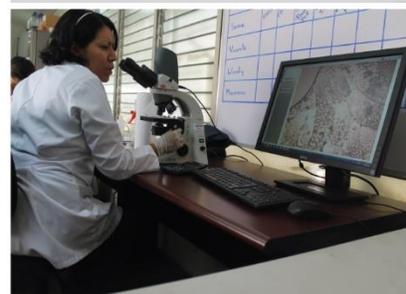




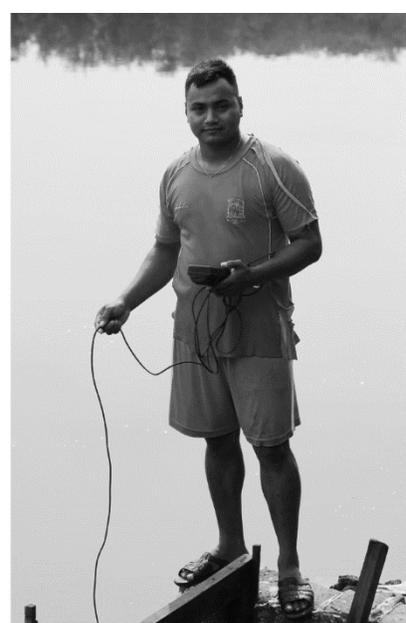
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SANTA ANA DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN



Evaluación molecular de la presencia de AHPND/EMS en *Penaeus vannamei*, calidad de agua y suelo de estanques de camaroneras de la bahía de Jiquilisco, El Salvador

Mildred Sandoval / Alberto Olivares / Cecilia Flores /
Wendy Archila / Imelda de Aguilar





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SANTA ANA DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN



Evaluación molecular de la presencia de AHPND/EMS en *Penaeus vannamei*, calidad de agua y suelo de estanques de camaroneras de la bahía de Jiquilisco, El Salvador

Mildred Sandoval / Alberto Olivares / Cecilia Flores /
Wendy Archila / Imelda de Aguilar



Ing. M.Ed. Sergio Ernesto Carranza Vega, Rector; Dr. Guillermo Antonio Martínez Mendoza, Vicerrector; Lcda. M. Ed. Mónica Zoraida Luna de Acosta, Secretaria General; Lcda. Laura Margarita Montis de Lacayo, Administradora General y Financiera; Lcda. MSc. Yanira Campos de Huezco, Administradora Académica; Dra. M.Ed. Mercedes Morán de Medina, Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud; Lcda. MSc. Aura Leonor García, Decana de la Facultad de Ciencias Sociales; Lcda. MSc. Aracely Aguirre, Jefa del Departamento de Proyección Social y Extensión Universitaria; Lcda. María Rocío Cubías, Coordinadora Editorial Universitaria.

Ficha Bibliográfica

639.543

E92

Evaluación molecular de la presencia de AHPND/EMS en *Penaeus Vannamei*, calidad de agua y suelo de estanques de camarones de la bahía de Jiquilisco, El Salvador / Mildred Sandoval, Alberto Olivares, Cecilia Flores, Wendy Archila, Imelda de Aguilar. — 1ª ed. -- Santa Ana, El Salv. : Editorial Universitaria UNASA, 2018. 76 p. : il. ; 27 cm.

SV

ISBN 978-99961-993-9-4

1. Camarones – Cultivo – El Salvador. 2. Camarones – Enfermedades. 3. *Penaeus vannamei*. I. Sandoval, Mildred Amparo, 1981-coaut. II. Título.

1ª. Edición, 2018, publicada por Editorial Universitaria UNASA

ISBN: 978-99961-993-9-4

© Universidad Autónoma de Santa Ana, UNASA

© Mildred Amparo Sandoval

© Alberto Olivares Menay

© Imelda Lizeth Vega de Aguilar

© Ana Cecilia Flores

© Wendy Karina Archila de Miranda

Colaboración:

Yenia Olinda Vargas de López

Reina Maribel Castillo de Solórzano

Reina Elizabeth Rosales de Ramón

Vicente Alvarado

Ilustrador: Leida Guadalupe Monterroza

Fotografías tomadas por el equipo investigador.

Universidad Autónoma de Santa Ana

Autopista Sur Poniente, Km 63½, Santa Ana

PBX: (503) 2440-0245

Sitio Web: www.unasa.edu.sv

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS DE ESTA OBRA O CUALQUIERA DE SUS PARTES NO PUEDE SER REPRODUCIDO TOTAL O PARCIALMENTE, POR NINGÚN SISTEMA, MÉTODO MECÁNICO O ELECTRÓNICO, SIN CONSENTIMIENTO DEL EDITOR.

Esta investigación del área de formación en Salud correspondiente al año 2016, fue realizada por la Universidad Autónoma de Santa Ana con el apoyo del Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA), y ejecutada con la experticia técnica y colaboración de:

Mildred Amparo Sandoval, Licenciada en Química y Farmacia, Especialista en Química Agrícola.

Imelda Lizeth Vega de Aguilar, Licenciada en Química y Farmacia, Especialista en Farmacia Industrial.

Yenia Olinda Vargas de López, Licenciada en Laboratorio Clínico.

Reina Maribel Castillo de Solórzano, Licenciada en Laboratorio Clínico.

Reina Elizabeth Rosales de Ramón, Licenciada en Ciencias Químicas.

Alberto Jerónimo Olivares Menay, Biólogo marino.

Ana Cecilia Flores, Licenciada en Biología.

Wendy Karina Archila de Miranda, Licenciada en Biología.

Vicente Alvarado, Ingeniero Agrónomo.

AGRADECIMIENTOS

El equipo agradece a los productores de las Cooperativas camaroneras de la bahía de Jiquilisco por su participación y todas las facilidades otorgadas para el desarrollo de esta investigación, así como a los profesionales Dr. Manuel Ramírez Luna y Dra. Maritza de Rivas de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería por su aporte en el diseño metodológico de este estudio. También se agradece a MEng. Rocío Soto Díaz, coordinadora de Control de Calidad de la Empresa Sea Technology Inc. Panamá, por su valiosa colaboración en la interpretación de los resultados de Biología Molecular para la identificación del plásmido de la EMS.

CONTENIDO

PRÓLOGO	i
PRESENTACIÓN.....	ii
I. MARCO CONCEPTUAL.....	1
1.1. Cultivo de Camarón Blanco en El Salvador.....	1
1.2. Preparación del estanque.....	2
1.3. Siembra y aclimatación de las postlarvas.....	2
1.4. Controles y bitácoras.....	3
1.5. Alimentación y engorde.....	3
1.6. Evaluación In situ y Análisis en fresco.....	4
1.7. Parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua y del fondo de los estanques que afectan al camarón de cultivo.....	7
1.7.1 Turbidez.....	7
1.7.2 Temperatura.....	9
1.7.3 Oxígeno Disuelto (OD).....	9
1.7.4 Partículas sólidas.....	11
1.7.5 Sustancias inorgánicas disueltas.....	12
1.7.6 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).....	14
1.7.7 Potencial de Hidrógeno (pH).....	15
1.7.8 Materia orgánica del fondo del estanque.....	16
1.8. Presencia de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> en camarón marino en El Salvador.....	17
II. OBJETIVOS.....	20
III. DISEÑO METODOLÓGICO.....	21
3.1 Alcance.....	21
3.2 Tipo y diseño de Investigación.....	21
3.3 Muestreo.....	22
3.4 Confiabilidad en el manejo de los resultados.....	23
3.5 Instrumentos de recolección de información.....	23
3.6 Análisis en fresco para el análisis presuntivo de vibriosis del camarón.....	23
3.7 Análisis fisicoquímicos en aguas de estanques.....	25

3.8 Demanda Química de Oxígeno (DBO).....	26
3.9 Oxígeno Disuelto (OD).....	26
3.10 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).....	26
3.11 Fósforo Total.....	27
3.12 Nitrato.....	27
3.13 Amonio.....	27
3.14 Nitrito.....	27
3.15 pH.....	27
3.16 Sólidos totales.....	28
3.17 Sólidos sedimentables.....	28
3.18 Sólidos suspendidos totales en agua (SST).....	28
3.19 Sólidos coloidales en muestras de agua (SC).....	28
3.20 Determinación de AHPND/EMS en muestras de hepatopáncreas de camarón.....	28
IV. RESULTADOS.....	29
4.1 Resultados de análisis fisicoquímicos.....	29
4.2 Análisis en fresco.....	40
4.3 Resultados moleculares.....	48
V. DISCUSIÓN.....	49
VI. CONCLUSIONES.....	51
VII. REFERENCIAS CONSULTADAS.....	54
ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Signos clínicos y efectos de las principales enfermedades y síndromes a partir del análisis en fresco.....</i>	<i>6</i>
<i>Tabla 2. Relación entre la visibilidad del Disco Secchi y la condición del fitoplancton...8</i>	<i>8</i>
<i>Tabla 3. Relación entre Concentración y efecto del oxígeno disuelto en el camarón de cultivo.....</i>	<i>10</i>
<i>Tabla 4. Influencia del pH en el cultivo de camarón.....</i>	<i>16</i>
<i>Tabla 5. Cooperativas participantes en la investigación. Bahía de Jiquilisco, El Salvador.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 6. Calculo de tamaño muestral de acuerdo al porcentaje de prevalencia esperado.....</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 7. Guía general para clasificación categórica.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 8. Guía de categorización de la severidad de la deformación tubular del hepatopáncreas.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 9. Resultados de análisis fisicoquímicos in situ del agua de los estanques.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 10. Resultados del análisis de Fosfatos en muestras de agua.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 11. Resultados del análisis de Nitratos en muestras de agua.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 12. Resultados del análisis de Amoníaco en muestras de agua.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 13. Resultados del análisis de DBO 5 en muestras de agua.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabla 14. Resultados del análisis de DQO en muestras de agua.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 15. Resultados del análisis de DQO/DBO 5 en muestras de agua.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabla 16. Resultados del análisis de Oxígeno disuelto en muestras de agua.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 17. Resultados del análisis de Sólidos suspendidos totales en mg/L.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabla 18. Resultados del análisis de sólidos sedimentables en muestras de agua.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabla 19. Resultados de análisis coloidales en muestras de agua.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 20. Resultados de análisis de solidos totales en muestras de agua.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabla 21. Interpretación de resultados del análisis en fresco.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 22. Interpretación de resultados del análisis en fresco. Continuación.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 23. Interpretación de resultados del análisis en fresco. Continuación.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 24. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 25. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 26. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 27. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 28. Resultados de la evaluación molecular del plásmido.....</i>	<i>48</i>

PRÓLOGO

Esta Investigación se ejecutó entre La Universidad Autónoma de Santa Ana y el Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA), como contribución para el desarrollo del sector camaronero del país, la cual marca el punto de partida en una serie de investigaciones que darán vida al primer manual de manejo de granjas acuícolas en El Salvador.

Esta publicación es fruto de la interrelación entre la Universidad, el Estado y el sector productivo, para contribuir a identificar y proponer soluciones a problemáticas de interés zoonótico y económico en el cultivo del camarón marino, tales como enfermedades y muerte temprana, ya que de no identificarse a tiempo representan una amenaza al sector social y productivo de la camaronicultura en el país.

UNASA y CENDEPESCA, están comprometidas en consolidar investigaciones en beneficio del sector acuícola, especialmente en lo referente a la calidad del agua e inocuidad alimentaria. Esta experiencia ha significado acercar a los investigadores a las realidades de las necesidades de sectores vulnerables y contribuir por medio de la articulación con el estado, a diseñar alternativas que mejoren la productividad, competitividad, e inocuidad de los productos que se ofrecen al mercado salvadoreño.

Esperamos que esta publicación, sea utilizada por técnicos, productores, estudiantes y cualquier otra persona interesada en contar con información de interés sobre métodos para la detección de enfermedades, calidad del agua para el manejo del cultivo de camarón, condiciones del fondo de los estanques y el estado actual de las granjas camaroneras en la zona de estudio.

Ing. M. Ed. Sergio Ernesto Carranza Vega
Rector

PRESENTACIÓN

**Mildred Amparo Sandoval
Investigadora.**

Esta fue una investigación que determinó la presencia del plásmido responsable del Síndrome de la Mortalidad Temprana (EMS), en camarones cultivados en granjas de uno de los núcleos productivos más importantes del país. A pesar de que la toxina 1 producida por el plásmido no estuvo presente en las muestras analizadas, el hallazgo representa una alerta para los productores y el Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA), ya que con los cambios en los patrones climáticos, podría existir un brote de EMS en el país que derivaría en importantes pérdidas económicas para ese sector.

Los resultados ponen de manifiesto la importancia del secado y preparación de los estanques de las unidades acuícolas, previo al inicio de un nuevo ciclo productivo, así como la importancia de contar con postlarvas provenientes de un laboratorio certificado para evitar tanto enfermedades, como retardo en el crecimiento y desarrollo de los camarones.

Las características del agua y el manejo del cultivo inciden directamente sobre la calidad e inocuidad del producto resultante, por lo que es necesario seguir trabajando en la sensibilización de las personas responsables de los estanques sobre Buenas Prácticas de Manejo del cultivo del camarón, para que voluntariamente las adopten y se minimice el impacto tanto al ecosistema costero marino donde se desarrolla el cultivo, como a la salud pública.

Esta es la primera información de la que disponen ambas instituciones y abre paso a la continuidad de la investigación, profundizando aspectos de suma importancia identificados y que serán de mucho valor para el Estado Salvadoreño, y especialmente para el sector productivo camaronero del país.

