANOVA de dos vías y la prueba del modelo lineal general univariante, para lo cual se utilizó el modelo factorial completo y se obtuvieron los gráficos de perfil que permitieron interpretar el comportamiento de las variables dependientes evaluadas (talla, peso y % de supervivencia de los camarones). Las hipótesis de contraste utilizadas para cada factor y el efecto de sus interacciones fueron las siguientes:

Factor A (Concentraciones de microalgas)

Hipótesis nula: El factor concentraciones de microalgas no influye sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_0 : \alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_k = 0$$

Hipótesis alternativa: El factor concentraciones de microalgas influye sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_1 : \text{Existe un } \alpha_i \text{ distinto de } 0$$

Factor B (Grupos de edades de los camarones)

Hipótesis nula: El factor grupos de edades no influye sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_k = 0$$

Hipótesis alternativa: El factor grupos de edades no influye sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_1 : \text{Existe un } \beta_j \text{ distinto de } 0$$

Efecto de interacción entre los factores en estudio

Hipótesis nula: La interacción entre los factores concentraciones de microalgas y grupos de edades no influyen sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_0 : (\alpha\beta)_1 = (\alpha\beta)_2 = \dots = (\alpha\beta)_{ab} = 0$$

Hipótesis alternativa: La interacción entre los factores concentraciones de microalgas y grupos de edades influyen sobre los parámetros de crecimiento (talla y peso) y el % de supervivencia de camarones juveniles.

$$H_1 : \text{Existe un } (\alpha\beta)_{ab} \text{ distinto de } 0$$

Para determinar el tratamiento o tratamientos de mejores o peores resultados, se efectuó la prueba HSD de Tukey a través de la cual estos se agrupan en grupos homogéneos y se realizaron comparaciones por pares para las diferencias de medias.

La regla de decisión utilizada se basa en que si la probabilidad calculada es $\leq \alpha$ (nivel de significación para realizar la prueba) se rechaza H_0 , en este caso se trabajó con un alfa de 0,05, ya que el nivel de confiabilidad predefinido es el 95%. Si el nivel de significación obtenido por la prueba es menor o igual a α se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

4. RESULTADOS

En lo que respecta al cultivo de *Chroococcus turgidus*, se observó que esta especie tuvo su mayor crecimiento sin aireación y con luz natural dentro del laboratorio, alcanzando densidades en el orden de 19 600 000 cel/ml al noveno día de cultivo. Los camarones en los controles no mostraron mortandad, pero si hubo una menor actividad de ingesta de alimento, lo que pudo ser corroborado por la cantidad de alimento recogido diariamente. Los animales expuestos a la cianobacteria, del tratamiento 1 tuvieron una mortalidad del 11.1% y los del tratamiento 2 una mortalidad del 55.5%, tanto en el tratamiento 1 y 2 los animales mostraron una mejor actividad natatoria y alimenticia, por lo menos en los primeros días. Los camarones de los acuarios testigos no tuvieron mortalidad.

En la tabla 4 se visualiza para el caso de las variables dependientes talla y peso de los juveniles de camarones dentro de los grupos de edades una distribución normal de los datos obtenidos.

Para el caso de la variable dependiente % de supervivencia de los juveniles de camarones los datos obtenidos dentro de los grupos de edades no siguen una distribución normal.

En la tabla 5 se muestran los resultados de la prueba realizada para verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas de distribución de los datos obtenidos por los grupos de edades de los camarones, en la cual podemos apreciar, que las varianzas son homogéneas para el caso de la variable talla promedio.

En lo que respecta a las variables peso y % de supervivencia no presentan homogeneidad de varianzas, ya que los niveles de significación obtenidos en ambos casos son menores al nivel de significancia preestablecido (0.05).

Tabla 4. Resultados de la prueba de bondad de ajuste para verificar el supuesto de distribución de los datos obtenidos por grupo de edades de los camarones.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra					
Grupos por edades de los camarones		Talla (cm)	Peso (g)	% supervivencia	
Edad 1 (entre 1 y 12 días)	N		60	60	60
	Parámetros normales ^{a,b}	Media	4,1815	1,1620	98,890
		Desviación típica	1,46953	,24010	6,0280
	Z de Kolmogorov-Smirnov		1,324	,605	4,181
	Significación asintótica (bilateral)		0,060	0,857	0,000
Edad 2 (entre 13 y 23 días)	N		57	57	60
	Parámetros normales ^{a,b}	Media	6,0037	1,4625	92,780
		Desviación típica	0,49236	0,24297	23,0357
	Z de Kolmogorov-Smirnov		0,661	0,690	3,922
	Significación asintótica (bilateral)		0,774	0,729	0,000
Edad 3 (entre 24 y 30 días)	N		34	34	40
	Parámetros normales ^{a,b}	Media	6,2624	1,6224	80,000
		Desviación típica	0,45821	0,27117	37,5928
	Z de Kolmogorov-Smirnov		0,554	0,666	2,863
	Significación asintótica (bilateral)		0,919	0,767	0,000
a. La distribución de contraste es la Normal.					
b. Se han calculado a partir de los datos.					

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas por medio del test de Levene para talla, peso y porcentaje de supervivencia.

Prueba de homogeneidad de varianzas				
Grupos por edades de los camarones	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significación
Talla promedio (cm)	0,011	2	148	0,989
Peso promedio (g)	5,625	2	148	0,004
% supervivencia	73,296	2	157	0,000

4.1 Variable talla

El ANOVA de dos vías realizado, basado en el modelo lineal general univariante indica que existen suficientes evidencias para inferir que no hay efecto de interacción entre los tratamientos (densidades de microalgas) y los grupos de edades de los camarones debido a que el valor obtenido por la prueba (0.953) es mayor que el valor establecido previamente (0.05) (tabla 6).

Tabla 6. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente talla de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Talla promedio (cm)					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	134,925 ^a	8	16,866	16,231	0,000
Intersección	3872,186	1	3872,186	3726,552	0,000
Tratamientos (cel/ml)	0,101	2	0,050	,048	0,953
Edad de los camarones	126,565	2	63,283	60,903	0,000
Tratamientos * edad	0,192	4	0,048	0,046	0,996
Error	147,549	142	1,039		
Total	4584,913	151			
Total corregida	282,474	150			
a. R cuadrado = 0,478 (R cuadrado corregida = 0,448)					

En la tabla 7 se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos usando la prueba paramétrica de Tukey para la talla promedio, la misma que nos indica que el nivel de significación es mayor que el nivel preestablecido por la prueba (0.05) por lo tanto no existen diferencias significativas de la variable dependiente talla promedio con los distintos tratamientos (densidad de algas).

Tabla 7. Resultados de las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Talla promedio (cm)		
HSD de Tukey		
Tratamiento (cel/ml)	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Mayor de 500 000	39	5,2369
Testigo (0)	64	5,3458
Menor de 500 000	48	5,4094
Significación		0,813

En la figura 8 se observa en el gráfico que no existe diferencias significativas Entre los tratamientos y los grupos de edades para la variable talla promedio.

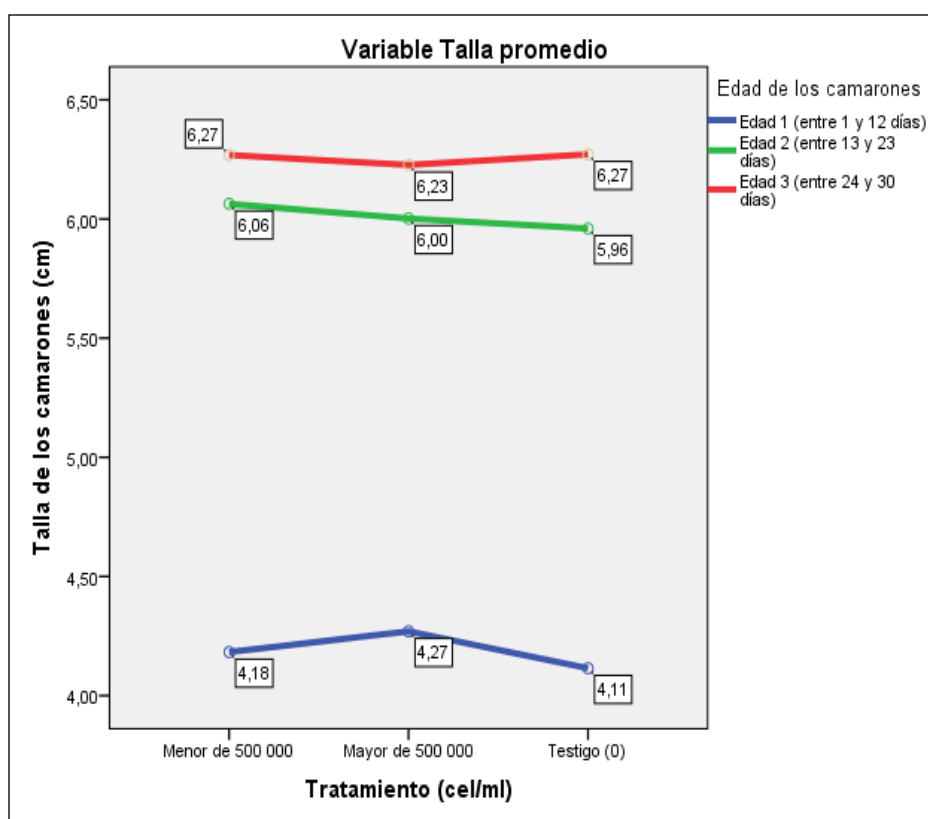


Figura 8. Gráfico de perfil que muestra las medias de la variable talla promedio de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.

4.2 Variable peso

La tabla 8 muestra una significación asintótica de 0.589 la cual es mayor que el valor establecido previamente (0.05) y por lo tanto no existen diferencias significativas de esta variable con los tratamientos de algas (prueba de Kruskal-Wallis).

Tabla 8. Prueba de Kruskal-Wallis de la variable peso de los camarones.

	Peso promedio (g)
Chi-cuadrado	1,058
gl	2
Significación asintótica	0,589
a. Prueba de Kruskal-Wallis	
b. Variable de agrupación: Tratamiento (cel/ml)	

No existieron diferencias estadísticamente significativas en la variable peso promedio y los tratamientos de algas (prueba de Tukey HSD; tabla 9).

Tabla 9. Pruebas post hoc. Subconjuntos homogéneos.