I. MARCO CONCEPTUAL

1.1. Cultivo de Camarón Blanco en El Salvador.

En El Salvador, al igual que en el resto de países de Latinoamérica, una de las especies de mayor importancia para la acuicultura es el camarón blanco del pacífico (*Penaeus vannamei*), conocido también como *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Esta especie está distribuida geográficamente en las aguas costeras del Pacífico, desde California hasta Perú [1], y es la especie de mayor importancia económica y alimenticia en el país, donde los principales sistemas de producción comprenden el extensivo, semi intensivo e intensivo de acuerdo a su densidad de siembra y volumen productivo.

Los emprendimientos de mayor importancia se ubican en los departamentos de Sonsonate, La Unión, La Paz y Usulután. En este último, las granjas camaroneras se concentran especialmente en la zona conocida como bajo lempa y la bahía de Jiquilisco. De acuerdo al Ministerio de Medioambiente y Recursos Naturales, la bahía de Jiquilisco es un humedal con la mayor extensión de bosque salado, agua salobre y reservorio de vida silvestre en peligro de extinción local, es el hábitat de muchas especies de aves costero marinas que anidan solamente en esa zona [2].

Entre los aprovechamientos principales de los recursos del humedal, figura la actividad camaronera, donde las granjas productoras corresponden históricamente a salineras reconvertidas a ese cultivo y a las cuales técnicos de La Cadena Acuícola del Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura (CENDEPESCA), brindan asistencia en: a) preparación del estanque, b) aclimatación y siembra de postlarvas, c) toma y lectura de parámetros de calidad del agua y fondo de los estanques, d) monitoreo de crecimiento y población, e) alimentación y nutrición, f) identificación y manejo de enfermedades del camarón bajo cultivo, g) monitoreos en sinología clínica y análisis en fresco, h) bioseguridad, i) trazabilidad, j) buenas prácticas de producción acuícola y k) cosecha y comercialización del producto. Las labores culturales desde la preparación del hábitat del camarón hasta su cosecha comprenden:

1.2. Preparación del estanque.

El estanque se prepara antes de la siembra de postlarvas; se realiza el drenaje, arado y secado del fondo del estanque (exposición al sol del suelo del estanque), como medida de bioseguridad para remover residuos de la cosecha anterior. Se hacen pruebas de potencial de hidrógeno (pH) al suelo para saber si amerita o no encalarlo, aplicando carbonato de calcio (CaCO_3) como regulador de pH hasta llevarlo a un nivel neutro (pH=7), se realizan aplicaciones de biorremediadores y/o biorrestauradores (bacterias benéficas) para tratamientos de suelo en los estanques.

Luego, se inicia con la preparación de filtros y tableros, para ello se inicia el llenado del nivel de la columna de agua, desde el canal de abastecimiento y luego una vez llenado el estanque, se hace una lectura inicial con un "Disco Secchi" el cual determina la turbidez o transparencia del agua y dependiendo de la lectura, así será la cantidad de fertilizante a utilizar para favorecer el crecimiento de fitoplancton, que al inicio del cultivo, sirve como alimento de la postlarva. La lectura ideal debe oscilar entre 35 a 45 cm. Luego se procede a realizar la siembra de postlarvas [3].

1.3. Siembra y aclimatación de las postlarvas.

La siembra de una postlarva sana es una medida esencial para mejorar la supervivencia del camarón con fines productivos. Para producirla debe asegurarse la bioseguridad en los estanques y laboratorios donde se desarrollan para evitar que algunas enfermedades se transmitan verticalmente, usando reproductores libres de patógenos que procedan de un ciclo cerrado para conocer su historial sanitario [3]. Antes de que la postlarva sea sembrada se monitorean por lotes en el laboratorio de patología y calidad de agua para la acuicultura de CENDEPESCA, luego el técnico encargado supervisa el conteo y empaque, acompañando el traslado hasta llegar al lugar de siembra. La densidad promedio de siembra oscila entre 8 a 12 por metro cuadrado e inicia el proceso de aclimatación en el estanque.

Para iniciar el proceso de aclimatación, se miden datos iniciales de temperatura y salinidad, tanto del agua del estanque, como del agua del traslado del laboratorio y a su

vez, se realizan recambios de agua, procurando tener el mayor cuidado posible de incrementar un grado centígrado en lo referente a temperatura y no más de 3 partes por millón (ppm) en lo referente a salinidad.

Este proceso se repite hasta que se logran valores aproximados o iguales a los del estanque y así, no estresar a la postlarva. Finalmente se liberan en el estanque para su engorde [3].

1.4. Controles y bitácoras.

En todas las fases del cultivo los productores realizan controles de calidad de agua (oxígeno disuelto, salinidad, temperatura, transparencia o turbidez y pH). La frecuencia de la toma del oxígeno y la temperatura la realizan a diario, la turbidez o transparencia se mide una vez al día a las 12:00 md y la salinidad se mide una vez antes de tomar datos de oxígeno por la mañana. Se llevan bitácoras para registrar los muestreos de crecimiento, los ajustes de ración de alimento se realizan cada 3 días después de las primeras 3 semanas, los muestreos de población se recomienda realizarlos cuando el tamaño de la población (100%) es tal que permite que los camarones no escapen por los orificios de la atarraya (aproximadamente 2.5 cm). El muestreo de crecimiento debe realizarse semanalmente y una o dos veces al mes los muestreos de población [3].

1.5. Alimentación y engorde.

Normalmente el día de siembra no se ofrece alimento al camarón, ya que la postlarva debe pasar por un periodo de adaptación del medio natural al artificial y ha comido suficiente alimento primario.

Al segundo día de sembrado, la alimentación comienza con alimento balanceado del 35% de proteína y se mantiene durante las primeras 2 a 3 semanas después de la siembra.

Luego se alimenta con un balanceado del 25% de proteína y la cantidad de la ración se calcula dependiendo de la biomasa que se vaya estimando durante los muestreos.

La variación de alimento diario, se determina de acuerdo con el cálculo del porcentaje de biomasa y el porcentaje de proteína, además, se toma en cuenta el comportamiento

que se observa en las charolas de alimentación que se usan como testigo, para poder establecer con mayor precisión la ración alimenticia diaria [3].

Otro método para determinar la ración alimenticia es la evaluación de intestinos y heces durante la etapa de engorde, la revisión del color de los intestinos en el camarón es una valiosa herramienta para manejar la alimentación. Si están completamente negros, quiere decir que el camarón solo está comiendo productividad natural y si se ven marrones es que están llenos de alimento. Una hora después de alimentar, por lo menos la mitad de los camarones deben tener los intestinos llenos de alimento, de lo contrario, si todos intestinos están negros, se debe subir la dosis de alimento. Al final del periodo de engorde, el camarón debe haber alcanzado un peso promedio de 11 a 14 gr en aproximadamente 90 días bajo cultivo [3].

1.6. Evaluación In situ y Análisis en fresco.

La técnica que se utiliza para monitorear el estado de salud de los organismos, se denomina análisis en fresco [4], con ella el analista evalúa los signos clínicos presuntivos de enfermedades y complementa el diagnóstico con la disección de los camarones en cualquier estadio para observar el tracto digestivo, branquias, pleópodos, urópodos, antenas y demás órganos internos. El análisis en fresco también se realiza cuando se manifiestan cambios de coloraciones, o anomalías en la conducta del camarón bajo cultivo.

Las características del entorno del camarón pueden condicionar cambios sus funciones anatómicas y el organismo se vuelve más susceptible a enfermarse; uno de los órganos de mayor importancia es el hepatopáncreas, glándula digestiva que cumple las mismas funciones metabólicas que tendrían el hígado y el páncreas en los mamíferos, interviene en la síntesis, absorción, secreción, metabolismo de lípidos e hidratos de carbono y de su correcto funcionamiento depende la sobrevivencia y el crecimiento del camarón [5]. Morfológicamente, el hepatopáncreas es un órgano digestivo que ocupa gran parte del

cefalotórax y está formada por divertículos del intestino, es una glándula bilobulada rodeada de tejido conectivo que desemboca en el estómago (ver figura 1).

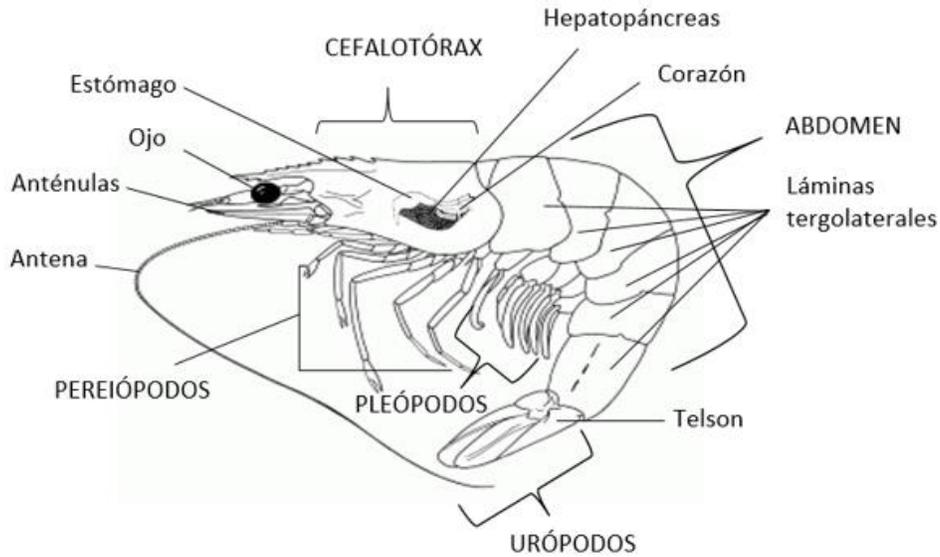


Figura 1. Anatomía del camarón marino (*Penaeus vannamei*).

Fuente: Imagen adaptada de http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es

En cuanto al procedimiento técnico, para analizar una población de camarones en un estanque, se debe realizar un adecuado muestreo casi siempre motivado por la sospecha de alguna enfermedad en el cultivo y generalmente se hace de forma aleatoria cuando se quiere verificar el estado de salud o la presencia de algunos patógenos [4,5]. Se colectan los camarones al azar y de áreas distintas del estanque. Los camarones seleccionados, se depositan en contenedores con aireación para causarles el mínimo estrés posible durante el traslado al laboratorio.

Los principales signos que se observan en un análisis en fresco, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Signos clínicos y efectos de las principales enfermedades y síndromes a partir del análisis en fresco.

Órgano/Tejido	Enfermedad/Síndrome	Signo clínico al afectar órgano o tejido	Efecto de la enfermedad en el camarón.
Músculo estriado.	Vibriosis. Bacteremia Decoloración por baja de oxígeno.	Opacidad difusa, coloración rojiza.	Letargo y muerte.
Cutícula y telson.	Enfermedad por ensuciamiento causada por epicomensales.	Apéndices, región oral, cefalotórax y abdomen sucios.	Problemas para realizar el proceso de muda e inanición.
	Vibriosis	Decoloración y pequeños nódulos en las lamelas branquiales	Muerte en los camarones de cultivo.
Hepatopáncreas	Vibriosis.	Atrofia del hepatopáncreas con presencia de pequeñas masas blancas y negras en forma de bolita.	Reducción del crecimiento y muerte.
	Hepatopancreatitis necrotizante.	Túbulos deformes del hepatopáncreas (Fase 0 y 1).	Reducción de la alimentación y crecimiento.
		Atrofia del hepatopáncreas color oscuro, deformación tubular severa con presencia de túbulos melanizados, necrosis tubular, nódulos hemocíticos y bacterias intracelulares (Fase 2).	Reducción de la alimentación y crecimiento.
		Atrofia del hepatopáncreas con presencia de túbulos necróticos en la mayor parte del órgano; presencia de bacterias intracelulares, granulomas y nódulos hemocíticos (Fase 3).	Reducción de la alimentación y recuperación lenta del organismo.
Intestino posterior	Gregarinas grado 1 y 2.	No hay cambio de coloración pero en el intestino se encuentran los diferentes estadios de Gregarinas y gametocitos en el ciego hepático.	Inanición, reducción del crecimiento y heces fecales delgadas.
	Gregarinas 3 y 4	Intestino y ciego hepático inflamado y de color amarillento, con presencia de Gregarinas en todos los estadios.	En casos severos, muerte del organismo, por la gran cantidad de Gregarinas adheridas a las células.

Fuente: Morales Covarrubias MS. Camarón análisis en fresco, herramienta de diagnóstico. OIRSA-CIAD: 2013.

1.7. Parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua y del fondo de los estanques que afectan al camarón de cultivo.

El medio ambiente en un estanque de camarón es esencialmente suelo y agua, y por ende, los factores que más afectan al camarón son las variables de calidad en el suelo y el agua del cultivo.

La calidad del agua de los efluentes de las granjas puede influir en causar efectos adversos en la camaronicultura, y a su vez, las aguas resultantes del ciclo productivo al mezclarse con las costeras, elevan los nutrientes, materia orgánica y sólidos suspendidos, lo cual puede provocar un efecto negativo en cascada para otros, sin embargo, si el cultivo es adecuadamente manejado, y si se mantienen buenas condiciones en la calidad de suelo y agua, estos efectos a los ecosistemas pueden minimizarse[6].

Los parámetros para determinar la calidad del agua se dividen en 2 tipos: físicos y químicos. Entre los físicos se encuentran:

1.7.1 Turbidez.

En el agua existe una relación directa entre la visibilidad y la abundancia de plancton. A medida que aumenta el plancton, la visibilidad disminuye; sin embargo, a veces la turbidez es causada por partículas suspendidas de arcilla o detritus y no por la cantidad de fitoplancton presente, por lo que se recomienda mantener un sistema continuo de monitoreo de la calidad del agua en los cultivos de camarones y para ello resulta útil la lectura del disco Secchi, la cual se recomienda efectuar a mediodía todos los días. El Disco está pintado con cuadrantes alternos de negro y blanco y tiene 20 centímetros de diámetro bajo el mismo, hay un peso y desde su centro emerge una cuerda con medidas calibradas. El disco debe atarse por su centro para que se mantenga horizontal mientras cuelga de una cuerda y se sumerge lentamente en el agua hasta que desaparece a la vista. Cuando se ha conseguido ese punto, se anota la profundidad en centímetros (Ver figura2).

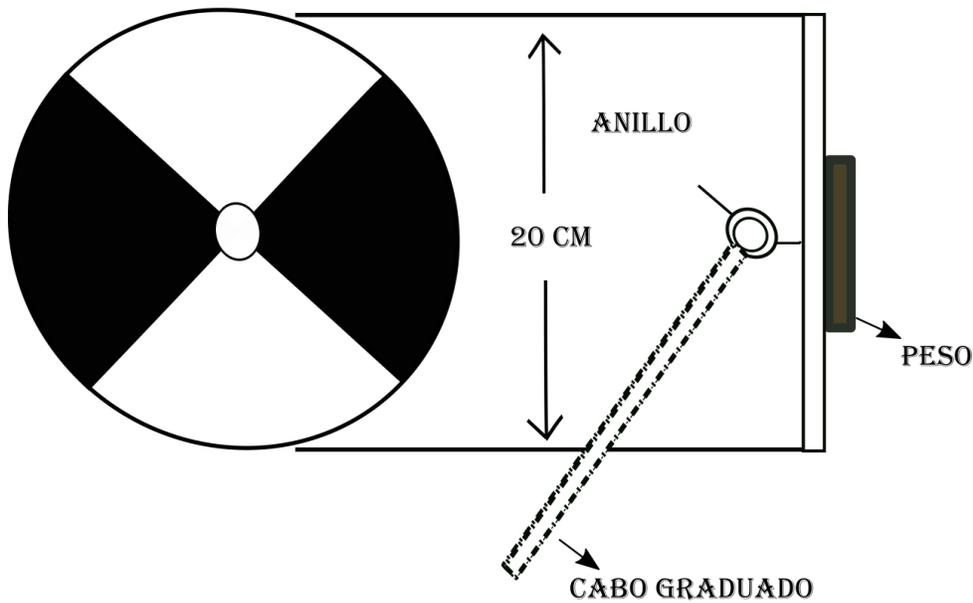


Figura 2. Disco Secchi.

Fuente: Elaboración propia a partir de la imagen disponible en https://www.nicovita.com.pe/extranet/Boletines/nov_98_02.pdf

Este procedimiento debe hacerse al menos tres veces en cada punto de muestreo para minimizar los errores de medida y el valor reportado puede ser el de la media de las tres mediciones.

La visibilidad del Disco Secchi es la profundidad a la cual el instrumento deja de ser visible y el procedimiento se estandariza para hacer lecturas correctas, clasificándolas de acuerdo a la relación que se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Relación entre la visibilidad del Disco Secchi y la condición del fitoplancton.

Lectura del Disco Secchi (cm)	Comentario
Menor de 25 cm	Estanque demasiado turbio. Si es turbio por fitoplancton, habrá problemas de baja concentración de oxígeno disuelto (OD). Cuando la turbidez resulta por partículas suspendidas de suelos, la productividad será baja.
25 a 30	Turbidez llega a ser excesiva.
30 a 45	Si la turbidez es por fitoplancton, el estanque está en buenas condiciones.
45 a 60 cm	Fitoplancton se vuelve escaso.
Mayor de 60 cm	El agua es demasiado clara. La productividad es inadecuada y pueden crecer plantas acuáticas.

Fuente: Meyer D. Introducción a la acuicultura. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2004: 159 p.

1.7.2 Temperatura.

La temperatura promedio en la zona de cultivo va desde los 29 hasta los 34 °C, lo cual genera un alto impacto en los procesos químicos y biológicos, puesto que se considera que el crecimiento y la respiración se duplican por cada 10 °C que aumenta la temperatura. Esto significa que el camarón crece dos veces más rápido y consume el doble de oxígeno a 30 °C que a 20 °C, por lo que el requerimiento de oxígeno disuelto es más crítico en temperaturas cálidas que en frías. El crecimiento y la respiración de otros organismos que comparten el estanque, así como las reacciones químicas en el agua y suelo, se incrementan también conforme aumenta la temperatura. Por ello los factores ambientales y en particular las variables de calidad del agua, son más críticos conforme aumenta la temperatura [6].

1.7.3 Oxígeno Disuelto (OD).

Para el cultivo de camarón, el oxígeno disuelto es un factor crítico en el crecimiento, reproducción, supervivencia y tolerancia a las enfermedades.

Es de resaltar que el fitoplancton es clave en el comportamiento del oxígeno disuelto, ya que aumenta con los nutrientes provenientes de los fertilizantes y del alimento artificial, de lo cual resulta una variación muy grande en el oxígeno disuelto entre el día y la noche [6]. Cuando el oxígeno disuelto está por debajo del punto de saturación, existe un flujo neto de moléculas de oxígeno desde el aire hacia el agua, en el punto de saturación el número de moléculas entrantes y salientes es el mismo. Cuando el agua está sobresaturada de oxígeno, existe un flujo neto de moléculas de oxígeno del agua hacia el aire. Mientras mayor sea la diferencia de presión del oxígeno en el aire y en el agua, mayor será también el intercambio de moléculas de oxígeno.

Un brote excesivo de fitoplancton en el día puede conducir a una caída de oxígeno disuelto en la noche y estresar o incrementar la mortalidad del camarón. La calidad del agua en el estanque depende mucho de la abundancia de fitoplancton y del balance entre fotosíntesis y respiración [6].

La concentración del oxígeno disuelto puede disminuir al grado de provocar la mortalidad de los camarones, sin embargo los efectos de oxígeno disuelto bajo se manifiesta en crecimiento lento y aumento de la susceptibilidad frente a enfermedades. En estanques con una baja crónica en la concentración de oxígeno disuelto, los camarones comerán menos y no habrá una conversión alimenticia comparable con la de un estanque con niveles normales [7]. El efecto de la concentración de oxígeno disuelto se presenta en la tabla 3.

Tabla 3. Relación entre Concentración y efecto del oxígeno disuelto en el camarón de cultivo.

Concentración de Oxígeno Disuelto	Efecto
Menos de 1 ó 2 mg/L	Letal si la exposición dura más que unas horas.
2-5 mg/L	Crecimiento será lento si la baja de oxígeno disuelto se prolonga.
5 mg/L-saturación	Mejor condición para crecimiento adecuado.
Supersaturación	Puede ser dañino si las condiciones existen por todo el estanque. Generalmente no hay problema.

Fuente: Meyer D. Introducción a la acuicultura. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2004:159 p.

El comportamiento que sigue concentración de oxígeno disuelto es cíclico. La concentración más baja se presenta en la madrugada, durante el día aumenta por efecto de la fotosíntesis y la máxima concentración de oxígeno disuelto se registra por la tarde [8] debido a que las plantas no pueden realizar la fase lumínica en la oscuridad, pero como las necesidades de oxígeno de los organismos del estanque continúan, las concentraciones de oxígeno disminuyen. El efecto del ciclo diario del oxígeno sobre los camarones es poco conocido, pero un buen crecimiento se logra cuando las concentraciones de oxígeno no descienden más de 30 ó 40% de saturación durante la noche, y siempre que el bajo nivel de concentración de oxígeno no perdure por más de 1 ó 2 horas [8,9].

Conforme la tasa de fertilización o de provisión de alimento balanceado se incrementa, aumenta también el fitoplancton. Esto permite una acuicultura más productiva, pero también hace que la fluctuación del oxígeno disuelto sea mayor entre el día y la noche

y que su disponibilidad disminuya a mayor profundidad. Si tales tasas son muy altas, los brotes de fitoplancton se volverán tan densos que el camarón disminuirá su crecimiento o incluso morirá debido a la baja concentración de oxígeno disuelto [10].

El acuicultor puede ajustar la fertilización de los estanques y la alimentación, de tal forma que exista un nivel adecuado de plancton y de oxígeno disuelto para el camarón. Debido a las diferentes respuestas de los estanques a los fertilizantes y alimentos balanceados, no hay una cantidad única para fertilizar y para añadir alimento. Es muy importante que el administrador observe cada día los estanques y maneje las cantidades según las condiciones variables de cada estanque [10].

Aunque por lo general la abundancia de plancton es el factor dominante en la dinámica del oxígeno disuelto en los estanques, los sedimentos del fondo pueden presentar una alta demanda de oxígeno disuelto, especialmente en estanques viejos donde se ha acumulado gran cantidad de sedimentos orgánicos enriquecidos. Existe poca investigación sobre la cantidad de oxígeno disuelto que consumen las comunidades bentónicas, pero existe evidencia que muestra que la respiración de tales comunidades puede consumir de 2 a 3 mg/L de oxígeno disuelto en 24 horas [10].

1.7.4 Partículas sólidas.

Los sólidos inorgánicos en suspensión que llegan a los estanques con el suministro de agua; han sido suspendidas por efecto del oleaje o de las corrientes de agua generadas por el viento. Las partículas mayores se depositarán en el fondo y las más pequeñas permanecerán suspendidas por largo tiempo, generando turbidez [1].

Las sustancias orgánicas en los estanques son muchas: azúcares, aminoácidos, taninos, almidones, polipéptidos, vitaminas, proteínas, ácidos grasos, ácidos húmicos, etc. El plancton y las bacterias contribuyen también a la carga orgánica en el agua y abundan grandes partículas de detritus. No se conocen los rangos de concentraciones deseables de partículas orgánicas, pero los estanques usualmente tienen menos de 100 mg/L de materia orgánica [1,5].

Las sustancias orgánicas, particularmente el plancton, generan turbidez, pero ésta es una turbidez deseable a diferencia de la generada por las partículas de arcilla. Los estanques son más productivos cuando la turbidez por plancton limita la visibilidad a 25-40 cm. A este nivel de plancton usualmente existe suficiente alimento natural, el oxígeno disuelto es adecuado y la luz no penetra hasta el fondo del estanque para estimular el crecimiento de micrófitos [1,5,6].

1.7.5 Sustancias inorgánicas disueltas.

La mayoría de las especies fitoplanctónicas requieren al menos elementos como carbón, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, sulfuro, fósforo, cloro, bromo, molibdeno, calcio, magnesio, sodio, potasio, zinc, cobre, hierro y manganeso [1,6].

El nitrógeno y el fósforo son los nutrientes más importantes en los estanques. De su concentración depende el crecimiento óptimo de fitoplancton. Si hay poco fósforo y nitrógeno, habrá muy poco fitoplancton, el agua estará clara y habrá escasez de comida para el camarón; si hay mucho fósforo y nitrógeno existirá exceso de fitoplancton, y durante la noche caerá el oxígeno disuelto [1,6].

El nitrógeno presente en la materia orgánica (nitrógeno orgánico) se convierte en amonio mientras las bacterias descomponen la materia orgánica. El amonio puede convertirse en nitrato al ser nitrificado por las bacterias. El agua que llega al estanque contiene amonio, nitrato y nitrógeno orgánico. El suelo del estanque es otra fuente de nitrógeno orgánico. Aunque algunas bacterias y alga azules pueden convertir el nitrógeno proveniente de la atmósfera en nitrógeno orgánico por medio de un proceso biológico conocido como fijación de nitrógeno, este proceso no tiene gran importancia en los estanques de camarón donde la principal fuente de nitrógeno es el alimento y los fertilizantes. Generalmente de un 20 a 40% del nitrógeno en el alimento se transforma a nitrógeno en el tejido del camarón, el resto es defecado al agua en forma de amonio. Las bacterias descomponen el alimento no consumido liberando amonio, por lo que un incremento en el alimento, producirá una mayor concentración de amonio en el agua, lo cual puede llegar a niveles tóxicos [1,6].

El nitrógeno puede liberarse de los estanques a través de la desnitrificación, un proceso en el que cierta bacteria convierte el nitrito en nitrógeno gaseoso, lo cual es usual en sedimentos anaeróbicos. El amonio puede dispersarse al aire, favorecido por un pH alto y por el viento que sopla sobre la superficie del estanque. El nitrógeno también se pierde en los flujos de recambio de agua y durante la cosecha.

El agua que entra a los estanques también tiene fósforo en forma de fosfato inorgánico disuelto y en materia orgánica. También el suelo puede liberar fosfato, pero la concentración natural de fósforo es baja y las principales fuentes de fósforo son los alimentos y fertilizantes que se adicionan al estanque.

Así como con el nitrógeno, las plantas absorben formas inorgánicas de fósforo del agua y las bacterias convierten el fósforo orgánico en fósforo inorgánico. Los camarones también liberan entre el 60 y 80% del fósforo que consumen. La gran diferencia entre la dinámica del nitrógeno y del fósforo, es que el fósforo que entra en el estanque se acumula en el suelo en forma de fosfatos de hierro, de aluminio o de calcio. El fósforo del suelo no es muy soluble y está poco disponible para los organismos del estanque. El fósforo debe de ser aplicado continuamente al estanque para mantener los brotes de fitoplancton. No obstante una sobre fertilización o un exceso de alimento puede generar una excesiva concentración de fósforo en el agua y un exceso de fitoplancton. El fósforo no absorbido por el suelo se pierde con el recambio de agua o durante la cosecha.