Peso promedio (g)		
HSD de Tukey		
Tratamiento (cel/ml)	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Mayor de 500 000	39	1,3433
Testigo (0)	64	1,3867
Menor de 500 000	48	1,3979
Significación		0,664

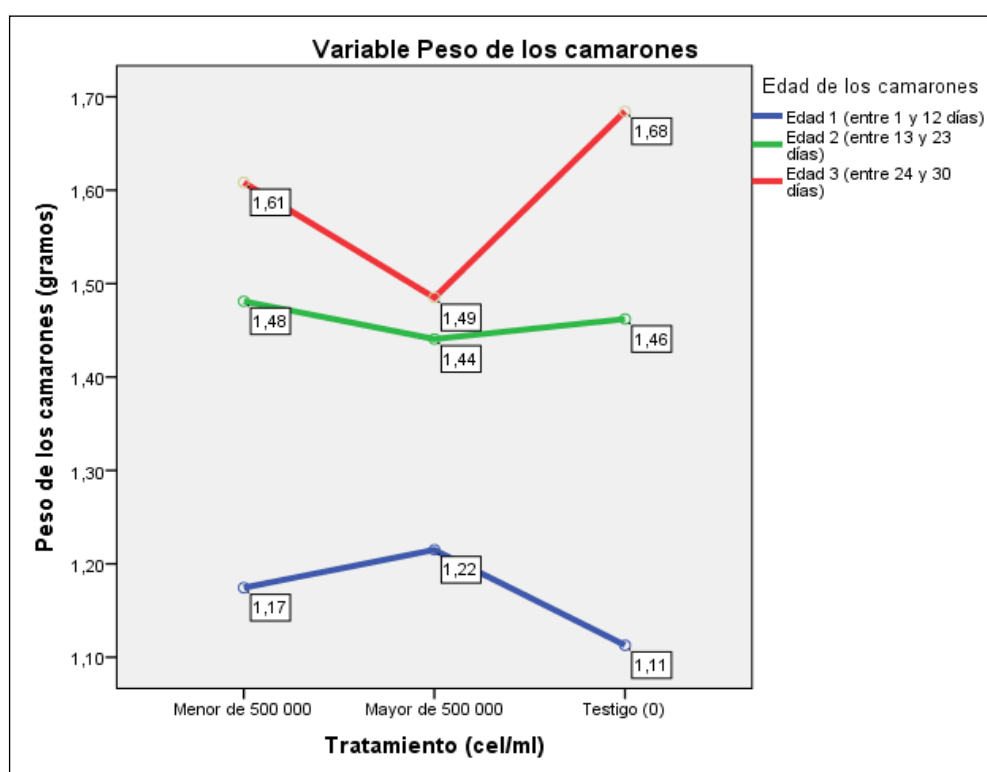
En la tabla 10 se muestran los resultados del ANOVA de la variable peso donde observamos que las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Tabla 10. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente peso de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Peso promedio (g)					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	5,538 ^a	8	0,692	11,129	0,000
Intersección	254,901	1	254,901	4098,286	0,000
Tratamientos (cel/ml)	0,039	2	0,020	0,315	0,730
Edad de los camarones	4,299	2	2,150	34,561	0,000
Tratamientos * edad	0,297	4	0,074	1,193	0,316
Error	8,832	142	0,062		
Total	301,548	151			
Total corregida	14,369	150			

a. R cuadrado = ,385 (R cuadrado corregida = ,351)

En la figura 9 se visualiza gráficamente que no hay diferencias significativas para



los tratamientos y los grupos de edades en relación con la variable peso promedio.

Figura 9. Gráfico de perfil que muestra las medias de la variable peso promedio de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.

4.3 Variable porcentaje de supervivencia

Existieron diferencias significativas entre la variable supervivencia y los tratamientos de algas (tabla 11).

Tabla 11. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para la variable dependiente porcentaje de supervivencia.

	% supervivencia
Chi-cuadrado	31,285
gl	2
Significación asintótica	0,000
a. Prueba de Kruskal-Wallis	
b. Variable de agrupación: Tratamiento (cel/ml)	

En cuanto a la interacción de los subconjuntos homogéneos de datos del tratamiento 1 con el testigo, la variable supervivencia no tiene diferencias significativas (tabla 12).

Tabla 12. Resultados de la prueba paramétrica de Tukey para la variable porcentaje de supervivencia.

% supervivencia			
HSD de Tukey			
Tratamiento (cel/ml)	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Mayor de 500 000	48	76,394	
Menor de 500 000	48		96,527
Testigo (0)	64		100,00
Significación		1,000	0,713

En lo que respecta al tratamiento 2, edad 3 el porcentaje de supervivencia fue estadísticamente significativo (tabla 13).

Tabla 13. Resultados del ANOVA univariante de la variable dependiente porcentaje de supervivencia de los camarones en relación con las concentraciones de microalgas y los grupos de edades.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: % supervivencia					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	37145,813 ^a	8	4643,227	11,673	0,000
Intersección	1213597,691	1	1213597,691	3050,975	0,000
Tratamientos (cel/ml)	21238,230	2	10619,115	26,696	0,000
Edad de los camarones	10475,612	2	5237,806	13,168	0,000
Tratamientos * edad	11735,507	4	2933,877	7,376	0,000
Error	60063,837	151	397,774		
Total	1447808,900	160			
Total corregida	97209,650	159			

En los resultados del ANOVA de un factor de inter e intra grupos, no existe diferencias significativas para las variables talla promedio y peso promedio, pero para la variable porcentaje de supervivencia es todo lo contrario (tabla 14).

Tabla 14. Resultados de ANOVA de un factor para las variables dependientes talla, peso y supervivencia.

ANOVA de un factor						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Talla promedio (cm)	Inter-grupos	,647	2	,323	,170	,844
	Intra-grupos	281,827	148	1,904		
	Total	282,474	150			
Peso promedio (g)	Inter-grupos	,071	2	,035	,365	,695
	Intra-grupos	14,299	148	,097		
	Total	14,369	150			
% supervivencia	Inter-grupos	16767,927	2	8383,963	16,363	,000
	Intra-grupos	80441,723	157	512,368		
	Total	97209,650	159			

En la tabla 15 de comparaciones múltiples mediante la prueba Tukey HSD se comparan las variables dependientes con los tratamientos 1, 2, y 3, donde se observa que para las variables talla promedio y peso promedio no existen diferencias significativas en todos los casos, mientras que para la variable supervivencia entre los tratamientos 1 y testigos no hay diferencias significativas, pero al comparar el tratamiento 2 con el tratamiento 1 y testigos si hay diferencias significativas para la variable porcentaje de supervivencia.

Tabla 15. Resultados de comparaciones múltiples de variables dependientes y tratamientos. **Comparaciones múltiples** HSD de Tukey.

Variable dependiente	(I) Tratamiento (cel/ml)	(J) Tratamiento (cel/ml)	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Talla promedio (cm)	Menor de 500 000	Mayor de 500 000	,17245	,29749	,831
		Testigo (0)	,06359	,26349	,968
	Mayor de 500 000	Menor de 500 000	-,17245	,29749	,831
		Testigo (0)	-,10886	,28032	,920
	Testigo (0)	Menor de 500 000	-,06359	,26349	,968
		Mayor de 500 000	,10886	,28032	,920
Peso promedio (g)	Menor de 500 000	Mayor de 500 000	,05458	,06701	,695
		Testigo (0)	,01120	,05935	,981
	Mayor de 500 000	Menor de 500 000	-,05458	,06701	,695
		Testigo (0)	-,04339	,06314	,771
	Testigo (0)	Menor de 500 000	-,01120	,05935	,981
		Mayor de 500 000	,04339	,06314	,771
% supervivencia	Menor de 500 000	Mayor de 500 000	20,1333*	4,6205	,000
		Testigo (0)	-3,4729	4,3220	,701
	Mayor de 500 000	Menor de 500 000	-20,1333*	4,6205	,000
		Testigo (0)	-23,6063*	4,3220	,000
	Testigo (0)	Menor de 500 000	3,4729	4,3220	,701
		Mayor de 500 000	23,6063*	4,3220	,000

Los problemas de mortalidad de los camarones en el tratamiento 2 se acentuaron en edad 3 obteniéndose un porcentaje de supervivencia de 44.4% (figura 10).

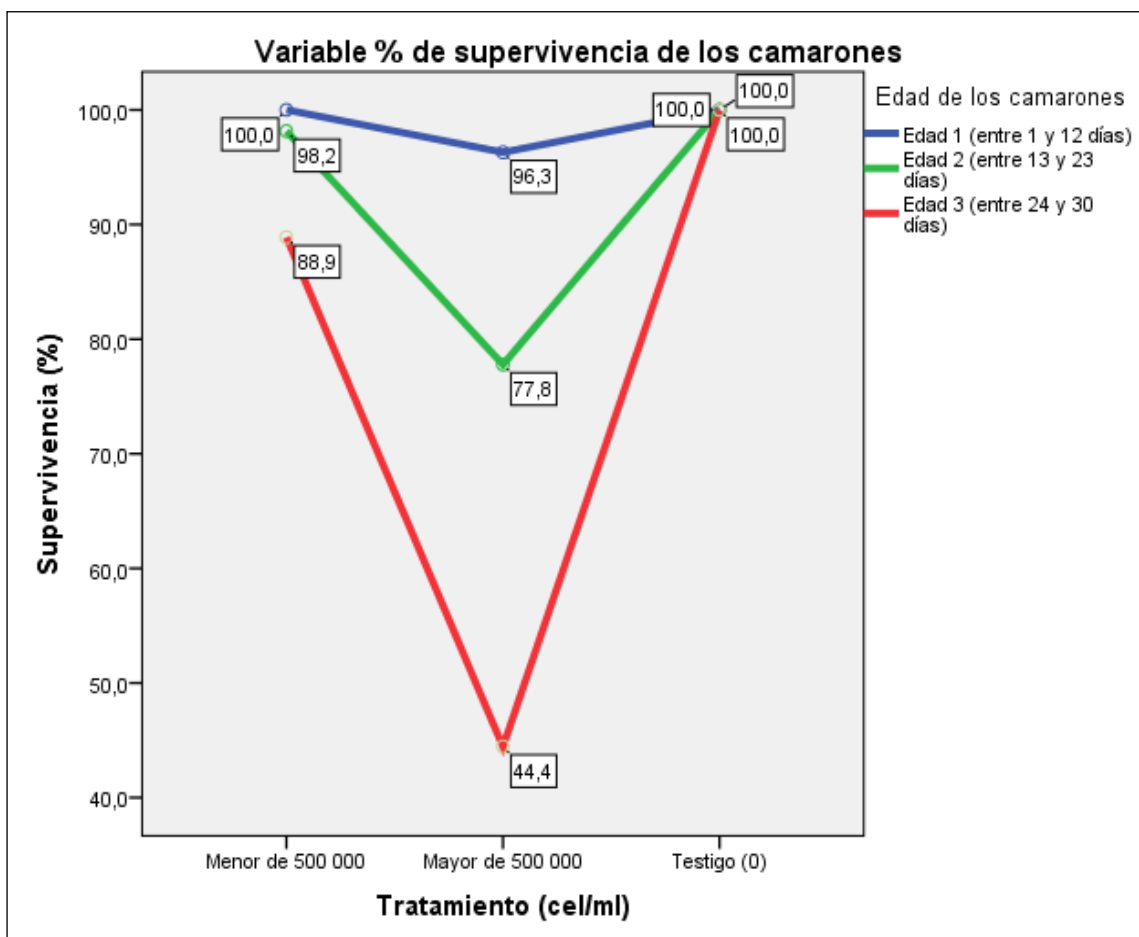


Figura 10. Gráfico de perfil de las medias de la variable porcentaje de supervivencia de los camarones en relación con las concentraciones de algas y los grupos de edades.

En las tablas 16, 17 y 18 se observa los porcentajes de mortalidad en los acuarios con el tratamiento 1, 2 y testigos respectivamente.