El amonio se presenta en el agua en dos formas, amonio no ionizado (NH_3) e ion amonio (NH_4^+), en un equilibrio que depende del pH y la temperatura: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ [10]. Por disolución, conforme aumenta el pH, el amonio no ionizado crece en comparación con el ion de amonio.

La temperatura del agua también incrementa el amonio no ionizado, pero su efecto es menor que el del pH. La toxicidad del amonio en organismos acuáticos generalmente se relaciona con el amonio no ionizado. La concentración de amonio en los estanques pocas veces llega a ser letal, sin embargo es común que exista un estrés en los camarones a causa de altas concentraciones de amonio. El agua de un estanque

generalmente tiene un pH de 8 y con este pH una concentración de nitrógeno de amonio de 10 mg/L probablemente no va a matar a los camarones, pero para evitar el estrés en el camarón es mejor no pasar de 2 mg/L [1]. La alta concentración de amonio es común en estanques con tasas altas de alimentación. El uso excesivo de urea y otros fertilizantes a base de amonio, como sulfato de amonio, pueden causar una concentración tóxica de amonio. El cambio de agua es la única forma viable de reducir la concentración de amonio. La supuesta efectividad de remoción de amonio por medio de bacterias y zeolita parece ser falsa en el caso de un estanque [1]. Bajo ciertas condiciones, el nitrito puede acumularse hasta concentraciones de 10 a 20 mg/L. En altas concentraciones, el nitrito se combina con la hemocianina en la sangre de los camarones y reduce drásticamente la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. En cultivos semi-intensivos, son pocas las ocasiones en las que el nitrito es superior a 1 ó 2 mg/L y la toxicidad no es un problema. Sin embargo, sí ha habido reportes de toxicidad por nitrito en estanques intensivos [1].

1.7.6 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).

Esta es la manera en que se mide el consumo de oxígeno por plancton y bacteria en una muestra de agua de un estanque. Una muestra de agua diluida es incubada en la oscuridad por 5 días a una temperatura de 20 °C. La pérdida de oxígeno disuelto en el agua durante el periodo de incubación es la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) [10]. Los estanques generalmente tienen valores de DBO de 5 a 10 mg/L. Mientras mayor sea la cantidad de materia orgánica en el agua más alta será la DBO. Cuando la DBO excede 20 mg/L, el agotamiento de oxígeno es un peligro en los estanques que no cuentan con aireación mecánica. La DBO no se utiliza mucho en el manejo de estanques de cultivo, pero es muy utilizada para medir la contaminación de los efluentes de la granja. Dado que los efectos de los efluentes de los estanques en los cuerpos de agua es un tema que ha incrementado su importancia, los acuicultores deben familiarizarse con la DBO [10].

1.7.7 Potencial de Hidrógeno (pH).

El pH indica cuán ácida o básica es el agua. De una manera más práctica, el agua con un pH de 7 no se considera ni ácida ni básica sino neutra. Cuando el pH es inferior a 7 el agua es ácida, y cuando el pH es superior a 7 el agua es básica. La escala de pH es de 0 a 14, mientras más lejano sea el pH de 7 el agua es más ácida o más básica.

Los estanques de agua salobre generalmente tienen un pH de 7 u 8 por la mañana, pero en la tarde generalmente suben a 8 ó 9. La fluctuación diaria del pH en los estanques resulta de los cambios en la fotosíntesis del fitoplancton y otras plantas acuáticas. El dióxido de carbono es ácido tal como se muestra en la siguiente ecuación:

$CO_2 + H_2O = HCO_3^- + H^+$ [10]. [10]. Si la concentración de dióxido de carbono crece, la de iones de hidrógeno aumenta y el pH disminuye y, al contrario, si disminuye la concentración de dióxido de carbono, la de iones de hidrógeno cae y el pH aumenta. Durante el día el fitoplancton consume dióxido de carbono y el pH del agua aumenta. Por la noche, el fitoplancton no utiliza el dióxido de carbono, pero todos los organismos del estanque sueltan dióxido de carbono durante la respiración y a medida que se acumula el dióxido de carbono el pH baja [10].

Cuando el fitoplancton es abundante puede existir una gran fluctuación en el pH. A diferencia de los estanques con menor alcalinidad total, los estanques con alcalinidad total alta o moderada generalmente presentan un pH alto durante la mañana. Cuando abunda el fitoplancton, el pH aumenta durante el mediodía más en estanques con baja alcalinidad, que en los de mayor alcalinidad, por el efecto de amortiguación aportado por la alcalinidad alta [11,12]. En la tabla 4, se detallan los efectos de la influencia del pH en el cultivo de camarón.

Tabla 4. Influencia del pH en el cultivo de camarón.

pH	Efecto
4	Punto de acidez letal
4-5	No reproducción
4-6	Crecimiento lento
6-9	Mejor crecimiento
9-11	Crecimiento lento
11	Punto letal de alcalinidad

Fuente: Meyer D. *Introducción a la acuicultura*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2004: 159 p.

Cuando el pH del agua es muy bajo, se puede aplicar cal en el estanque para mejorarlo. Por fortuna un pH bajo es más común que uno alto, ya que no hay procedimientos confiables para reducirlo. Usualmente las bajas en el crecimiento, reproducción, o sobrevivencia que resultan de la baja acidez en los estanques no provienen de un pH bajo, sino de los efectos de la baja alcalinidad y de los lodos ácidos sobre la producción de plancton y organismos benthicos. En algunas áreas, el suelo contiene del 1 a 5% de sulfuros en forma de pirita de hierro, estos son suelos potencialmente ácidos por sulfatos. En estanques hechos con este material si la pirita entra en contacto con el aire en los bordes, la pirita se oxida y forma ácido sulfúrico, el cual puede causar un pH muy bajo en el estanque [12].

1.7.8 Materia orgánica del fondo del estanque.

La materia orgánica se acumula en la interface agua-suelo, donde la actividad microbiana es alta. Como el agua no se mueve con libertad dentro del sedimento, la actividad microbiana rápidamente reduce el oxígeno disuelto en el agua del sedimento. Las condiciones aeróbicas usualmente ocurren en los primeros milímetros del sedimento. En la medida que baja la concentración de oxígeno disuelto y prosperan las condiciones anaeróbicas en el suelo, aparecen sustancias reducidas como nitritos, hierro ferroso, manganeso manganeso, sulfuro de hidrógeno, metano, y muchos compuestos orgánicos por efecto de las reacciones químicas y de la respiración de bacterias anaeróbicas [13].

La degradación de materia orgánica en el fondo reduce la concentración de oxígeno y finalmente provoca la disminución de sustancias inorgánicas. La degradación de la materia orgánica acaba por conducir a altas concentraciones de amonio, nitrito, hierro ferroso Fe^{2+} , ion manganeso divalente, sulfuro de hidrógeno y metano en los fangos del estanque [10-13].

Cuando la materia orgánica se descompone, los materiales más degradables se descomponen primero y los más resistentes se acumulan, por lo que la mayor parte del suelo se forma con material resistente a la degradación. La excesiva demanda de oxígeno en el fondo se relaciona más con la cantidad de nuevos depósitos de materia orgánica, que con la cantidad de materia residual la cual es más resistente y se ha acumulado con el tiempo [10-13].

1.8. Presencia de *Vibrio Parahaemolyticus* en camarón marino en El Salvador.

Desde 1953 se identificó al *Vibrio parahaemolyticus* como causante de gastroenteritis [14], término para englobar una serie de trastornos causadas por una infección que desencadena la aparición de síntomas como pérdida de apetito, náuseas, vómitos, diarrea moderada o intensa, cólicos intestinales y estomacales, malestar en el abdomen, pérdida de electrolitos (sodio y potasio) por el aumento de la secreción de líquidos en la pared intestinal provocada por la toxina producida por esta bacteria, cuyo reservorio es el ambiente .

La patogenicidad del *Vibrio parahaemolyticus* en el hombre depende de una toxina termoestable directa (TDH) [14], y aunque no todos los vibrios tienen esta toxina, representan un peligro biológico para la salud de modo que puede existir este agente en estuarios sin causar enfermedad, pero casi todos los vibrios que se han aislado de muestras clínicas han resultado ser TDH positivos. Las condiciones óptimas de crecimiento son: temperatura de 37°C, pH entre 7,8 y 8,6, condiciones atmosféricas aeróbicas y una concentración de NaCl del 3% [8,9], por lo que las características climáticas en El Salvador, pueden favorecer su crecimiento. La detección e

identificación de esta especie en alimentos de origen marino, presenta dificultad por métodos de laboratorio tradicionales, ya que los procedimientos convencionales pueden proporcionar falsos negativos y por eso los métodos moleculares representan una mejor alternativa, más rápida, sensible y fiable. En camarones, las principales técnicas de biología molecular utilizadas como apoyo para la detección de agentes patógenos en muestras de animales afectados, son: *dot blot*, hibridación *in situ*, PCR, RT-PCR y PCR en tiempo real (*real-time* PCR), esta última principalmente en investigación más que en diagnóstico. De éstas, las que presentan mayor sensibilidad y especificidad son las relacionadas con PCR [12,13,15].

El interés en investigar el *Vibrio parahaemolyticus* no solo radica en las implicaciones a la salud ya descritas, sino también a que se ha reportado en algunos países cercanos a la región centroamericana como México [16], brotes de la enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND), la cual es producida por una cepa patógena del marino *Vibrio parahaemolyticus*. Se introduce por vía oral, a través de los detritos que se encuentran en la columna de agua y en el fondo del estanque, coloniza el tracto digestivo del camarón y produce la toxina 1, causando una disfunción de las células del hepatopáncreas (HP), y destruye las células epiteliales tubulares del organismo, provoca inflamación hemocítica y necrosis. En la fase terminal, además del desprendimiento de las células epiteliales, se presenta una infección secundaria bacteriana masiva [15,16], lo cual termina con la muerte del camarón.

Esta descrito [17] que la identificación de la toxina 1 de la Enfermedad Hepatopancreatítica Aguda/ Síndrome de la Mortalidad Temprana del camarón, debe hacerse mediante técnicas moleculares, específicamente por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La enfermedad aparece durante los primeros 7 a 30 días después de la siembra, produciéndose mortalidades de hasta el 100% en estanques de cultivo [17,18]. Debido a las implicaciones en cuanto a la seguridad alimentaria, la motivación a desarrollar esta investigación estuvo dirigida a determinar la calidad del agua y suelo de los estanques donde se produce camarón marino para el consumo de gran parte de la población en El Salvador e identificar la presencia o ausencia del plásmido causante

del Síndrome de la Enfermedad Hepatopancreática Aguda del Camarón en los organismos, ya que si está presente significa que en cualquier momento podría presentarse un brote que podría afectar a los productores y debe continuarse investigando sobre el origen de la situación actual resultante, y apoyar al Centro para el Desarrollo de la Pesca y Acuicultura para que disponga de información actualizada que pueda ser utilizada en la adopción de medidas que contribuyan a las decisiones respecto a las acciones a seguir para el manejo de estanques y otras relacionadas, para reducir su efecto en el ecosistema de cultivo de camarón marino en El Salvador.

II. OBJETIVOS

General:

Determinar las condiciones fisicoquímicas del agua, fondo de los estanques y la presencia de la cepa patogénica de *Vibrio parahaemolyticus* en camarón blanco (*Penaeus vannamei*) cultivado en granjas situadas en La Bahía de Jiquilisco.

Específicos:

1. Caracterizar los parámetros fisicoquímicos de agua y fondo en los estanques seleccionados
2. Evaluar en los camarones muestreados signología clínica *In situ* y realizar análisis en fresco en el laboratorio.
3. Determinar la presencia de la cepa patogénica de *Vibrio parahaemolyticus* en el hepatopáncreas de los camarones muestreados en las granjas seleccionadas.

III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Alcance.

La motivación principal para desarrollar esta investigación surgió de la necesidad de determinar inicialmente la calidad del agua y suelo de los estanques de granjas camaroneras situadas en la bahía de Jiquilisco, e identificar la presencia o ausencia de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* con el plásmido causante del Síndrome de la Enfermedad Hepatopancreática Aguda del Camarón (AHPND), causante del Síndrome de la Mortalidad Temprana (EMS) del camarón blanco del pacífico cuya presencia ha sido reportada en México por el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, además de ser una fuente potencial de brotes de intoxicaciones alimentarias al ser ingerido por el ser humano y en vista de esto, los países centroamericanos deben emprender la vigilancia zoonosanitaria respectiva. Los resultados de este primer estudio, son extrapolables a la región occidental y oriental de El Salvador y aunque no se pretende en este momento dar una respuesta directa al origen de la situación, los resultados constituyen un apoyo a los productores de camarón y al Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura, para que disponga de información actualizada que pueda ser utilizada para adoptar medidas que contribuyan a las decisiones respecto a las acciones a seguir para el manejo de los estanques y otras relacionadas en el sector, reduciendo los efectos en el ecosistema de cultivo de camarón marino en el país.

3.2 Tipo y diseño de Investigación.

Esta fue una investigación descriptiva con diseño transversal, cuya fase analítica se desarrolló en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Autónoma de Santa Ana y en el Laboratorio Acuícola de CENDEPESCA ubicado en Santa Cruz Porrillo, San Vicente, durante los meses de octubre a diciembre de 2016.