Tabla 16. Porcentaje de Mortalidad en acuarios con densidades de algas < a 500.000 cel/ml.

No. ACUARIO	MORTALIDAD (%)
1	0
3	0
5	0
7	0
9	0
17	11.1

Tabla 17. Porcentaje de Mortalidad en acuarios con densidades de algas > 500 000 cel/ml.

No. ACUARIO	MORTALIDAD (%)
2	0
4	100
6	0
8	33
10	100
18	100

Tabla 18. Porcentaje de Mortalidad en acuarios testigos.

No. ACUARIO	MORTALIDAD (%)
11	0
12	0
13	0
14	0
15	0
16	0
19	0
20	0

4.4 Parámetros Físico –Químico del Agua

Durante el ciclo de siembra el oxígeno disuelto varió entre 4 y 6.8 mg/L con un promedio de 5.2 mg/L; la temperatura promedio estuvo en 27.7°C con un mínimo de 25.5°C y 29°C como máximo y pH promedio de 7.45 con datos mínimo de 7 y máximo de 7.8. La salinidad se mantuvo en 20 ppm. En las figuras 11, 12 y 13, se visualizan los valores de las medianas de oxígeno disuelto, temperatura y pH durante el cultivo de juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

En cuanto a los valores del oxígeno disuelto am y pm, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (tablas 18 y 19); mientras que para temperatura am y pm (tablas 20 y 21) y pH am y pm (tablas 22 y 23) no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

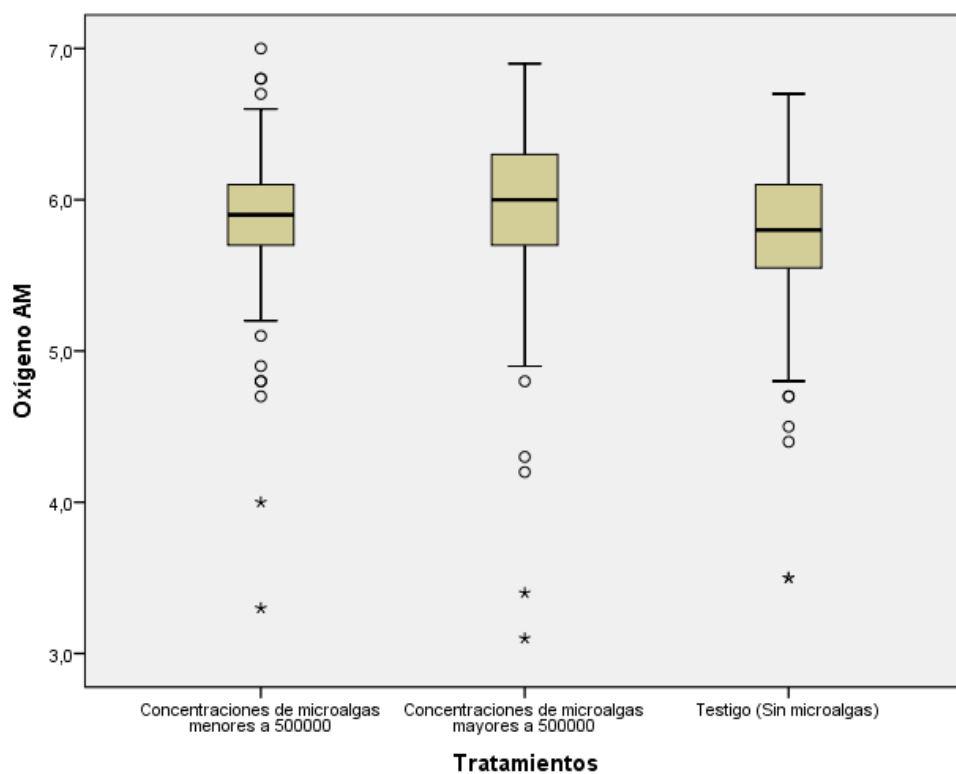


Figura 11. Mediana de los valores de oxígeno de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.

Tabla 19. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para oxígeno disuelto am.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	93,536 ^a	66	,015
Razón de verosimilitudes	99,910	66	,004
Asociación lineal por lineal	5,201	1	,023
N de casos válidos	553		
a. 65 casillas (63,7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,26.			

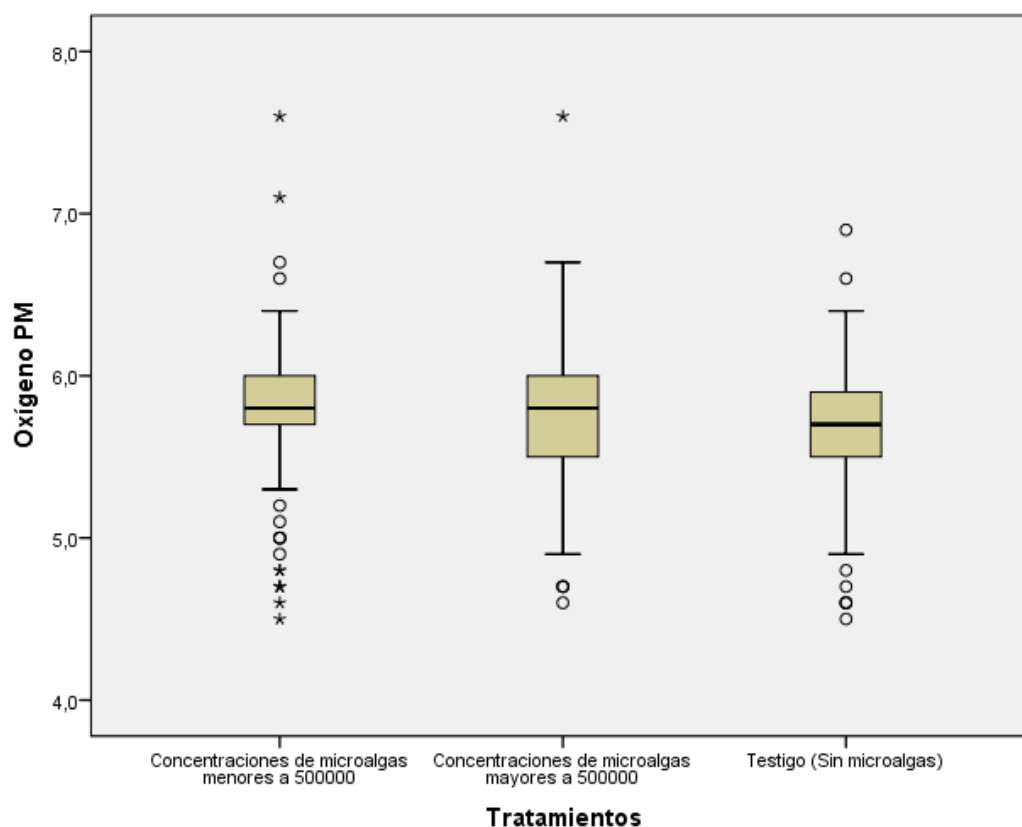


Figura 12. Mediana de los valores de oxígeno de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde.

Tabla 20. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para oxígeno disuelto pm.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	93,226 ^a	50	,000
Razón de verosimilitudes	96,580	50	,000
Asociación lineal por lineal	12,064	1	,001
N de casos válidos	558		

a. 45 casillas (57,7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,27.

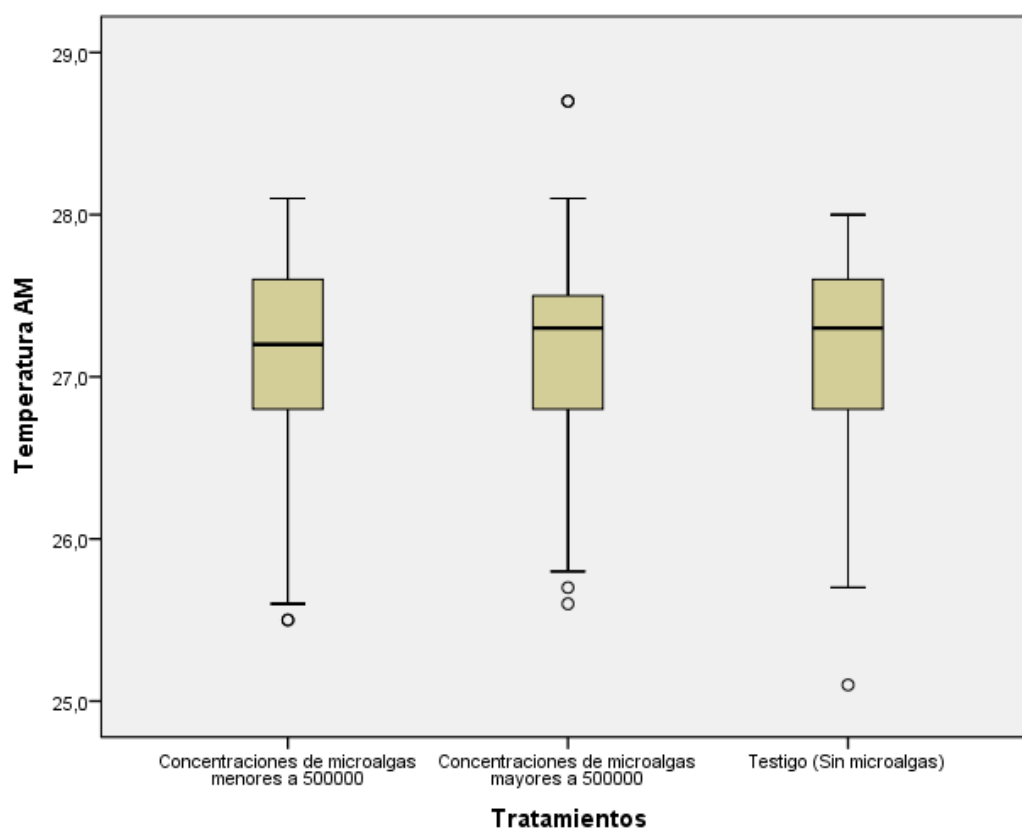


Figura 13. Mediana de los valores de temperatura de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.

Tabla 21. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para temperatura am.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	65,559 ^a	58	,231
Razón de verosimilitudes	73,998	58	,077
Asociación lineal por lineal	,003	1	,960
N de casos válidos	551		
a. 46 casillas (51,1%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,26.			

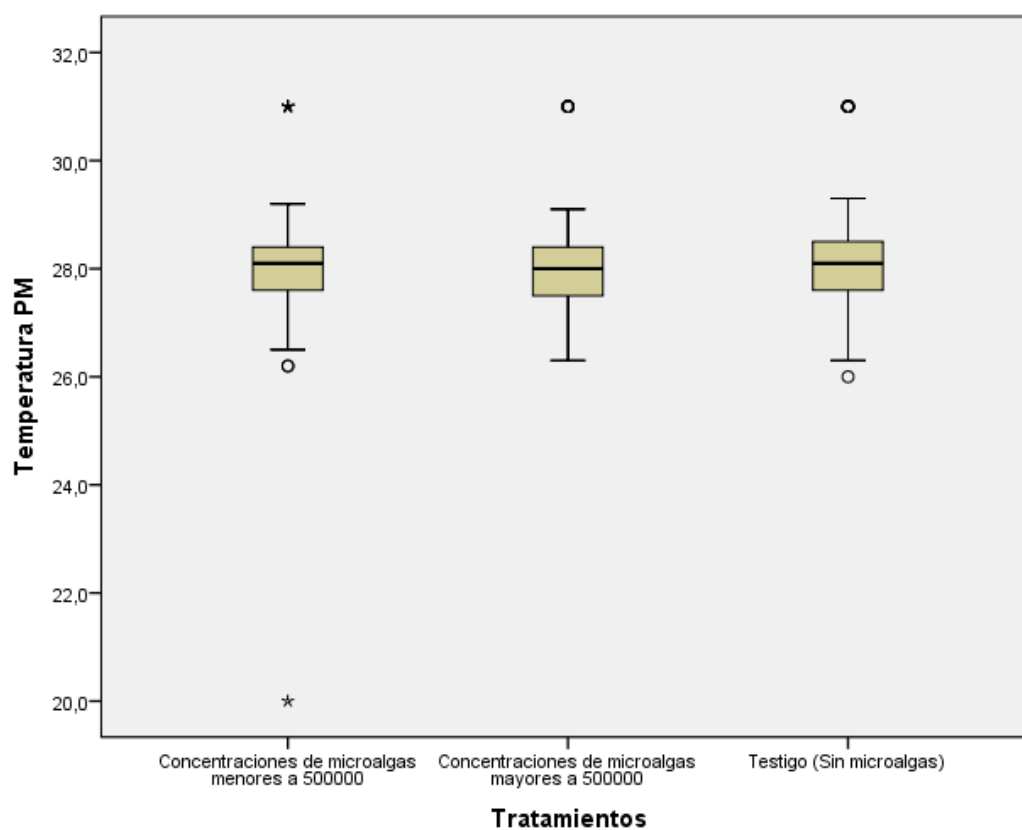


Figura 14. Mediana de los valores de temperatura de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde.

Tabla 22. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para temperatura pm.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	61,084 ^a	66	,648
Razón de verosimilitudes	65,905	66	,480
Asociación lineal por lineal	1,237	1	,266
N de casos válidos	563		
a. 46 casillas (45,1%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,27.			

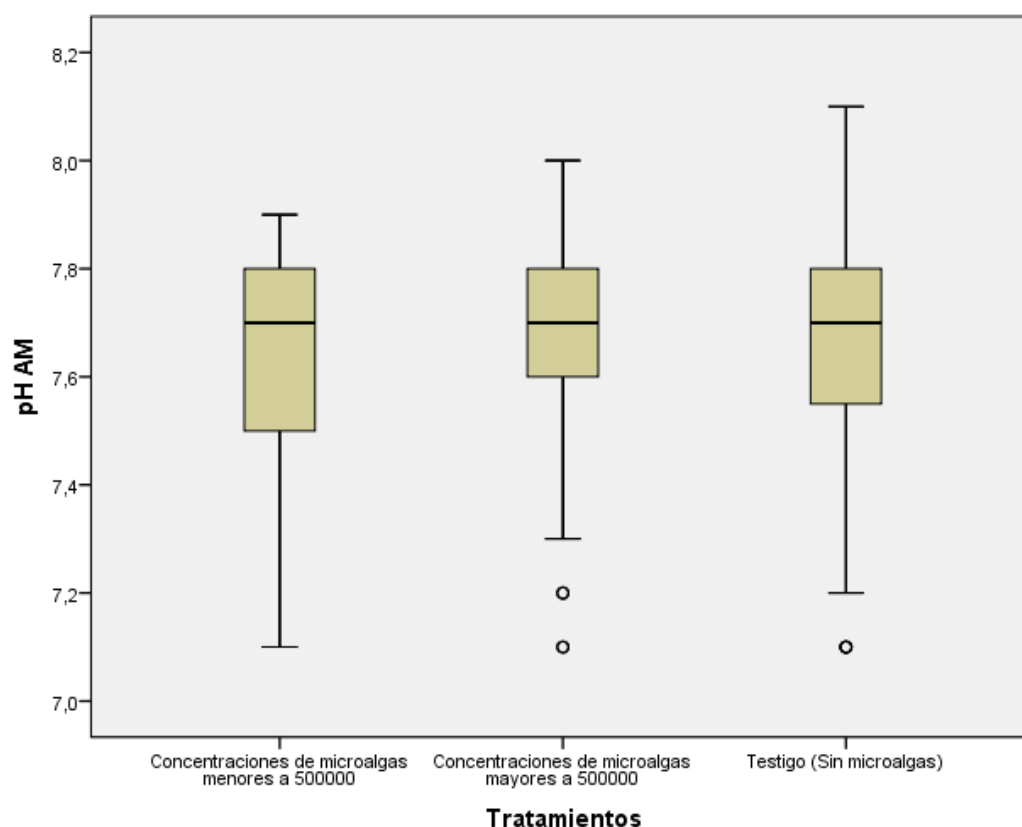


Figura 15. Mediana de los valores de pH de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la mañana.

Tabla 23. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para pH am.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,987 ^a	22	,584
Razón de verosimilitudes	20,944	22	,524
Asociación lineal por lineal	,194	1	,660
N de casos válidos	548		

a. 16 casillas (44,4%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,27.

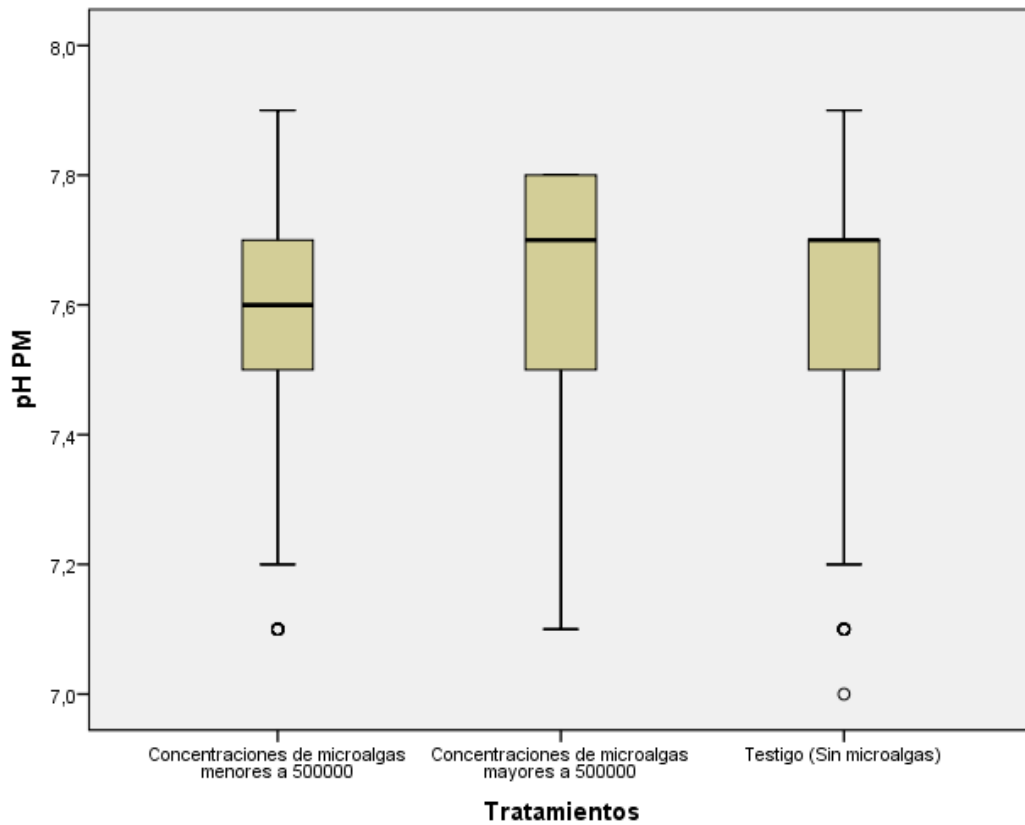


Figura 16. Mediana de los valores de pH de los acuarios con tratamientos 1, 2 y 3 para horarios de la tarde.

Tabla 24. Resultados de la prueba de chi-cuadrado para pH pm.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11,762 ^a	18	,859
Razón de verosimilitudes	12,972	18	,793
Asociación lineal por lineal	,124	1	,724
N de casos válidos	556		
a. 12 casillas (40,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,28.			

En los acuarios con el tratamiento 1 el amonio tóxico no mostró concentraciones críticas, excepto en los acuarios 4 (tratamiento 2) y 15 (testigo) (tabla 25).

Tabla 25. Resultados de los análisis de amonio tóxico expresados en ppm.

Acuario	Amonio tóxico día 9.	Amonio tóxico día 16	Amonio tóxico día 19	Amonio tóxico día 20	Amonio tóxico día 23	Amonio tóxico día 28	Amonio tóxico día 29
1	0,13	0,18	0,33	0,11	0,18	0,04	0,01
2	0,17	0,17	0,19	0,12	0,22	0,25	0,08
3	0,13	0,20	0,22	0,11	0,18	0,02	0,005
4	0,12	0,19	0,72	0,11	-	-	-
15	0,18	0,18	0,77	0,08	0,02	0,02	0,02
17	-	-	-	-	0,24	0,20	-
18	-	-	0,14	0,04	-		-
20	-	-					0,21

4.5 Parámetros -Biológicos

En lo que se refiere a histopatología, técnica que nos permite detectar factores de mortalidad, bajo crecimiento, alteraciones de comportamiento y otros aspectos durante el cultivo. Los resultados determinaron afectación severa de tejidos en los camarones (tabla 26). La picnosis y kariorexis observada en los camarones del acuario 8 es característica de TSV (virus del Síndrome de Taura). En cuanto a las pruebas bacteriológicas, los resultados estuvieron de baja a moderado en cuanto a UFC/ml.

Tabla 26. Resultados de Análisis de Histopatología

ACUARIO	PATOLOGÍA	GRADO	TEJIDOS AFECTADOS
10 > ½ millón cel/ml	Infiltración hemocítica masiva	3-4	Intestino posterior, Ciego.
8 >½ millón cel/ml	Picnosis, Karriorexis.	3	Tejido conectivo. Epitelio subcuticular, intestino posterior, ciego
	Infiltración,hemocítica, Nódulos	2	Hepatopáncreas
	Trofozoitos de gregarinas	1	Intestino medio
17 < ½ millón cel/ml	Nodulos hemocíticos	2	Hepatopáncreas
	Trofozoitos de Gregarinas	2	Intestino medio y anterior
	Nùcleos picnóticos	1	Estómago

5. DISCUSIÓN

5.1. Aislamiento y cultivo de la cianobacteria

Con relación a la metodología usada para el cultivo de microalgas se da mucha importancia a la aireación y la luz artificial cuando se trata de cultivo primario principalmente, sin embargo, en este caso no se utilizó aireación ni luz artificial, aunque Velasco (2000) indica que la aireación produce una mejor uniformidad del medio ya que las células se distribuyen homogéneamente en los recipientes del cultivo, lo cual beneficia, porque tendrá una mayor posibilidad de recibir la iluminación, y también la distribución de los nutrientes se ven favorecidos. El elevado nivel de crecimiento de la microalga en estudio confirma que es una especie productora de grandes florecimientos. Al respecto Andersen (1996) reporta que de las 5 000 especies descritas de algas marinas aproximadamente 300 pueden presentar floraciones. Bonilla y Aubriot (2009) reportaron que en Uruguay se han registrado 5 géneros de cianobacterias planctónicas formadoras de floraciones del orden Chroococcales. Otro factor que pudo haber favorecido el crecimiento sería el tipo de medio de cultivo que se utilizó.