Consistió operativamente en realizar: 1) Análisis físicos y químicos de muestras de agua de estanques en la fase final del cultivo de camarón; 2) Análisis del fondo de los estanques para cuantificar el contenido de materia orgánica; 3) Análisis en fresco de los

camarones muestreados en busca de signos de infección; 4) Identificación molecular por reacción en cadena de la polimerasa de la cepa patogénica de *Vibrio parahemolyticus* responsable del Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS), llamado posteriormente Síndrome de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas de Camarón (AHPND), en los camarones cultivados en los estanques seleccionados.

3.3 Muestreo.

La selección de los sitios de muestreo fue por conveniencia y el muestreo fue dirigido, incluyéndose aquellos estanques con historial de haber presentado al menos un episodio de mortalidad temprana en el cultivo, sin atribuirse a causas conocidas en los dos años previos a esta investigación (muerte atípica). Se seleccionaron solamente aquellos estanques que hubieran presentado dicha manifestación y resultaron un total de 19, de las 12 cooperativas camaroneras que consintieron en participar voluntariamente (ver tabla 5).

Tabla 5. Cooperativas participantes en la investigación. Bahía de Jiquilisco, El Salvador.

	Cooperativa	Estanques	Agua	Fondo	Camarones
1	La Salvadoreña	7	•	•	•
2	Rincón Cuche de Monte	1	•	•	•
3	Fauna Silvestre	La troncosa, La clínica	•	•	•
4	Sara y Ana	El Carbón, El Hoyón	•	•	•
5	San Hilario	Punta de riel, Calentador 1, Capulín 1, Capulín 2.	•	•	•
6	La Romerito	2	•	•	•
7	El Pequinés	2	•	•	•
8	Los Mancornados	6	•	•	•
9	29 de Junio	3,6 y 9	•	•	•
10	Cuche de Monte	La Palosa 1	•	•	•
11	La Chacastera	2	•	•	•
12	San Francisco	7	•	•	•

Fuente: Elaboración propia a partir de los resultados de la investigación.

3.4 Confiabilidad en el manejo de los resultados.

La confidencialidad de los datos se mantuvo en todo momento. Se asignó un código único a cada muestra de agua, fondo y camarones o sus partes para evitar que los datos se asociaran a la identidad del proveedor de la muestra al momento del análisis o vaciado en la base de datos electrónica construida para este propósito. En cuanto a las fichas de registro y datos, estos fueron procesados por un profesional ajeno a los miembros del equipo de investigación.

3.5 Instrumentos de recolección de información.

Se diseñaron cuatro instrumentos para registrar la información; 1) Formulario para evaluar la condición de suelos de estanques que consignó la profundidad y pH en cinco puntos de muestreo, productos utilizados durante el ciclo de cultivo (Cal, fertilizante, biorremediadores y otros; 2) Formulario para medición de parámetros fisicoquímicos de la calidad de agua de los estanques que registró los valores de profundidad, oxígeno de la superficie y fondo, temperatura, salinidad, turbidez y pH; 3) Formulario para análisis clínico de camarón que incluyó características externas del exoesqueleto, músculo, antenas, periópodos, pleópodos, tracto digestivo, apéndices bucales, hepatopáncreas y hemolinfa; y 4) Formulario para consignar los resultados del análisis en fresco del camarón, características externas, coloración del organismo, textura de cutícula, apéndices, intestino, sistema digestivo, apéndices bucales, hepatopáncreas, hemolinfa, estado de muda y branquias.

3.6 Análisis en fresco para el análisis presuntivo de vibriosis del camarón.

Las muestras de camarón para la realización de los análisis fueron seleccionadas en las compuertas de salida de los estanques, mediante 5 lances, escogiendo 3 camarones con signología de aparente estrés o enfermedad en cada lance, el total de muestras capturadas fueron 15, de las cuales 10 fueron utilizadas para la extracción de hepatopáncreas y 5 para análisis en fresco (ver tabla 6).

Al momento de la captura, 10 individuos de la muestra fueron utilizados además para la realización y registro de un análisis sinológico, en el cual se observaron los organismos en busca de signos tales como: opacidad muscular, coloración rojiza o amarilla de los apéndices (periópodos, pleópodos), coloración rojiza de urópodos y presencia de ámpulas, melanización y/o necrosis en la cutícula, anorexia (falta de apetito), letargia (reducción de la actividad normal), o cualquier otra alteración observable.

El total de las muestras capturadas fueron empacadas vivas y enviadas al Laboratorio de Patología y Calidad en donde se extrajeron las hepatopáncreas a los individuos y fueron depositados en tubos Eppendorf y macerados, para posteriormente ser congelados y enviados al laboratorio de Investigación de la Universidad Autónoma de Santa Ana para el análisis de *Vibrio parahaemolyticus* por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). A las 5 muestras restantes se les realizó análisis en fresco, observando al microscopio las branquias, hepatopáncreas, intestino y músculo de acuerdo al procedimiento descrito por Lightner.

Tabla 6. Cálculo de tamaño muestral de acuerdo al porcentaje de prevalencia esperado.

Tamaño de la población	Tamaño de la muestra necesaria para obtener el porcentaje de prevalencia						
	2%	5%	10%	20%	30%	40%	50%
50	50	35	20	10	7	5	2
100	75	45	23	11	9	7	6
250	110	50	25	10	9	8	7
500	130	55	26	10	9	8	7
1,000	140	55	27	10	9	9	8
1,500	140	55	27	10	9	9	8
2,000	145	60	27	10	9	9	8
4,000	145	60	27	10	9	9	8
10,000	145	60	27	10	9	9	8
>/= 10,000	150	60	30	10	9	9	8

Fuente: Barroco MA, Perazzolo LM, Rosa RD. Inmunología del Camarón [Internet]. Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. 2008. 274 p. Consultado el 21 de Marzo de 2016. Disponible en: <http://www.rr-america.oie.int/documentos/PATOLOGIA E INMUNOLOGIA.pdf>

Los resultados del análisis en fresco se consignaron en un instrumento elaborado para tal fin (ver anexo 3), y asignando un valor numérico cualitativo de grado de severidad

a la infección, infestación y síndrome, de acuerdo al detalle de las categorías descritas en las tablas 7 y 8.

Tabla 7. Guía general para clasificación categórica.

GRADO DE SEVERIDAD	SIGNOS CLÍNICOS
0	No presentan signos de infección por el agente patógeno, parásito o epicomensal. No presentan lesiones características de síndromes.
1	Presencia muy baja del patógeno, parásito o epicomensal. En aquellos donde se tiene un número estándar permitidos, éste se encuentra justo arriba del límite normal. Se observan muy pocas lesiones características del síndrome.
2	Se observa la presencia baja y moderada del patógeno, parásito o epicomensal. Se observan lesiones ligeras o moderadas, características del síndrome. Incremento en la mortalidad si no se aplica tratamiento (cuando existe tratamiento).
3	Se observa la presencia moderada del patógeno, parásito o epicomensal. Se observan lesiones moderadas a severas, características del síndrome. Potencialmente letal si no se aplica tratamiento (cuando existe tratamiento).
4	Se observan gran cantidad del patógeno, parásito o epicomensal. Se observan severas lesiones características del síndrome. Muy letal con altas mortalidades.

Fuente: Barroco MA, Perazzolo LM, Rosa RD. Inmunología del Camarón [Internet]. Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. 2008. 274 p. Consultado el 21 de Marzo de 2016. Disponible en: <http://www.rr-americas.oie.int/documentos/PATOLOGIA E INMUNOLOGIA.pdf>

Tabla 8. Guía de categorización de la severidad de la deformación tubular del hepatopáncreas.

GRADO DE SEVERIDAD	SIGNOS CLÍNICOS
0	No presentan signos de deformación tubular (0). No presentan lesiones características de síndromes.
1	Presencia muy baja de deformación tubular (1-5/campo/organismo). Se observan muy poco desprendimiento celular.
2	Se observa la presencia moderada de deformación tubular (6-10/campo/organismo). Presencia de hemocitos y formación de nódulos hemocíticos. Se observa mortalidad si no se aplica tratamiento.
3	Se observa la presencia alta de deformación tubular (11-20/campo/organismo). Se observan lesiones moderadas a severas, como melanización, desprendimiento celular, atrofia tubular y formación de nódulos hemocíticos. Potencialmente letal si no se aplica tratamiento.
4	Se observan gran cantidad de túbulos deformes (más de 20/campo/organismo). Se observan severas lesiones como melanización, necrosis, atrofia tubular, túbulos vacíos, formación de nódulos hemolíticos y presencia de granulomas. Muy letal con altas mortalidades.

Fuente: Barroco MA, Perazzolo LM, Rosa RD. Inmunología del Camarón [Internet]. Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. 2008. 274 p. Consultado el 21 de Marzo de 2016. Disponible en: <http://www.rr-americas.oie.int/documentos/PATOLOGIA E INMUNOLOGIA.pdf>

3.7 Análisis fisicoquímicos en aguas de estanques.

A todas las muestras de agua de estanques se les determinaron los siguientes parámetros: 1) Demanda Química de Oxígeno (DQO), 2) Oxígeno Disuelto (OD), 3) Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), 4) Fósforo Total, 5) Nitrato, 6) Amonio, 7) Nitrito 8) pH y 9) análisis de sólidos filtrables y no filtrables, que comprenden los sólidos totales, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales en agua y sólidos coloidales.

3.8 Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La determinación de la demanda química de oxígeno se estableció mediante el método colorimétrico de oxidación con dicromato de potasio en el rango de medida que fue desde los 3,0 a 1,500 mg/L de DQO.

3.9 Oxígeno Disuelto (OD).

El método utilizado fue el correspondiente a las ampollas AccuVac®, en el rango de medida entre 1.0 a 40.0 mg/L de O₂ recomendado para muestras provenientes de agua de acuicultura.

3.10 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).

La demanda bioquímica de oxígeno de las muestras de agua se estimó mediante el método de dilución, adaptado de los métodos estándar para el análisis de aguas y aguas residuales, del journal de la federación de control de la contaminación del agua y aceptado por la agencia de protección del ambiente de estados unidos, considerando el tipo de muestra y altitud del laboratorio para la elección del volumen de la muestra.

La DBO se calculó mediante la ecuación:

$$\text{mg/L DBO} = (A \cdot 300) - B + C_p$$

3.11 Fósforo Total.

El fosforo total se determinó mediante el método colorimétrico de digestión con per sulfato ácido para agua de mar, equivalente al método estándar 4,500-PB, 5 y P.E y al método 350.2 de la Agencia para la Protección del Ambiente de Estados Unidos (USEPA). El rango de medida del análisis fue desde 0,00 a 3,5 g/L de anión fosfato (PO_4^{-3}),

3.12 Nitrato

El análisis de nitrato se hizo de acuerdo al método de reducción de cadmio para muestras de agua de mar, calentando las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba y neutralizando la muestra con hidróxido de sodio. El límite de detección fue desde 0 a 30.0 mg/L de ion nitrato.

3.13 Amonio.

El amonio se determinó mediante el método colorimétrico de indofenol.

3.14 Nitrito.

Las muestras se analizaron mediante el método colorimétrico de diazotización para agua de mar, por reacción del ácido sulfanílico, aprobado por la Agencia para la Protección del Ambiente de Estados Unidos (USEPA). El rango de medida del análisis va desde 0,0 a 300,0 mg/L, de ion nitrito y tuvo un límite de detección de 0,001 mg/L de NO_2 ,

3. 15 pH.

La lectura de pH se realizó utilizando un pH-metro marca HANNA.

3.16 Sólidos totales.

Se determinaron por gravimetría, evaporando una muestra de agua en una capsula de porcelana y dejándola secar a 110°C hasta peso constante.

3.17 Sólidos sedimentables.

Se determinaron mediante la prueba del cono Imhoff, colocando un litro de la muestra de agua al interior del cono Imhoff y efectuando la lectura del volumen de materia que se deposita en el fondo del cono después de 1 hora.

3.18 Sólidos suspendidos totales en agua (SST).

Se determinaron a través de un método gravimétrico basado en la retención de las partículas sólidas en un filtro de porcelana a través del cual se hace pasar por vacío una muestra homogénea de agua a la cual se le ha realizado la prueba de sólidos sedimentables y se seca el residuo que queda retenido en el filtro. El incremento en el peso del filtro representa la cantidad de sólidos suspendidos totales.

3.19 Sólidos coloidales en muestras de agua (SC).

Los sólidos coloidales se determinaron mediante la diferencia entre los sólidos sedimentables y los sólidos suspendidos totales.

3.20 Determinación de AHPND/EMS en muestras de hepatopáncreas de camarón.

La presencia de la toxina 1 de la Enfermedad Hepatopancreatítica Aguda/ Síndrome de la Mortalidad Temprana, se determinó mediante PCRa, con el kit comercial para PCR Tiempo real IQ Real™, de la empresa Sea technology de Panamá, el cual detecta la presencia de la forma virulenta de *V. parahemolyticus* que contiene el plásmido AHPND con la toxina 1, pero también permite diferenciar la forma no virulenta de *Vibrio parahaemolyticus* con el plásmido AHPND incompleto sin la toxina 1 deleción.