Con relación a la salinidad se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a lo expresado por otros autores, por ejemplo Zambrano (1989) reporta que el rango de salinidad de esta microalga está entre 2 y 5 ppt, sin embargo en salinidades de 20 ppt tuvo un gran florecimiento. Constituyéndose entonces en una especie eurihalina. .

5.2. Bioensayo de la proliferación algal

5.2.1 ¿Por qué escoger la División Cyanophyta para este estudio?

La presencia de este grupo en las piscinas, generalmente viene acompañado por características típicas: como la concentración baja de nitratos, el mismo que es

un nutriente muy importante para el crecimiento de las diatomeas; es un grupo de bastante fijación de nitrato (Stein, 1972).

El caso de *Chroococcus turgidus* demuestra en este bioensayo, que esta microalga afecta los cultivos acuícolas cuando su florecimiento está por encima de las 500 000 cel/ml., produciendo una mortalidad de los camarones juveniles que es estadísticamente significativa, Aunque para los parámetros talla y peso las pruebas estadísticas no arrojaron diferencias significativas, existe la tendencia de una afectación de esta microalga sobre los organismos. Para futuros estudios cabe ampliar el periodo de pruebas hasta por 60 días para verificar el efecto de la cianobacteria en los camarones. Un estudio sobre los géneros *Chroococcus naegeli* y *Chroococcus limneticus* corrobora lo expresado aquí, cuando indica que una proliferación de estas algas puede ser indicativa de que en el cultivo hay variaciones bioquímicas y podrían estar afectando al camarón, por lo cual se recomienda precaución (Zambrano, 1989).

5.2.2 Actividad de los organismos

Respecto a los organismos sometidos a densidades sobre el medio millón de células por mililitro, se observó claramente una reducción de su actividad a medida que pasaban los días, y crecía la microalga. Esto corresponde a lo mencionado por Villón y Baños (2005) en su estudio sobre “Bioensayos en Organismos” que describen que hay dos categorías generales de efectos tóxicos que pueden ser reconocidos: a) toxicidad aguda (una dosis grande de corta duración): y b) toxicidad crónica (a baja dosis de toxicidad por un periodo grande) puede ser letal (causa la muerte) o subletal (por debajo del nivel que causa directamente la muerte). Lightner (1978) y Smith (1996) reportan la presencia de toxinas producidas por cianobacterias en concentraciones sub-letales que probablemente causan el debilitamiento del camarón haciéndolo propenso a infecciones bacterianas secundarias. Los resultados indican que la microalga *Chroococcus turgidus* es tóxica cuando forma florecimientos, lo que concuerda con Nuñez (1995) que reporta a esta microalga como tóxica.

5.2.3 Parámetros físicos, químicos y bacteriológicos

En cuanto a los parámetros físicos y químicos, no tuvieron diferencias significativas si lo comparamos con los rangos normales en un cultivo acuícola de camarones. Respecto a lo reportado en otros trabajos, Tsai (1990) considera que el rango óptimo de pH para los cultivos de camarón es de 5.5 a 8.5. Boyd (1989) indica que un pH entre 6 y 9 es el mejor para el crecimiento de camarones. En los acuarios el rango fluctuó entre 7.1 y 7.9, lo que nos indica que este parámetro se presentó dentro del rango óptimo.

En el caso de Limsuwan (2005) la temperatura óptima de cultivo debe fluctuar entre 27 y 31°C. Por debajo de este rango el crecimiento es lento y arriba de 31°C el animal pierde peso por alto, metabolismo. En los acuarios el rango de temperatura osciló entre 26.1 y 29°C, resultados que se encuadran dentro de rangos normales. Limsuwan también reporta que el nivel mínimo de oxígeno disuelto en un cultivo es de 4 ppm. En los acuarios el oxígeno disuelto estuvo entre 5.4 y 6.6 ppm, lo que nos indica rangos permisibles. Hubo dentro de los 3 tratamientos y en pocos acuarios valores sobre 3ppm de oxígeno disuelto que se podrían llamar perdidos ya que se presentaron una vez en los inicios de ciclo y por corto tiempo lo cual no representó mortalidades en los organismos.

Por otro lado la medición del amonio no ionizado (tóxico) en los acuarios donde se mantenía el florecimiento algal, presentó concentraciones no críticas, aunque Boyd (1990) reporta que generalmente cualquier cantidad medible de amoniaco afectará el crecimiento de los animales, solo en el acuario 4 del tratamiento 2 y el acuario 15 testigo presentaron concentraciones críticas de amonio no ionizado con una densidad de algas de 2 millones cel/ml para el acuario 2.

Al respecto Boyd (1990) reporta 0,4 ppm como concentración crítica de amonio tóxico, También indica que para evitar la acumulación de amoniaco hasta niveles tóxicos durante la etapa del cultivo, es recomendable favorecer la

remoción mediante las cianobacterias y/o algas fotosintéticamente activas que se desarrollan en el bentos. Burford (1997) describe que en piscinas de producción, las concentraciones de amonio total y fósforo soluble reactivo son más bajas en presencia de una población fitoplanctónica con crecimiento rápido. Esto no concuerda con lo observado en el acuario 4 y en los otros acuarios en tratamiento en los cuales el amonio por el nivel de biomasa fitoplanctónica que presentaban debió ser más bajo; es verdad también que con el aumento de la alimentación aumenta el amoniaco total sumado a ello un incremento de pH y temperatura, situaciones que no sucedieron en los acuarios. En el acuario 15 el amoniaco también mostró concentración crítica, pero éste actuaba como testigo por lo tanto no recibía algas que pudiera evitar la acumulación de este parámetro. Este resultado podría significar que *Chroococcus turgidus* no favorece precisamente a una absorción total del amonio tóxico y que más bien se presenten variaciones bioquímicas en el agua.

Sin embargo Velasco (2013) señala que las cianobacterias son captadoras del nitrógeno atmosférico y Stein (1972) indica que estas cianobacterias son un grupo de bastante fijación de nitrógeno, lo que explicaría la concentración del amonio tóxico en los acuarios con el florecimiento, ya que el amonio tóxico es nitrógeno de amonio. Igualmente Zambrano (1989) menciona que la proliferación de esta cianobacteria causa variaciones bioquímicas en el agua que afectan al camarón. Boyd (1989) indica que los estanques de por sí contienen más de 2 ó 3 mg/l de nitrógeno de amonio total. Obviamente la toxicidad del amonio será un problema mayor a pH altos y temperaturas altas, lo que no pasó en este bioensayo, cuyos parámetros abióticos estuvieron dentro de los rangos normales. Es difícil evaluar las concentraciones de amonio en los estanques debido al ciclo diario en pH. Las concentraciones de amonio no ionizadas cambian continuamente. La toxicidad del amonio generalmente es expresada en la reducción del crecimiento en lugar de la mortalidad (Boyd 1989). Por lo tanto no podríamos atribuir la mortalidad de los animales del acuario 4 al aumento del amonio tóxico.

Es importante recordar que el medir la cantidad de amonio total en el agua no nos dice nada ya que puede estar en cualquiera de sus siguientes formas: $\text{NH}_3 \leftrightarrow \text{NH}_4 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO}_3$. Debido a ello se determinó en este bioensayo amonio tóxico o amoniaco no ionizado.

En relación a los resultados obtenidos de los exámenes histopatológicos, la respuesta inflamatoria en los tanques 8 y 10 del tratamiento 2 seria causada por una agresión de tipo ambiental, que en este caso se puede atribuir al florecimiento de la cianobacteria ya que no habían otros parámetro fuera de los rangos permisibles. En realidad fueron pocas las muestras para los exámenes histopatológicos pero el costo de los mismos influyó para que no se muestreen más acuarios. En cuanto a los resultados de las pruebas bacteriológicas la tendencia fue similar en los acuarios muestreados, lo que no implicaría un efecto negativo que pudiera alterar severamente los parámetros de crecimiento y sobrevivencia de los camarones.

6. CONCLUSIONES

En base de los resultados encontrados en este estudio, se puede concluir que:

Se determinó que la microalga *Chroococcus turgidus* tiene un impacto negativo sobre el porcentaje de sobrevivencia en juveniles de *Litopenaeus vannamei*, no así en el crecimiento e incremento en peso.

En los bioensayos se establece que las dosis letales de la microalga se encuentran sobre los 500 000 células por mililitro.

Después de tres semanas de ser sometidos los juveniles de *Litopenaeus vannamei* a un Bloom superior a medio millón de células por mililitro, un poco más de la mitad de los animales murieron.

La exposición sostenida al florecimiento de la microalga en mención provoca en los organismos cultivados efectos patológicos y mortalidad.

Las concentraciones menores de 500 000 cel/ml no presentaron efecto significativo sobre las variables talla, peso y supervivencia de los camarones en estados juveniles.

7.- RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar un estudio sobre *Chroococcus turgidus* en el laboratorio para identificar sus productos tóxicos que puedan colapsar el cultivo acuícola.
- 2.- Profundizar en el conocimiento de la ecofisiología de esta cianobacteria en lo que respecta a tolerancia de salinidad.
- 3.- Realizar bioensayos para determinar si esta microalga se asocia con el mal sabor del camarón.
- 4.- Ejecutar programas de monitoreo para otras cianobacterias tóxicas y no tóxicas, ya que la producción acuícola se va a duplicar en los próximos 10 años, según la FAO y seguirá dando respuestas en la generación de empleos y divisas a diferentes países de Iberoamérica.
- 5.- Realizar bioensayos con postlarvas 10-15 y juveniles de camarones a partir de 2 gramos de peso para monitorear la incidencia de esta cianobacteria especialmente en lo relacionado a crecimiento e incremento en peso, por un periodo mínimo de 45 días.
- 6.- Efectuar un control diario del fitoplancton en piscinas camaroneras para evitar problemas de mortalidad por florecimiento de *Chroococcus turgidus*.
- 7.- Mantener en las piscinas camaroneras densidades de *Chroococcus turgidus* menores a 500 000 cel/ml.
- 8.- Realizar bioensayos con florecimientos de *Chroococcus turgidus* con un monitoreo diario del amonio tóxico para analizar la incidencia sobre cultivos acuícolas.