IV. RESULTADOS.

4.1 Resultados de análisis fisicoquímicos.

Los análisis fisicoquímicos in situ de las muestras de agua de los estanques se presentan en la tabla 9. Solamente el 25% de las granjas, no mencionaron si después de finalizado un ciclo de cultivo secaban el estanque y lo encalaban para regular el pH, sin embargo este parámetro se encontró dentro de rango en todos los estanques. En cuanto a la turbidez, en dos granjas que superaron los 45 cm, se puede interpretar que poseían un bajo nivel de fitoplancton, en los estanques de la cooperativa Sara y Ana, la turbidez fue de 28 cm, mientras que en la cooperativa Fauna Silvestre, la turbidez es alta (10 cm).

Tabla 9. Resultados de análisis fisicoquímicos in situ del agua de los estanques.

Granja camaronera	pH	Profundidad (m)	Turbidez (cm)	Salinidad (%)	Encalado
La Salvadoreña	8.6	0.72			Si
Rincón cuche de monte	7.0	NR	55.0	23.0	NR
Fauna Silvestre	8.0	1.5	10.0	20.0	Si
Sara y Ana	9.0	1.5	28.0	23.0	Si
San Hilario	9.0	0.8	NR	19.0	Si
La Romerito	7.0	1.1	35.0	22.0	Si
El Pequinés	7.0	1.0	50.0	NR	Si
Los Mancornados	8.0	0.83	NR	21.0	NR
29 de Junio	8.0	1.1	30.0	21.5	NR
Cuche de monte	8.0	1.4	NR	20.0	Si
La Chacastera	1.1	1.1	NR	NR	Si
San Francisco	8.0	1.5	25.0	14.0	Si

Fuente: Elaborado por los autores en base a resultados obtenidos en campo. NR= No hay registros.

Los análisis de fosfatos muestran los niveles de esta sustancia en las muestras de agua. Comparados con los valores normales aceptables, solamente un valor está dentro del rango que va de 0.005-0.20 mg/L recomendado para fosfatos, por lo que es posible que este comportamiento se deba a la práctica cultural de fertilización del estanque, lo que puede influir negativamente en el crecimiento esperado del camarón y afectar la productividad por retardo en el desarrollo (ver tabla 10).

Tabla 10. Resultados del análisis de Fosfatos en muestras de agua.

Cooperativa		Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.903
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	0.913
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	0.865
		4	La clínica	0.859
4	Sara y Ana	5	El Carbón	0.860
		6	El Hoyón	0.915
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.903
		8	Calentador 1	0.846
		9	Capulín 1	0.615
		10	Capulín 2	0.154
6	La Romerito	11	2	0.855
7	El Pequinés	12	2	0.839
8	Los Mancornados	13	6	0.814
9	29 de Junio	14	3	0.931
		15	6	0.884
		16	9	0.911
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	0.761
11	La Chacastera	18	2	0.848
12	San Francisco	19	7	0.428

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

En cuanto a los niveles de nitratos, los datos indican cuales estanques se encuentran fuera del valor aceptable de 3.0 mg/L, esto guarda relación con la densidad de siembra y los recambios de agua del estanque durante los estadios productivos. A mayor densidad poblacional, mayor cantidad de desechos y sin los recambios de agua necesarios aumenta la necesidad metabólica del camarón, por lo que estos resultados indican que puede haber un retardo en talla y estrés natatorio por poco oxígeno disponible en el agua del estanque niveles elevados de nitratos (ver tabla 11).

Tabla 11. Resultados del análisis de Nitratos en muestras de agua.

	Cooperativa	Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	5.47
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	4.36
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	3.01
		4	La clínica	5.55
4	Sara y Ana	5	El Carbón	1.59
		6	El Hoyón	5.99
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.91
		8	Calentador 1	0.34
		9	Capulín 1	0.34*
		10	Capulín 2	0.55
6	La Romerito	11	2	1.46
7	El Pequinés	12	2	0.97
8	Los Mancornados	13	6	1.13
9	29 de Junio	14	3	1.23
		15	6	5.84
		16	9	5.19
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	1.03
11	La Chacastera	18	2	5.12
12	San Francisco	19	7	0.52

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016; *= Dato controlado.

Análisis de amoníaco.

El amoníaco se encontró por encima del límite máximo recomendado en 16 estanques, solamente en tres se mantuvo dentro del límite de 0.1 mg/L, el resto indican una alta cantidad de materia orgánica en descomposición dentro de esos estanques, lo cual influiría en la productividad y en el crecimiento de flora bacteriana en el agua, por lo que habría menor cantidad de oxígeno disuelto por el aumento del fitoplancton, que utiliza el amoníaco como nutriente para su desarrollo (ver tabla 12).

Tabla 12. Resultados del análisis de Amoníaco en muestras de agua.

	Cooperativa	Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.026
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	0.232
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	1.360
		4	La clínica	2.280
4	Sara y Ana	5	El Carbón	0.602
		6	El Hoyón	0.346
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.179
		8	Calentador 1	0.380
		9	Capulín 1	0.030
		10	Capulín 2	0.370
6	La Romerito	11	2	0.507
7	El Pequinés	12	2	0.360
8	Los Mancornados	13	6	0.152
9	29 de Junio	14	3	0.455
		15	6	1.290
		16	9	0.335
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	0.623
11	La Chacastera	18	2	0.107
12	San Francisco	19	7	0.070

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Demanda Bioquímica de Oxígeno a cinco días (DBO₅).

Ningún estanque presentó una DBO debajo de los 50 puntos aceptables, sino que los resultados exceden por mucho este valor, lo cual indica que la cantidad de limo bacteriano es elevada y el agua del estanque sería un potencial agente de toxicidad para el camarón y tampoco es apta para que se vierta a ningún cuerpo receptor sin un tratamiento previo de Biorremediación (ver tabla 13).

Tabla 13. Resultados del análisis de DBO 5 en muestras de agua.

	Cooperativa		Estanques	mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	667
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	625
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	656
		4	La clínica	671
4	Sara y Ana	5	El Carbón	646
		6	El Hoyón	649
5	San Hilario	7	Punta de riel,	579
		8	Calentador 1	628
		9	Capulín 1	605
		10	Capulín 2	682
6	La Romerito	11	2	566
7	El Pequinés	12	2	556
8	Los Mancornados	13	6	633
9	29 de Junio	14	3	601
		15	6	619
		16	9	609
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	658
11	La Chacastera	18	2	523
12	San Francisco	19	7	626

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Los resultados del análisis de la demanda química de oxígeno se presentan en la tabla 14.

Tabla 14. Resultados del análisis de DQO en muestras de agua.

	Cooperativa		Estanques	mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	177
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	180
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	184
		4	La clínica	185
4	Sara y Ana	5	El Carbón	178
		6	El Hoyón	73.1
5	San Hilario	7	Punta de riel,	175
		8	Calentador 1	84
		9	Capulín 1	106
		10	Capulín 2	68
6	La Romerito	11	2	177
7	El Pequinés	12	2	174
8	Los Mancornados	13	6	168
9	29 de Junio	14	3	181
		15	6	179
		16	9	181
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	172
11	La Chacastera	18	2	187
12	San Francisco	19	7	158

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Relación entre demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno.

Los resultados de la relación indican que los compuestos que se encuentran en las muestras de agua son biodegradables, pudiéndose utilizar sistemas biológicos como fangos activos o lechos bacterianos, ya que el cociente obtenido es menor a 2.5 (ver tabla 15).

Tabla 15. Resultados del análisis de DQO/DBO 5 en muestras de agua.

	Cooperativa	Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.26
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	0.28
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	0.28
		4	La clínica	0.27
4	Sara y Ana	5	El Carbón	0.27
		6	El Hoyón	0.11
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.30
		8	Calentador 1	0.13
		9	Capulín 1	0.17
		10	Capulín 2	0.10
6	La Romerito	11	2	0.31
7	El Pequinés	12	2	0.31
8	Los Mancornados	13	6	0.26
9	29 de Junio	14	3	0.30
		15	6	0.29
		16	9	0.29
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	0.26
11	La Chacastera	18	2	0.36
12	San Francisco	19	7	0.25

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Análisis de oxígeno disuelto.

Solamente un estanque cumple con el valor de oxígeno recomendado, lo cual se puede atribuir a los altos valores de sustancias inorgánicas disueltas encontradas y contrasta con la alta Demanda Bioquímica de Oxígeno, a mayor cantidad de organismos vivos, menor oxígeno disuelto, especialmente sin sistemas de aireación en los estanques y una densidad de siembra que supera la capacidad metabólica. Los niveles tan bajos de oxígeno en muchos casos no son aptos para que los camarones puedan sobrevivir (ver tabla 16).

Tabla 16. Resultados del análisis de Oxígeno disuelto en muestras de agua.

	Cooperativa		Estanques	mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	2.2
2	Rincón Cuche de Monte	2	1	2.1
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	3.2
		4	La clínica	2.7
4	Sara y Ana	5	El Carbón	1.9
		6	El Hoyón	2.1
5	San Hilario	7	Punta de riel,	2.8
		8	Calentador 1	3.7
		9	Capulín 1	3.1
		10	Capulín 2	2.8
6	La Romerito	11	2	3.9
7	El Pequinés	12	2	3.6
8	Los Mancornados	13	6	2.1
9	29 de Junio	14	3	2.9
		15	6	2.5
		16	9	2.1
10	Cuche de Monte	17	La Palosa 1	2.5
11	La Chacastera	18	2	2.0
12	San Francisco	19	7	4.9

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Sólidos suspendidos totales en agua (SST).

Se determinaron a través de un método gravimétrico basado en la retención de las partículas sólidas en un filtro de porcelana a través del cual se hace pasar por vacío una muestra homogénea de agua a la cual se le ha realizado la prueba de sólidos (ver tabla 17).

Tabla 17. Resultados del análisis de Sólidos suspendidos totales en mg/L.

Cooperativa		Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.074
2	Rincón Cuche de Monte	2	1	0.053
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	0.061
		4	La clínica	0.028
4	Sara y Ana	5	El Carbón	0.098
		6	El Hoyón	0.086
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.050
		8	Calentador 1	0.001
		9	Capulín 1	0.008
		10	Capulín 2	0.031
6	La Romerito	11	2	0.049
7	El Pequinés	12	2	0.050
8	Los Mancornados	13	6	0.058
9	29 de Junio	14	3	0.067
		15	6	0.072
		16	9	0.073
10	Cuche de Monte	17	La Palosa 1	0.045
11	La Chacastera	18	2	0.045
12	San Francisco	19	7	0.036

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Sólidos sedimentables en muestras de agua.

De los resultados se observa que 7 estanques tienen una alta cantidad de material sedimentable que en su mayoría corresponde a materia orgánica flotante y sedimentada en la interface del inicio de la columna de agua y el fondo del estanque. Esta gran cantidad de materia indica que el fondo del estanque tiene mucho detritus y excremento de camarón, lo cual podría estar influido por las excretas del propio animal (ver tabla 18).

Tabla 18. Resultados del análisis de sólidos sedimentables en muestras de agua.

Cooperativa		Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.10
2	Rincón Cuche de Monte	2	1	11.0
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	3.00
		4	La clínica	0.10
4	Sara y Ana	5	El Carbón	2.00
		6	El Hoyón	1.00
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.45
		8	Calentador 1	0.99
		9	Capulín 1	1.99
		10	Capulín 2	1.07
6	La Romerito	11	2	0.45
7	El Pequinés	12	2	0.95
8	Los Mancornados	13	6	0.44
9	29 de Junio	14	3	0.93
		15	6	1.13
		16	9	1.93
10	Cuche de Monte	17	La Palosa 1	0.45
11	La Chacastera	18	2	0.25
12	San Francisco	19	7	0.46

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Sólidos coloidales en muestras de agua (SC).

Hay una elevada cantidad de sólidos coloidales en el agua, lo cual indica una elevada cantidad de microorganismos que cohabitan en el estanque con los camarones, los cuales compiten por el oxígeno, poniendo en riesgo la producción. (ver tabla 19).

Tabla 19. Resultados de análisis coloidales en muestras de agua.

	Cooperativa	Estanques		mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.026
2	Rincón Cuche de Monte	2	1	10.95
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	2.94
		4	La clínica	0.07
4	Sara y Ana	5	El Carbón	1.90
		6	El Hoyón	0.91
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.45
		8	Calentador 1	0.99
		9	Capulín 1	1.99
		10	Capulín 2	1.07
6	La Romerito	11	2	0.45
7	El Pequinés	12	2	0.95
8	Los Mancornados	13	6	0.44
9	29 de Junio	14	3	0.93
		15	6	1.13
		16	9	1.93
10	Cuche de Monte	17	La Palosa 1	0.45
11	La Chacastera	18	2	0.25
12	San Francisco	19	7	0.46

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Sólidos totales en muestras de agua.

Los resultados de sólidos totales en muestras de agua se presentan en la tabla 20.

Tabla 20. Resultados de análisis de sólidos totales en muestras de agua.

	Cooperativa		Estanques	mg/L
1	La Salvadoreña	1	7	0.67
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	0.56
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	0.67
		4	La clínica	0.55
4	Sara y Ana	5	El Carbón	0.75
		6	El Hoyón	0.63
5	San Hilario	7	Punta de riel,	0.53
		8	Calentador 1	0.69
		9	Capulín 1	0.57
		10	Capulín 2	0.65
6	La Romerito	11	2	0.74
7	El Pequinés	12	2	0.73
8	Los Mancornados	13	6	0.63
9	29 de Junio	14	3	0.57
		15	6	0.64
		16	9	0.57
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	0.55
11	La Chacastera	18	2	0.74
12	San Francisco	19	7	0.59

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

4.2 Análisis en fresco.

Los análisis en fresco fueron realizados por personal investigador del Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura en el Laboratorio de Patología Acuícola. La respectiva interpretación de resultados de las muestras tomadas en cada estanque aparece concentradas según detalle en las tablas 21 y 22.