8. ABREVIATURAS UTILIZADAS

c/ml: células por mililitro

L: litros

pH: Potencial de hidrógeno

°C: Grados centígrados

T.C.B.S.: Agar selectivo para vibrios

g: gramos

mg/L: Miligramos por litro

ADN: Ácido desoxirribonucleico

%: Porcentaje

PSI: Fotosistema I

PSII: Fotosistema II

9. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, H. 1994. Manual de Microalgas. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. pp. 46.
- Boyd, C. E., E.E. Prather, and R. W. Parks. 1975. Sudden Mortality of Massive Phytoplankton Bloom. *Weed Sci.*, 23: 61-76.
- _____, 1989. Manejo de la calidad del agua y aireación en el cultivo de camarón. Fisheries and Allied Aquacultures Departamental Series N0. 2, Alabama Agricultural Experiment. Station, Auburn University, Alabama. pp 53-55.
- Brown, S.W. and Boyd, C. E. (1982). Off-Flavor in Channel Catfish from Commercial Pons. *American Fisheries Society*, 111: 379-383.
- Coello, D. 2007. Marea roja ocasionada por *Scrypsiella trachoidea* en el Estuario del rio Chone. *Revista de Ciencias del mar y Limnología*. (Ecuador). 4(2): 93-98.
- Cruz M. 2010. Pterópodos y Heterópodos como bioindicadores del Evento El Niño y su relación con la temperatura y salinidad en la Costa Ecuatoriana.1990-2007. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Maestría en Ciencias Manejo Sustentable de Biorrecursos y Medio Ambiente, Tema Maestría. pp. 1-24.

Coello D., Prado M. Cajas J. Y L. de Cajas. 2007. Variabilidad del Plancton en Estaciones fijas (1999-2006). INP. Guayaquil-Ecuador. Reporte interno. pp. 23.

Cornejo M. 2011. El Bentos y su importancia en piscinas de productos de camarón. San Pedro de Manglaralto. Ecuador. Edición 84. pp. 34-36.

Carre, Jr., R. Janeo, C.M. Caipang y A.T. Calpe. 2000 Reservorios con “agua verde” y otros concejos filipinos para el cultivo de camarón. *Acuaculture Asia*. (Filipinas 5 (2): 1-2.

Cuéllar-Anjel, J., C. Lara, V. Morales, A. De Gracia y O. García Suárez. 2010. Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo de camarón blanco *Penaeus vannamei*. OIRSA-OSPESCA, C.A. pp 132.

Ching, C. 1999. Evaluación y Siembra de Post-larvas de camarón marino. *Álicorp-Nicovita*. (Perú). 4(11): 1-2.

Chien, Y-H. (1992). Water quality requirements and management for marine shrimp culture. Pages: 144-156.

De León, L. 2002. Floraciones de cianobacterias en aguas continentales del Uruguay: causas y consecuencias. En: *Perfil Ambiental del Uruguay 2002*, Domínguez, A. y R. G. Prieto (eds), Nordan. Comunidad. Montevideo, pp. 28-37.

Elizalde, D. 2011. Conocimiento, Control y Evaluación del Plancton en piscina camaronera. Proyecto de tesis. Universidad Técnica de Machala. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Acuicultura. pp. 31.

ERFEN. 2008. Fenómeno El Niño. Comisión Permanente del Pacífico Sur (CPPS). Guayaquil-Ecuador. pp. 15.

FAO. 2005. Biotoxinas, Marinas. Proyecto “Tóxicas Naturales”. Instituto Nacional de Salud Pública y el Medio Ambiente de los países bajos. pp. 227.

Guzmán R. 1993. Catálogo de Organismos Fitoplanctónicos identificados en el Río Guayas. Boletín Científico y Técnico. INP. Ecuador. 12(4).

González A. 1988. El Plancton de las aguas continentales. Editora: Eva V. Chesneau. Secretaria General de la Organización Estados Americanos. Venezuela. pp. 109.

González, E. Ortas, M., Peñaherrera, C., y Matos, M. 2004. Fitoplancton de un Embalse Tropical Hipertrófico. (PAO-Cachinche, Venezuela): Abundancia, Biomasa y Producción Primaria. *VERCIENCIA*, 29(10), 548-554.

Haase, B.J.M. (2011) Aves marinas de Ecuador continental y acuáticas de las piscinas artificiales de Ecuasal. *Aves&Conservación*, BirdLife en Ecuador y Ecuasal C.A. Financiada por Ecuatoriana de Sal y Productos

Químicos C.A. (Ecuasal), Acta para la Conservación de las Aves Migratorias Neotropicales del Servicio de Vida Silvestre de los Estados Unidos y, el Servicio de Vida Silvestre de Canadá. Guayaquil, Ecuador. pp. 170.

Herrera, A. Sierra, A. Hernández, N. Floraciones Algales Nocivas: Perspectivas y Estrategias Biotecnológicas Para su Detección. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. México. pp. 23-40.

Jiménez, R. 1991. Análisis de Gregarinas asociado al detenimiento de crecimiento en camarones *Penaeus vannamei*, (Parte 1). Acuicultura del Ecuador. No. 16-Nov. pp 38-42.

Jiménez, R. 2008. Aspectos Biológicos de El Niño en el Océano Pacífico Ecuatorial. Poligráfica C.A. Guayaquil- Ecuador. pp. 330.

Lovel, R.T. and Broce, D. (1985). Cause of musty flavor in pond-cultured penaeid shrimp. *Aquaculture*, 50: 169-174.

Malavè, J. 2006. Ocurrencia del problema de malos sabores (Off-flavor) en camarones cultivados en las zonas de Bahía de Caràquez y Pedernales, Provincia de Manabì, Ecuador, durante el periodo de Mayo-Septiembre del 2004. Universidad Estatal Península de Santa Elena, Facultad de Ciencias del Mar, Tesis de Grado. pp. 21-40.

Matus, M. 2010. Determinación de saxitoxinas en *Synechococcus elongatus* mediante bioensayo en ratón. Universidad del Mar, Campus Puerto Ángel, Oaxaca, Licenciatura en Biología Marina. pp. 1-6.

Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. Tr. Emilio Ochoa Moreno. 1ª ed. Managua: Editorial – Imprenta UCA, 2001.

Monserrate, M. 2003. Efecto de diferentes regímenes de fertilización sobre la relación fitoplancton-bacterioplancton en mesocosmos. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Maestría en Ciencias, Tema Maestría. pp. 1-14.

Morales, V., Cuellar-Angel, J. 2008. Patología e Inmunología de camarones Peneidos. CYTED. Panamá. Pp 55-106

Murillo, JC., 2008. Abundancia y dinámica poblacional de *Chiton goodallii* y *Chiton sulcatus* en el litoral rocoso de isla San Cristóbal, Galápagos. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Unidad Mérida, Departamento de Recursos del Mar. pp 45-53.

Navarro J. 1998. Diatomeas en Tapetes microbianos de Puerto Rico. Gayana (Puerto Rico). 45(4): 275-281.

Novoa, M., Lujan, A., Luque, M., Lombardo, D. 2011. Distribución temporal del fitoplancton en un lago urbano del centro de Argentina (Río Cuarto, Córdoba). *Biológicas*, 13(2), 1-14.

Nuñez, I., Reyes, ME. 1995. "Contribución al conocimiento del fitoplancton del lago de Chapala, Jalisco, México, durante el periodo de febrero a mayo de 1989, 90 y 91. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tesis profesional para obtener el título de Licenciado en Biología. pp 1-39.

Olivas, J., Cáceres, J., Vásquez, R. 2010. Patógenos que afectan el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en ambiente marino y dulceacuícola en el estado de Baja California, México. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(03), 1-25

Ochoa, J L., Pérez-Linares, J., Rodríguez, C. y Nuñez, E. 2004. Impactos de Cianobacterias tóxicas en el cultivo de camarón blanco en México. *Panorama Acuícola Megazine*. ¿ ? pp 34-36

Ortiz, J. 2002. Aislamiento, Identificación y Cultivo de Cianobacterias con Potencial Toxicidad sobre Postlarvas de *Litopenaeus vannamei*. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Escuela de Biología. Tema Tesis para optar el título de Bióloga. pp. 1-40

Prado, M. y J. Cajas. 2009. Variabilidad del plancton en Estaciones fijas frente a la Costa ecuatoriana durante el 2008. *Boletín Científico y Técnico*. INP. Ecuador. 20(5): 24-47.

Prieto, M., Mogollón, M., Castro, A., Sierra, L. 2005. Efecto del medio y condiciones de cultivo en la productividad de tres diatomeas marinas con potencial acuícola. *MVZ-Córdova*, 10 (1), 544-554.

Palma, S. Méndez, R., y Castellanos, M. 2011. Métodos de Recolección del Fitoplancton. *Divulgación de Química y Biología*, 2(2), 23-26.

Quiroz-Castelán, H., Molina-Astudillo, F. y Ortega-Salas. 1999. Abundancia y diversidad del fitoplancton en estanques con policultivo de peces, utilizando fertilizantes orgánicos, inorgánicos y combinados. Facultad de Ciencias de la UNAM. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). pp 1-14.

Rojas, A.A., Haws, M.C. y Cabanillas, J.A. ed. (2005). Buenas Prácticas de Manejo para el cultivo de camarón. The David and Lucile Packard Foundation. United States Agency for International Development (Cooperative Agreement No. PCE-A-00-95-0030-05). 49 pp.

Retamales, R. 2014. Inducción al desove de la Concha Prieta *Anadara tuberculosa* en condiciones de laboratorio. *Revista Tilapia y camarones*. (Ecuador) 6(22), 10-16.

Sánchez M. y Zambrano J. 2008. Composición y distribución fitoplanctónica en aguas Ecuatorianas y su relación con los parámetros Físicos-Químicos en octubre del 2005. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, tema tesis de Biólogo. pp. 19-20.

Siguencia R. 2010. Niveles de Coliformes totales y *Escherichia coli* en bivalvos de interés comercial como bioindicador de contaminación microbiológica en el estero Puerto Hondo, Provincia del Guayas-Ecuador. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Maestría en Ciencias Manejo Sustentable de Biorrecursos y Medio Ambiente, tema Maestría. pp. 1-16

Tapia M. 2010. Variabilidad Estacional del fitoplancton y su relación con los parámetros ambientales en Esmeraldas durante 2004-2005. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Maestría en Ciencias, Manejo Sustentable de Biorrecursos y Medio Ambiente, tema Maestría. pp. 135.

Tezanos P. 2008. Influencia de las Macrófitas flotantes en la comunidad fitoplanctónica en un humedal del Bajo Paraná (Reserva natural de Otamendi, Argentina. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, tesis para optar el título de Doctor. pp 1-10

Torres, G. 2000. Mareas Rojas durante 1989-1999, en aguas ecuatorianas. Acta Oceanográfica del Pacífico, INOCAR (Ecuador) (1):127-136.

USDA. (2001). Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. 1ª. ed. Managua: Editorial – Imprenta UCA. pp. 304.

Valadez, F., Rosiles-González, G., Almazán-Becerril, A., 2013. Planktonic Cyanobacteria of the tropical Karstic lake Lagartos from the Yucatan Peninsula, Mexico. Revista Biología Tropical, 61(2), 971-979.

Van Der Ploeg, M. and Boyd C. E. (1991). Geosmin Production by cyanobacteria (Blue-green algae) in Fish Pounds at Auburn, Alabama. *Journal of the World Aquaculture Society*, 22 (4),

Valenzuela, E. Lafarga, F. Millàn, R. y Nuñez F. 2005, Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas* sp. Cultivada con medio F/2 medium and agricultural fertilizers. *Ciencias Marinas*. 31(1^a):79-89.

Velásquez, A., Rosas, J., Cabrera, T., Millán, J., Hernández, M. 2001. Efecto de *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata* y *Dunaliella salina*, sobre el crecimiento poblacional de *Apocyclops distans* en diferentes condiciones de temperatura e iluminación. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 36(2), 189-197

Villón Z., Baños, G. 2005. Bioensayos en Organismos: Generalidades. *Revista de Ciencias Naturales y Ambientales*. 1(1): pp 121-124.

Wyatt T. y Y. Pazos. 1992. Floraciones algales nocivas. Suplemento del *Boletín de Ciencias del Mar*. (EEUU) 62 : 1-2

Zambrano, I. 1989. Manual de Plancton. *Aquanet*. 2(2): pp 45-50

10. GLOSARIO

Aeróbicos.- Organismos que pueden vivir o desarrollarse en presencia de oxígeno diatómico, mientras que si lo necesitan se denominan aerobios estrictos.

Autótrofo.- Organismo capaz de obtener energía usando la luz solar, el agua y algún gas atmosférico, como el dióxido de carbono, el metano, el nitrógeno etc.

Bloom de algas.- Incremento rápido o acumulación de la población de algas en un sistema acuático. En general se consideran que las algas se encuentran en un Bloom cuando su concentración es del orden de cientos a miles de células por mililitro. Las concentraciones en un Bloom de algas pueden llegar hasta valores de millones de células por mililitro.

Bloom de algas nocivos.- Es un Bloom de algas que produce impactos negativos sobre otros organismos mediante la producción de toxinas naturales, daños mecánicos a otros organismos o mediante otros procesos.

Caliper digital.- Es un dispositivo utilizado para medir la distancia entre dos lados opuestos de un objeto.

Cloroplasto.- Órgano celular con estructura lamelar que contiene pigmento clorofílico y carotenoides.

Cromatóforo.- Órgano celular, protector de pigmento, pero desprovisto de estructura lamelar que se encuentra en los esquizomicófitos, fotosintetizadores y en ciertos animales.

Estromatolitos.- Estructuras estratificadas de formas diversas estrepitosas, formados por la captura y fijación de partículas carbonatadas por parte de cianobacterias.

Esclusas.- Paso navegable por el que se accede a un dique.

Estratificado.- Dispuesto en capas.

Fotosistema.- Sistema encargado de captar la luz y de emplear su energía para impulsar el transporte de electrones a través de una cadena de aceptores.

Géisers.- Es una forma de fuente termal que empuja columnas de vapor y agua caliente.

Heterótrofo.- Incapaz de crear su propio alimento, debe consumir a otro organismo o a un producto que este haya creado.

Heterótrofo Facultativo.- Significa que puede oscilar entre no producir su alimento y producirlo, esto se debe a que ciertas células son capaces de incorporar los organelos necesarios para sintetizar sus propios nutrientes, al igual que pueden perder estos organelos.

Karrioresis.- Estallido del núcleo de la célula en restos basófilos. Fase de muerte del núcleo que sucede a la picnosis.

Mucílago.- Sustancia viscosa que se encuentra en ciertos vegetales y que tiene la propiedad de hincharse en contacto con el agua.

Parietal.- De posición periférica; así en algunas algas el cloroplasto está situado cerca de la periferia de la célula.

Protoplasma.- Sustancia que constituye la parte principal y viva de la célula.

Picnosis.- Transformación del núcleo de la célula consistente en una condensación de la cromatina. El núcleo se vuelve homogéneo y se colorea uniformemente. Este fenómeno sería debido a la muerte del núcleo.

Reticulado.- En forma de red.

Trofozoitos.- Es la forma vegetativa activada que se alimenta generalmente por fagocitosis y se reproduce, a diferencia del quiste que es la forma vegetativa infectante y de resistencia, en el ciclo de vida de los parásitos protozoarios.

ANEXOS

Tabla 27. Programa de trabajo diario en sala de Acuarios y Fitoplancton.

1.- Toma de parámetros abióticos
2.- Agitar tubos, fiolas y galoneras de microalgas
3.- Sacar muestras de los acuarios
4.- Contar fitoplancton de los acuarios
5.- Sifonear los acuarios
6.- Renovación de agua
7.- Poner fitoplancton en los acuarios
8.- Contar fitoplancton del cultivo primario
9.- Repicar fitoplancton del cultivo primario
10.- Fertilizar las fiolas y galoneras de fitoplancton
11.- Alimentación con balanceado a los animales
12.- Revisión de contenido estomacal de los animales (heces)
13.-Lavar y desinfectar material
14.- Desinfectar sala de acuarios y de fitoplancton
15.- Revisar actividad de los animales y consumo de balanceado
16.- Pasar datos a las hojas de reporte

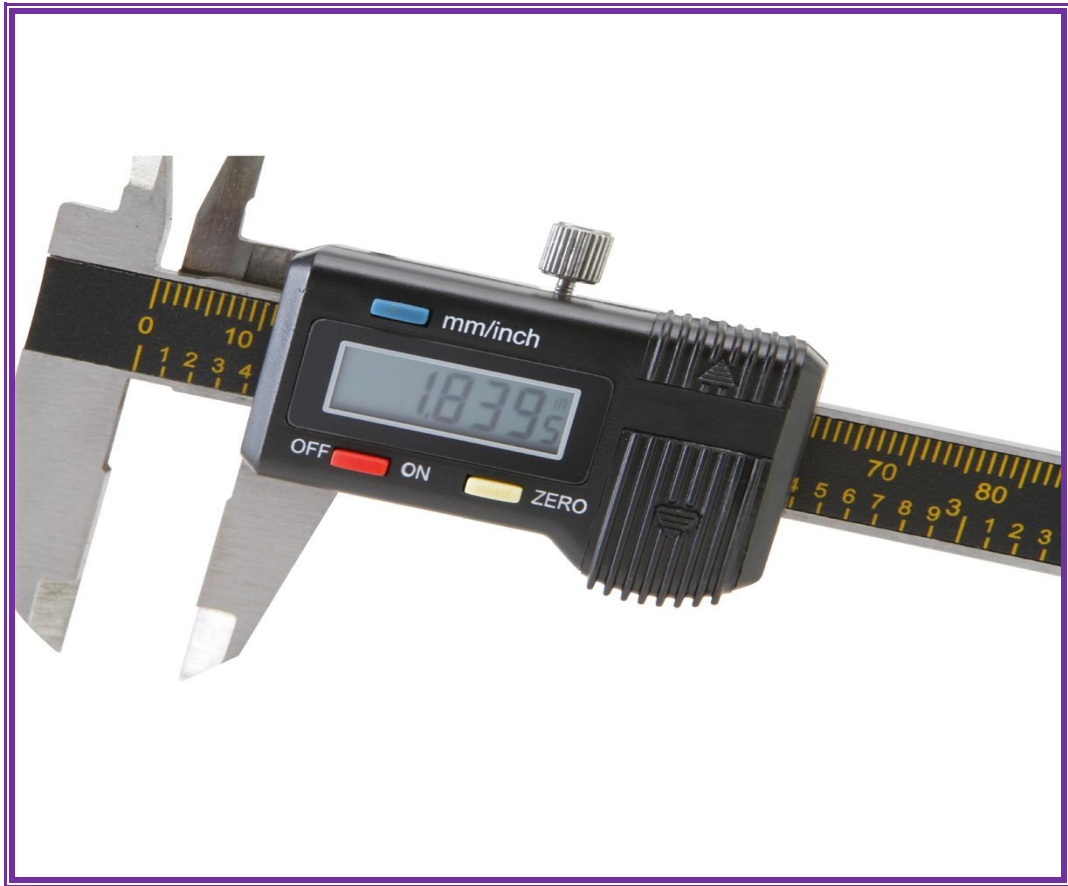


Figura 17. Caliper digital

Tabla 28. Parámetros físicos, químicos y biológicos, Acuario 4.

ACUARIO 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	30
oxígeno am	c	5.0	5.3	6.7	3.1	5.9	6.1	6.0	5.8	5.8	6.2	6.1	6.4	5.9	6.0	5.6				6.2	
oxígeno pm	5.0	5.7	4.7	4.9	5.4	5.6	5.5	5.9		5.5		5.6	5.8	5.8	5.5				5.8	6.0	
temp. Am		27.7	27.7	27.2	27.4	27.8	27.9	27.6	27.0	27.4	27.0	27.5	27.0	26.9	27.9	27.0				27.7	
temp. Pm	31.0	28.0	28.3	28.8	28.6	28.4	28.0	28.1	28.0	28.4		28.0	27.3	27.5	29				28.5	27.6	
salinidad	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
pH am		7.2	7.9	7.3	7.5		7.8	7.8	7.8	7.8		7.8	7.7	7.7	7.3	7.8					
pH pm	7.8	7.7	7.7	7.7	7.8	7.8	7.9	7.8	7.7	7.8	7.7	7.7	7.7	7.7				7.6	7.6		
fito/ml		160.000	32.000	290.000		1.400.000	2.000.000	2.750.000	2.650.000	1.940.000	1.850.000	1.550.000		600.000	550.000	900.000	1.000.000	1.750.000	1.950.000	1.750.000	
fito dosis ml	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
nitrate ppm																					
fósforo ppm																					
recambio		50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	80%

Tabla 29. Tratamientos del Acuario 1

Acuario No.	Día	Tratamiento	No.	oxígeno am	oxígeno pm	temp. Am	temp. Pm	salinidad	Ph am	Ph pm	fito/ml	fito dosis ml	nitrato ppm	fósforo ppm	recambio
1	1	Menos 1/2 millón cel/ml	1		4.7		31.0	20		7.5		300	3	3	
1	2	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.4	4.7	28.1	27.7	20	7.1	7.6	40.000	150	3	3	50%
1	3	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	5.6	27.7	28.2	20	7.7	7.6	20.000	400	3	3	50%
1	4	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.7	5.4	27.5	28.5	20	7.2	7.6	50.000	150	3	3	50%
1	5	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	4.7	27.5	27.6	20	7.7	7.5	50.000	150	3	3	50%
1	6	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.9	7.1	27.7	28.2	20	7.8	7.7	20.000	150	3	3	50%
1	7	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	5.6	27.7	28.1	20	7.8	7.8	200.000	150	3	3	50%
1	8	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.6	5.1	27.3	28.1	20	7.8	7.6	300.000	150	3	3	50%
1	9	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.6	7.6	27.0	28.8	20		7.6	150.000	150	3	3	50%
1	10	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.5	5.7	27.4	28.1	20	7.7	7.5	450.000	150	3	3	50%
1	11	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.9	5.7	27.0	28.0	20	7.5	7.6	200.000	150	3	3	50%
1	12	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	6.0	27.6	28.0	20	7.1	7.7	50.000	150	3	3	50%

1	13	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.2	6.0	27.7	27.2	20	7.5	7.5	50.000	150	3	3	50%
1	14	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.9	5.9	26.9	27.4	20	7.7	7.7	50.000	150	3	3	50%
1	15	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.7	5.8	27.5	29.0	20	7.6	7.5	50.000	150	3	3	50%
1	16	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	6.0	27.8	28.5	20	7.7	7.5	50.000	150	3	3	50%
1	17	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.8	5.5	26.8	28.2	20	7.7	7.4	200.000	150	3	3	50%
1	18	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.3	6.0	26.6	28.2	20	7.5	7.4	150.000	150	3	3	50%
1	19	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.9	5.5	27.2	28.5	20	7.6	7.4	200.000	150			50%
1	20	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.0	6.3	27.8	27.7	20	7.6	7.7	100.000	150			50%
1	21	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.7	5.8	27.6	28.5	20	7.7	7.7	50.000	150			50%
1	22	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.0	6.0	27.5	27.3	20	7.7	7.3	150.000	150			80%
1	23	Menos 1/2 millón cel/ml	1	5.7	6.2	25.8	28.0	20	7.4	7.4	100.000	150			80%
1	24	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.4	6.3	26.2	27.1	20	7.4	7.4	0	150			80%
1	25	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.2	6.3	26.0	27.2	20	7.3	7.4	100.000	150			80%
1	26	Menos 1/2 millón cel/ml	1	6.0	6.3	25.6	26.5	20	7.4	7.1	150.000	150			80%

Tabla 30. Tratamientos del Acuario 8.