Tabla 21. Interpretación de resultados del análisis en fresco.

GRANJA CAMARONERA	VARIABLES DEL ANÁLISIS EN FRESCO DEL CAMARÓN							Interpretación de resultados
	Estadio de muda	Características externas	Región oral	Branquias	Hepatopáncreas	Intestino	Músculo y Gónadas	
La Romerito	Intermuda.	Coloración normal, cromatóforos normales.	No se observa melanización.	Normales y limpias.	Color café con diadema amarilla y aspecto inflamado.	Presencia continua de heces, intestino lleno y de apariencia normal.	Aspecto normal.	Análisis externo: camarón con apariencia normal. Análisis interno, <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: normal. • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: apariencia normal.
El Pequinés	Intermuda.	Coloración y textura normal, cromatóforos normales y textura blanda	Coloración normal.	Normales y limpias.	Color café con diadema amarilla.	Presencia continua de heces.	Aspecto normal.	Análisis externo: camarón con apariencia normal. Análisis interno, <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: normal. • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: apariencia normal.
Los Mancornados	Postmuda.	Coloración blanca translúcida y algunos con tonos amarillentos,	Aspecto sucio.	Presencia de detritus y protozoarios en las branquias.	Color de fluido rojo, abundante cantidad de lípidos.	Presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de dos a siete divisiones.	Opacidad leve.	Análisis externo: la coloración amarilla y puntas rojizas en los pereiópodos puede ser debido a liberación de gases al fondo de los estanques lo cual provoca irritación en los camarones. Análisis interno: <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos.

Tabla 22. Interpretación de resultados del análisis en fresco. Continuación.

29 de Junio	Intermuda.	Coloración normal del exoesqueleto, cromatóforos normales.	Se observa suciedad y melanización.	Presencia de detritus, protozoarios y necrosis en las branquias.	Fluido color rojo, túbulos melanizados y abundantes lípidos.	Presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de dos a siete divisiones.	Aspecto normal.	<p>Análisis externo: apariencia normal; la región oral puede presentarse sucia debido a presencia de epibiontes por baja calidad del agua.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: el signo de melanización encontrado en algunos individuos puede ser debido a se inicia algún ataque por bacterias o rickettsias, la severidad está sujeta a la cantidad de lesiones presentes en el órgano. • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos.
Cuche de monte	Intermuda.	Exoesqueleto color normal, leve expansión de cromatóforos y textura firme.	Aspecto normal.	Presencia de detritus y protozoarios en las branquias.	Color de fluido café y lípidos abundantes.	Presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de dos a siete divisiones.	Músculo con opacidad leve y textura firme.	<p>Análisis externo: camarón con apariencia normal.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos

Tabla 23. Interpretación de resultados del análisis en fresco. Continuación.

La Chacastera	Intermuda.	Buena actividad del camarón, coloración blanca translúcida, cutícula y cromatóforos normales.	Aspecto normal.	Aspecto normal.	Aspecto normal.	Aspecto normal.	Textura muscular flácida.	<p>Análisis externo: camarón con apariencia normal.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: normal. • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: apariencia normal. • En cuanto a la flacidez del musculo puede deberse a que el camarón se encuentra débil por algún motivo que no se evidencia en signos.
San Francisco	Intermuda.	Exoesqueleto color normal, cromatóforos normales, textura firme	Se observa melanización.	Presencia de detritus y protozoarios en las branquias.	Color de fluido café y lípidos abundantes.	Presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de dos a siete divisiones.	Musculo normal con leve opacidad.	<p>Análisis externo: apariencia normal; la región oral puede presentarse sucia debido a presencia de epibiontes por baja calidad del agua.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: apariencia normal • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos.

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

Tabla 24. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón.

GRANJA CAMARONERA	ANÁLISIS ANATÓMICO							Interpretación de resultados
	Estadio de muda	Características externas	Región oral	Branquias	Hepatopáncreas	Intestino	Músculo	
La Salvadoreña	Intermuda.	Organismo blanco traslucido, cutícula normal, cromatóforos expandidos, musculo firme con opacidad de leve a moderada, urópodos rojizos con leve fluorescencia.	No se observa melanización.	Color café y sucio, abundante presencia de detritus, protozoarios y signos de melanización.	Hepatopáncreas color café oscuro.	Leve inflamación del ciego, heces continuas.	Opacidad muscular moderada y textura firme.	<p>Análisis externo: los cromatóforos expandidos son una respuesta de estrés que se puede dar por la manipulación y el traslado; aunque en algunas ocasiones cuando los cromatóforos están expandidos y el camarón se observa con coloración rosada o rojiza puede ser debido a un ataque bacteriano o alto nivel de estrés por algún agente patógeno, la opacidad muscular podría deberse a que el camarón ha estado expuesto a concentraciones bajas de oxígeno durante algún periodo de tiempo. En los urópodos la coloración rojiza y la fluorescencia podría deberse a que en el medio hay presencia de alguna bacteria y el camarón podría estar siendo atacado.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: el color café, la presencia abundante de detritus y protozoarios indican que el estanque posee baja calidad de agua, encontrando además melanizaciones en las lamelas branquiales lo cual indica que el cuadro era severo. • Hepatopáncreas: Debido al color se considera normal. • Intestino: Se considera normal, las heces en los camarones siempre deben ser continuas (repleción intestinal).

Tabla 25. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.

Rincón cuche de monte	Intermuda.	Leve expansión de cromatóforos, color blanco traslúcido, textura de cutícula normal.	No se observa melanización.	Leve presencia de detritus y protozoarios.	Color café oscuro con fluido café claro y rojizo, con abundante cantidad de lípidos y presencia de epibiontes.	Inflamado con presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de 2 a 7 divisiones	Opacidad muscular leve y textura firme.	<p>Análisis externo: Los camarones presentaban signos normales.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: Debido al color externo, el fluido con coloración rojiza y la abundante cantidad de lípidos es considerado normal • Intestino: la presencia de gregarinas provoca inflamación en el intestino y en el ciego hepático posterior y se pueden encontrar en diferentes estadios. Las gregarinas son protozoarios que parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos, las gregarinas al igual que todos los parásitos, necesitan de un hospedero intermediario y actualmente se encuentra presencia de gregarinas en todos los estagues, sin embargo, es de destacar que este tipo de parásitos no presentan zoonosis por lo que no son un riesgo para la salud humana.
------------------------------	------------	--	-----------------------------	--	--	--	---	--

Tabla 26. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.

Fauna Silvestre	Postmuda.	Color amarillento, textura de cutícula normal, cromatóforos expandidos.	No se observa melanización.	Sucias, leve presencia de detritus y protozoarios.	Color café oscuro con fluido rojizo, melanización, necrosis, deformidad tubular, lípidos abundantes y ciego intestinal inflamado.	Abundante presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de 4 divisiones.	Firmeza muscular aunque con opacidad de leve a moderada.	<p>Análisis externo: en cuanto a la coloración amarillenta podría deberse a que el camarón no había presentado muda, por alguna razón.</p> <p>Análisis interno,</p> <ul style="list-style-type: none"> • Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aún no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón. • Hepatopáncreas: los signos de deformación, melanización y necrosis que se pudieron observar en algunos individuos analizados, pudieron ser debido a que existía algún agente patógeno atacando al camarón, este tipo de lesiones pueden ser provocadas por alguna especie de Vibrio o por la rickettsias que provoca la NHPB, en este caso debido a que se encontró presencia de Vibrio esa es la razón por la cual se presentaban las lesiones, además al ser severo el ataque ocasiona mortalidad en el cultivo. • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad en los cultivos.
------------------------	-----------	---	-----------------------------	--	---	---	--	---

Tabla 27. Análisis de resultados del análisis en fresco del camarón. Continuación.

Sara y Ana	Intermuda.	Color normal y limpias.	No se observa melanización.	Presencia de detritus, protozoarios y necrosis multifocal.	Coloración rojiza con abundante cantidad de lípidos.	Ciego intestinal inflamado, gregarinas en estadio de gametocitos.	Firmeza muscular aunque con opacidad de leve a moderada.	<p>Análisis externo: camarón con apariencia normal, la opacidad podría deberse a bajas de oxígeno.</p> <p>Análisis interno, Branquias: la presencia necrosis multifocal indica que la calidad del agua del estanque era muy baja debido a que las necrosis se presentan por dos razones, 1) alta presencia de protozoarios, detritus y bacterias filamentosas. 2) debido a que existen presencia de químicos que se están produciendo en el estanque como puede ser el amonio.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hepatopáncreas: apariencia normal. • Intestino: Las gregarinas parasitan el tracto digestivo en los camarones y dependiendo de la severidad del caso pueden provocar pérdida de apetito, el crecimiento se detiene y en casos altamente severos provocan mortalidad
San Hilario	Intermuda.	Color normal, expansión moderada de cromatóforos, antenas completas con intenso color rojo, periópodos con coloración amarilla y puntas rojizas.	No se observa melanización.	Presencia de detritus y protozoarios.	Melanización tubular, abundante cantidad de lípidos, color de fluido marrón.	Ciego intestinal inflamado, heces en forma discontinua, presencia de gregarinas en estadio de gametocitos y sicigias de 2 a 7 divisiones.	Firmeza muscular aunque con opacidad.	<p>Análisis externo: la coloración rojiza en las antenas se puede considerar un signo de estrés; sin embargo en nuestro medio es usual encontrar esta coloración en las mismas, las antenas siempre deben estar completas y no cortadas, la coloración amarilla y puntas rojizas en los pereiópodos puede ser debido a liberación de gases al fondo de los estanques lo cual provoca irritación en los camarones.</p> <p>Análisis interno, Branquias: la presencia leve de detritus y protozoarios indican que la calidad del agua es baja pero aun no presentaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón.</p> <p>Hepatopáncreas: el signo de melanización encontrado en algunos individuos puede ser debido a se inicia algún ataque por bacterias o rickettsias, la severidad está sujeta a la cantidad de lesiones presentes en el órgano.</p>

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

4.3 Resultados moleculares.

En la tabla 23 se encuentra el comparativo de resultados de la evaluación molecular de la presencia de la toxina 1 de la Enfermedad Hepatopancreática Aguda/ Síndrome de la Mortalidad Temprana, y tres muestras dieron resultados positivos para el plásmido y ninguno para la toxina, sin embargo al determinarse este resultado mediante una evaluación molecular, la identificación del plásmido causante de la toxina vincula ineludiblemente al agente causal de la AHPND/EMS y se constituye como una amenaza latente para el desarrollo de la toxina al encontrarse las condiciones de estrés térmico necesarios para que se manifiesten los síntomas de la enfermedad con todas sus implicaciones para la salud animal y pública.

Tabla 28. Resultados de la evaluación molecular del plásmido.

Cooperativa		Estanques		Plásmido	Plásmido y Toxina 1
1	La Salvadoreña	1	7	-	-
2	Rincón Cucho de Monte	2	1	-	-
3	Fauna Silvestre	3	La troncosa	-	-
		4	La clínica	+	-
4	Sara y Ana	5	El Carbón	-	-
		6	El Hoyón	-	-
5	San Hilario	7	Punta de riel,	-	-
		8	Calentador 1	-	-
		9	Capulín 1	-	-
		10	Capulín 2	-	-
6	La Romerito	11	2	-	-
7	El Pequinés	12	2	-	-
8	Los Mancornados	13	6	-	-
9	29 de Junio	14	3	-	-
		15	6	-	-
		16	9	-	-
10	Cucho de Monte	17	La Palosa 1	-	-
11	La Chacastera	18	2	-	-
12	San Francisco	19	7	-	-

Fuente: Elaborado por los propios autores, año 2016.

V. DISCUSIÓN

Solamente el estanque Capulín 2 de la Cooperativa San Hilario presentó valores de fosfatos dentro de los límites permitidos, sin embargo los 18 estanques estudiados restantes presentaron niveles elevados de ese mineral, lo cual puede estar relacionado con las prácticas de fertilización del estanque y el momento del ciclo productivo en el que se desarrolló el muestreo, ya que al ser un ecosistema con clima cálido, los productores tienden a fertilizar los estanques con abonos químicos, para aumentar la cantidad de fitoplancton que utiliza el camarón como alimento y aumentar la productividad del estanque desde la siembra de la post larva.

Únicamente los estanques de las cooperativas: La Salvadoreña, San Francisco y San Hilario, presentaron rangos aceptables de Amoníaco ionizado y no ionizado (NH_3 - NH_4^+), lo cual podría explicarse si se considera que al momento del muestreo existía una gran cantidad de organismos y que por su naturaleza metabólica, al excretar sus desechos nitrogenados en forma de NH_3 sin ninguna transformación química difunden estas sustancias desde el cuerpo del camarón hacia el agua del estanque.

El consumo de concentrado con alta cantidad de proteína cruda, también estaría provocando eventualmente, una acumulación de amoniaco en el agua del recipiente.