Acuario No.	Día	Tratamiento	Camarón No	oxígeno am	oxígeno pm	temp. Am	temp. Pm	salinidad	pH am	pH pm	fito/ml	fito dosis ml	nitrato ppm	fósforo ppm	recambio
8	1	Mayor 1/2 millón cel/ml					31.0	20		7.8		300	3	3	
8	2	Mayor 1/2 millón cel/ml		4.2	5.4	27.5	27.8	20	7.5	7.7	270.00 0	150	3	3	50%
8	3	Mayor 1/2 millón cel/ml		6.4	6.4	27.3	27.6	20	7.7	7.8	260.00 0	400	3	3	50%
8	4	Mayor 1/2 millón cel/ml		6.3	5.9	27.2	28.4	20	7.8	7.7	160.00 0	150	3	3	50%
8	5	Mayor 1/2 millón cel/ml		6.1	6.0	27.0	27.0	20	7.7	7.7	160.00 0	150	3	3	50%
8	6	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.8	6.0	27.2	27.6	20	7.7	7.8	920.00 0	150	3	3	50%
8	7	Mayor 1/2 millón cel/ml		6.0	5.4	27.5	27.8	20	7.8	7.7	500.00 0	150	3	3	50%
8	8	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.3	5.3	27.5	27.3	20	7.8	7.8	850.00 0	150	3	3	50%
8	9	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.4	5.1	27.0	28.0	20	7.8	7.8	1.100. 000	150	3	3	50%
8	10	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.7	5.8	27.2	28.1	20	7.8	7.7	950.00 0	150	3	3	50%
8	11	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.9	5.8	26.8	28.1	20	7.8	7.8	950.00 0	150	3	3	50%
8	12	Mayor 1/2 millón cel/ml		5.9	5.6	27.3	27.7	20	7.8	7.8	450.00 0	150	3	3	50%
8	13	Mayor 1/2 millón cel/ml		6.2	5.8	27.3	26.8	20	7.9	7.7	260.00 0	150	3	3	50%

8	14	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.8	5.4	26.5	27.4	20	7.8	7.8	450.00 0	150	3	3	50%
8	15	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.3	5.8	27.7	28.6	20	7.8	7.8	400.00 0	150	3	3	50%
8	16	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.3	5.6	27.6	27.2	20	7.8	7.7	450.00 0	150	3	3	50%
8	17	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.4	5.0	26.6	27.8	20	7.8	7.4	350.00 0	150	3	3	50%
8	18	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.4	5.5	26.4	27.9	20	7.5	7.4	600.00 0	150	3	3	50%
8	19	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.7	5.8	27.0	28.3	20	7.7	7.4	400.00 0	150			50%
8	20	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.0	5.9	27.6	27.5	20	7.2	7.5	900.00 0	150			50%
8	21	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.7	5.1	27.5	28.6	20	8.0	7.6	500.00 0	150			50%
8	22	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.5	5.6	27.4	27.0	20	7.4	7.6	500.00 0	150			50%
8	23	Mayor 1/2 millón cel/ml	5.9	6.1	26.1	28.0	20	7.5	7.4	450.00 0	150			80%
8	24	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.4	6.4	26.1	27.0	20	7.4	7.6	450.00 0	150			80%
8	25	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.7	6.2	25.6	26.7	20	7.3	7.5	550.00 0	150			80%
8	26	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.5	4.6	25.8	26.7	20	7.1	7.5	350.00 0	150			80%
8	27	Mayor 1/2 millón cel/ml	6.6	5.8	25.8	27.8	20	7.4	7.1	300.00 0	150			80%

Tabla 31. Coordenadas Geográficas UTM de la camaronera.

PUNTO	LATITUD N	LONGITUD E
CAMPAMENTO CAMARONERO		
1	9740798	627739
2	9740816	627163
3	9741654	627006
4	9741849	626656
5	9742991	626698
6	9743002	626324
7	9742277	626294
8	9741781	624989
9	9741922	624754
10	9742789	624458
11	9743255	624000
12	9743517	623807
13	9744614	624291
14	9746496	624391
15	9746721	625168
16	9745301	625532
17	9746547	626185
18	9747721	626148
19	9748435	626381
20	9748584	625987
21	9749200	625711
22	9749506	625817
23	9748840	626231
24	9749275	626866
25	9747824	627548
26	9747566	626945
27	9745569	627037
28	9743054	626332

Tabla 32. Distribución de los acuarios.

No. ACUARIO	CIANOBACTERIAS < 500.000 c/ml	CIANOBACTERIAS > 500.000 c/ml	TESTIGO
1	X		
2		X	
3	X		
4		X	
5	X		
6		X	
7	X		
8		X	
9	X		
10		X	
11			X
12			X
13			X
14			X
15			X
16			X
17	X		
18		X	
19			X
20			X

FOTOS



Figura 18. Cultivo de *Chroococcus turgidus* para alimentar a los juveniles de *Litopenaeus vannamei*.



Figura 19. Contaje de la Cianophyta en el laboratorio.



Figura 20. Mantenimiento de fitoplancton en el laboratorio.



Figura 21. Fiolas con luz natural indirecta para el cultivo de *Chroococcus turgidus*.



Figura 22. Piscina 34-B, donde fueron pescados los juveniles de *Litopenaeus vannamei*.



Figura 23. Pesca de juveniles de *Litopenaeus vannamei* para bioensayos.



Figura 24. Control de bioensayos en laboratorio.



Figura 25. Cultivo primario de *Chroococcus turgidus* en el laboratorio.



Figura 26. Determinación de parámetros físicos en el laboratorio.

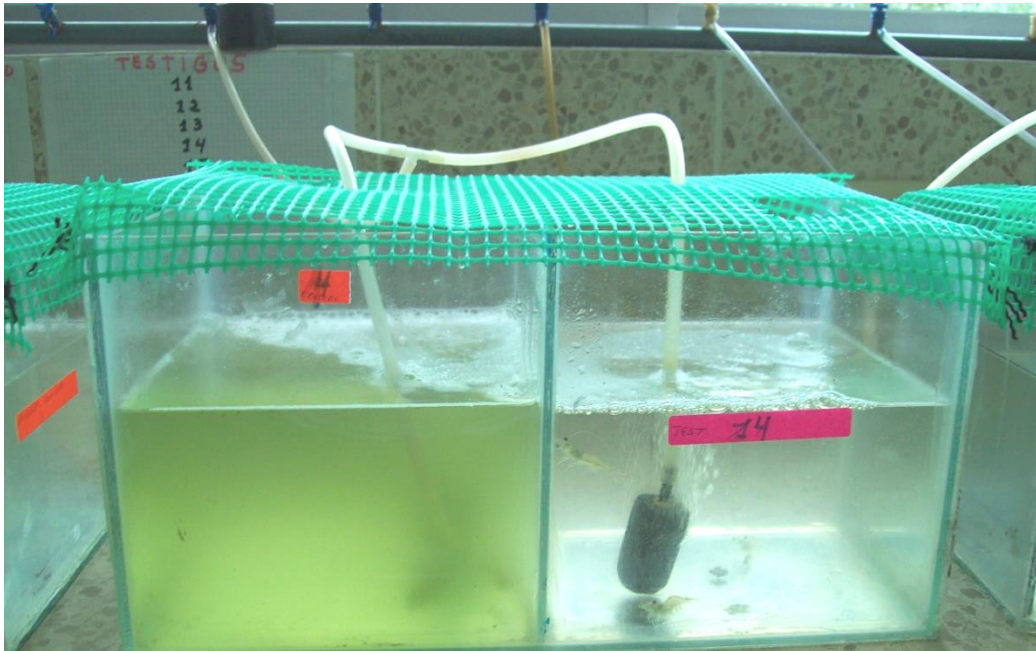


Figura 27. Acuario con tratamiento (Bloom de algas) y acuario control sin tratamiento.



Figura 28. Diseño experimental.

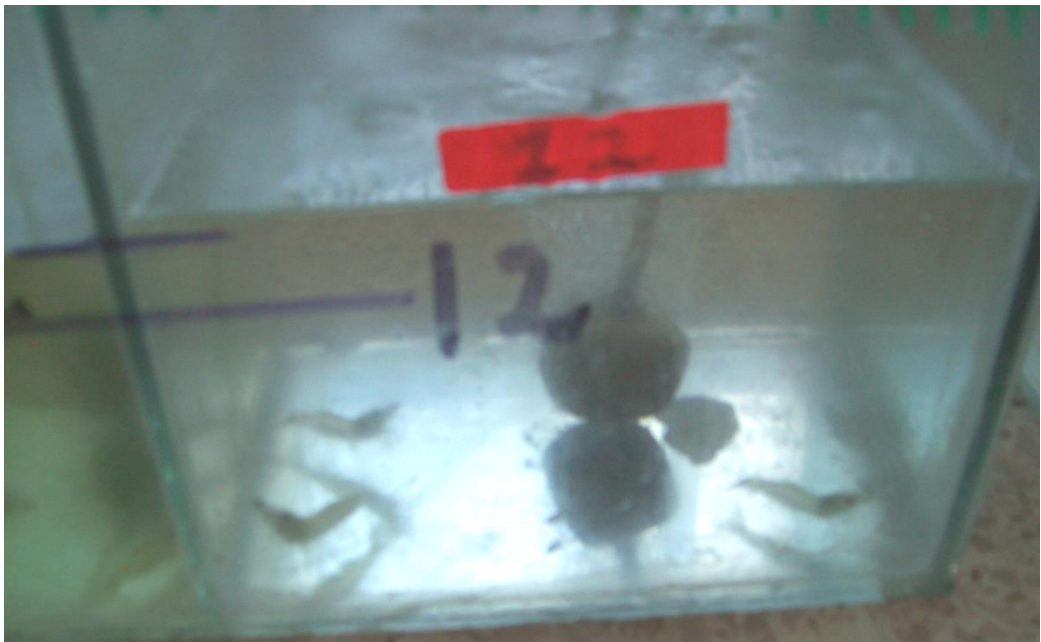


Figura 29. Acuario control sin tratamiento.