Se sabe que el oxígeno, es el principal parámetro para la acuicultura, de las tablas 3, 13, 14,15 y 16, se observa que esta sustancia, determina en gran medida la productividad de las granjas camaroneras que participaron en esta investigación. Ninguna tuvo una demanda bioquímica de oxígeno aceptable, sino que superaron en 12 veces los valores recomendados, quedando claro que hay una gran cantidad de bacterias aerobias en el agua compitiendo por el oxígeno del estanque lo cual influye en la talla del camarón y guarda relación con la demanda química de oxígeno. El cociente entre ambos parámetros indica sin embargo en todos los casos, que las sustancias solidas sedimentables se pueden tratar con sistemas biológicos para disminuir el potencial contaminante y la toxicidad para otros organismo acuáticos del agua de esos estanques. Dado que los camarones respiran el oxígeno molecular (O_2) disuelto en el agua. La concentración de oxígeno en solución en el agua de un estanque puede ser considerada como el parámetro variable más importante en la acuicultura. De muchas maneras, el

nivel de oxígeno en solución es el mejor indicador del estado general del cultivo acuícola, por lo que de los resultados puede inferirse que tanto en estanques de cultivo intensivo como semi-intensivo, los niveles de oxígeno se ven afectados por el incremento de la salinidad del agua, puesto que las zonas de cultivo del camarón presentan temperaturas promedio a los 35 grados centígrados o superiores, disminuyendo la capacidad del cuerpo de agua para retener el oxígeno gaseoso en solución por desplazamiento de este por las moléculas de sal y como consecuencia, el agua de mar contenida en los estanques tiene una menor capacidad de mantener el gas en solución y eso explica los bajos niveles de oxígeno en las lecturas. La densidad poblacional en estos estanques también estaría influyendo en los niveles de O₂ del estanque, lo que crearía un ambiente de toxicidad por la elevada cantidad de materia orgánica y de sólidos sedimentables en el agua, especialmente en los estanques sin sistemas de aireación.

En cuanto a la materia sólida presente, las cooperativas Fauna Silvestre, Sara y Ana, 29 de Junio, Rincón Cuche de Monte y San Hilario, superaron los valores de sólidos sedimentables, lo cual podría estar relacionado con las características fisicoquímicas de la fuente de agua, la intensidad del cultivo y la forma y periodicidad de alimentación y fertilización del estanque.

El principal hallazgo del estudio fue la detección mediante PCR de la forma no virulenta de *Vibrio Parahaemolyticus* con el plásmido AHPND pero sin la toxina 1 causante del Síndrome de la Mortalidad Temprana en muestras de hepatopáncreas de camarones del estanque la clínica de la cooperativa Fauna Silvestre, sin embargo ese estanque presentó los niveles de sólidos coloidales más bajos que el resto, por lo que se deben considerar otros parámetros importantes que pueden estar influyendo, como la trazabilidad del origen de la post larva, el alimento y el agua de la bahía. Debido a la magnitud del hallazgo, es necesario que se confirme el diagnóstico por un laboratorio autorizado por el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA).

VI. CONCLUSIONES

Debido al comportamiento de los niveles de fosfatos, se puede concluir que en dichos estanques no existe un adecuado uso en la aplicación de fertilizantes al agua de los estanques, ni una correcta selección de los mismos para mantener un balance de nutrientes sin comprometer la calidad microbiológica del cuerpo de agua, se deben de tomar medidas correctivas como tratamientos con bacterias benéficas para agua y suelo, que sean necesarios a fin de mantener estos niveles dentro del rango aceptable.

La alta densidad de siembra de los camarones en los estanques provoca niveles tóxicos de sustancias de desecho, específicamente amoníaco ionizado y no ionizado (NH_3 - +), los cuales al concentrarse en niveles superiores a 3.0 mg/L (ppm), impiden el crecimiento y normal desarrollo de los camarones, además provoca una necrosis multifocal en las branquias, por lo que se recomienda considerar la densidad de siembra, especialmente en aquellos estanques donde el recambio de agua no se hace con periodicidad para evitar pérdidas en la producción.

La saturación de oxígeno disuelto no es suficiente para proporcionar al camarón las condiciones necesarias para una respiración adecuada, al haber poco oxígeno disponible, no se desarrolla el volumen esperado de masa muscular en el animal, no hay un correcto desarrollo y esto provoca estrés metabólico alto. Sin embargo, en estas condiciones, la adaptación del camarón a la hipoxia, si bien es cierto no lo mata, si se traduce en bajo rendimiento de producto por estanque y pérdidas económicas para el productor, por lo que se recomienda en la medida de las posibilidades implementar aireadores para aumentar la saturación de oxígeno.

Es necesario que los productores tomen estos hallazgos en cuenta para mejorar su producción y brindar un producto de mejor calidad a los consumidores.

En cuanto a las características fisicoquímicas del agua de los estanques analizados, puede concluirse que al final del ciclo productivo, el agua se torna tóxica y contaminante, por lo que se recomienda tratarla previa a su liberación en aguas abiertas, pueden utilizarse lodos activos y remediadores biológicos para disminuir los niveles de DBO y DQO.

Las principales fuentes responsables de los sólidos sedimentables en los estanques fueron los excrementos de los camarones, restos de alimento alto en proteína cruda, detritus y material floculante residual del encalado del estanque. Es recomendable que en los estanques de las cooperativas donde los sólidos sedimentables superaron el valor de 1.0 ml/L máximo tolerable, se haga un proceso de remoción de la capa de materia orgánica del fondo del estanque y se deje secar al sol hasta que los niveles de carbono emitido no sean detectables, con el fin de mejorar el suelo del estanque para una resiembra de post larva y obtener mejores rendimientos.

El contenido de sólidos coloidales en los estanques se debió principalmente a bacterias, limo fino y virus, por lo que se recomienda profundizar en la caracterización microbiológica del agua de los estanques y de las fuentes con las cuales efectúan el llenado de los mismos, ya que si esa agua posee una gran carga microbiológica habría que tomar medidas al respecto, pues esto influye directamente en la inocuidad del camarón que se ofrece al consumidor ya que de existir microorganismos patógenos, los camarones podrían resultar no aptos para el consumo.

La severidad de la carga de gregarinas que se encontraron parasitando el tracto digestivo en los camarones en algunos casos puede provocar pérdida de apetito, detención del crecimiento y en casos altamente severos inducen a la mortalidad en los cultivos de camarón. Esto también puede estar relacionado con la alta densidad de siembra y la carga microbiológica en el agua del estanque, por lo que conviene hacer un monitoreo de gregarinas y se recomienda aplicar productos anticoccidiales, sin embargo, esta situación también puede corregirse principalmente removiendo el fondo del estanque antes de hacer una nueva siembra y aplicando sanitizantes en el suelo al finalizar el ciclo de cultivo, para eliminar los hospederos intermediarios de las gregarinas que pudieran estar presentes.

La coloración amarilla y puntas rojizas en los periópodos pudo deberse por el contacto con gases liberados por el fondo de los estanques, lo cual podría haber provocado irritación en los camarones. Se recomienda realizar mediciones de CO₂.

La presencia leve de detritus y protozoarios en las branquias del camarón, indican que la calidad del agua es baja pero aun no representaba un alto riesgo para la sobrevivencia del camarón.

La región oral puede presentarse sucia debido a presencia de epibiontes por baja calidad del agua.

El signo de melanización del hepatopáncreas encontrado en algunos individuos pudo deberse a algún ataque por bacterias o rickettsias y la severidad estuvo sujeta a la cantidad de lesiones presentes en ese órgano mientras que la opacidad muscular podría deberse a que el camarón ha estado expuesto a concentraciones bajas de oxígeno durante algún periodo de tiempo.

En los urópodos la coloración rojiza y la fluorescencia puede estar asociada a que en el medio hay presencia bacterias y el camarón podría estar siendo atacado.

Se encontró la forma no virulenta de *V. Parahemolitycus* con el plásmido AHPND pero sin la toxina 1 en muestras de hepatopáncreas de camarones del estanque la clínica de la cooperativa Fauna Silvestre, lo cual corresponde con los signos de deformación, melanización y necrosis del hepatopáncreas que se pudieron observar en algunos individuos examinados en el análisis en fresco, indicando el ataque de este agente patógeno. Estas lesiones son provocadas por el *Vibrio* y otros microorganismos como las rickettsias que provocan la hepatopancreatitis necrotizante, además al ser un ataque severo ocasionan mortalidad en el cultivo. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos del agua y fondo, se recomienda monitorear el agua que ingresa a la cooperativa y el origen de la post larva.

Este hallazgo representa una alerta para los productores y el Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura, ya que de encontrarse las condiciones climáticas para que el plásmido desarrolle la virulencia, podría existir un brote de EMS en el país y deben implementarse medidas de vigilancia zoonosanitaria en aquellos puntos de control en la cadena productiva, ya descritos por organismos internacionales de vigilancia epidemiológica.

VII. REFERENCIAS CONSULTADAS.

1. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Descripción general del sector acuícola nacional. Visión general del sector acuícola nacional - México. Descripción general del sector acuícola nacional Hojas de datos. Texto de Montero Rodríguez, M. En: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma: Pdf ; 2005. 21p.
2. Ministerio de Medioambiente y Recursos Naturales. Plan de manejo del área natural y humedal bahía de Jiquilisco. San Salvador, El Salvador UCA Editores, 2004. 258 p.
3. Cuéllar Anjel J, Lara C, Morales V, De Gracia A, García Suárez O. Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*. OIRSA-OSPESCA: 2010.
4. Morales Covarrubias MS. Camarón análisis en fresco, herramienta de diagnóstico. OIRSA-CIAD: 2013.
5. Rugama Velásquez J, Martínez Gonzáles E. Comparación del crecimiento de camarón *Litopenaeus vannamei* bajo dos condiciones de cultivo: uno en siembra directa y el otro por fases (Invernadero, precría). Revista Científica de la UNAN-León. 2015 Jul; 1(6): 95-102.
6. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación [Internet]. Francia: cultivo del camarón blanco *Litopenneus vannamei*: Cultivo de *Litopennaeus vannamei*. asesoría en la cría del camarón ingeniería acuícola ingeniería nutricional FAO. [Revisado 01 de Noviembre de 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC404S/AC404S00.htm>

7. Auburn University. Centro internacional para la acuicultura y medioambiente acuático. Acuicultura y aprovechamiento del agua para el desarrollo rural. Introducción del cultivo de peces en estanques. <https://cals.arizona.edu/azaqua/AquacultureTIES/publications/Spanish%20WHAP/GT6%20Intro%20al%20Cultivo.pdf>
8. Carillo P. Comportamiento del oxígeno disuelto en la columna de agua de las estaciones fijas ecuatorianas. En línea pdf. Acta oceanográfica del pacífico vol. 18 n° 1, 2013. 8p. Disponible en: https://www.inocar.mil.ec/web/phocadownloadpap/actas_oceanograficas/acta18/0CE1801_4.pdf
9. Carrillo, P. 2011. Comportamiento del Oxígeno y Micronutrientes en dos Estaciones Costeras La Libertad y Manta, como aporte al Conocimiento del fenómeno El Niño, Tesis de Maestría, Universidad de Guayaquil. p.9, 53-95
10. Boyd C.E. consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. Métodos para mejorar la camaronicultura en Centroamérica. 2011. 31:511-544. Consultado el 12 de julio de 2016,. Disponible en: <http://www.cesasin.com.mx/CentroAmerica/1Calidad%20del%20agua.pdf>
11. Ulloa Tello R. El efecto de dos porcentajes de recirculación de agua en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*). Universidad técnica de machala, facultad de ciencias agropecuarias escuela de ingeniería acuícola. Disponible en: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2009/1/CD681_TESIS.pdf

12. Blandón Muñoz L, Ordoñez Cruz J. Comparación del crecimiento de postlarvas de *Litopenaeus vannamei* (120 ind/m²) aplicando alimento comercial con flóculo vs el mismo alimento sin flóculo. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua León, (UNAN -León) Facultad de Ciencias y Tecnología carrera de Ingeniería Acuícola. Pdf, disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3066/1/225815.pdf>
13. Meyer D. Introducción a la acuicultura. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2004:159 p.
14. Hernández G C, Ulloa P J, Vergara O, Espejo T R, Cabello C F. Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. Rev. méd. Chile [Internet]. 2005 Sep [citado 2017 Dic 01]; 133(9): 1081-1088. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v133n9/art13.pdf>
15. Chávez Sifontes J, Orantes Guerrero E. Reconocimiento de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos como alternativa para determinar la calidad del agua del Río Sensunapán, Departamento de Sonsonate, El Salvador, C.A. 2010. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Protección Vegetal. Pdf tesis en línea. Consultado el 12 de Octubre de 2016, Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/935/1/13100846.pdf>
16. Flores Primo A, Pardío Sedas V T, López Hernández K, Lizárraga Partida L, Uscanga Serrano R. Crecimiento y sobrevivencia de *Vibrio parahaemolyticus* en ostión americano (*Crassostrea virginica*) almacenado en refrigeración. Salud pública Méx [revista en la Internet]. 2015 Jun [citado 2017 Dic 01]; 57(3): 211-218. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342015000300009&lng=es

17. Iowa State University. Centro para la seguridad alimentaria y salud pública. Cuéllar-Ánjel J. Síndrome de la mortalidad temprana (EMS), Enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND). 2013. [Internet], disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/acute-hepatopancreatic-necrosis-disease-es.pdf>

18. Barroco MA, Perazzolo LM, Rosa RD. Inmunología del Camarón [Internet]. Guía Técnica: Patología e Inmunología de Camarones Peneidos. 2008. 274 p. Consultado el 21 de Marzo de 2016. Disponible en: <http://www.rr-americas.oie.int/documentos/PATOLOGIA E INMUNOLOGIA.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Formulario para registrar la condición del suelo de los estanques.

NF 01

CÓDIGO: _____

FORMULARIO PARA EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN DEL SUELO DE ESTANQUES

Nombre de la granja: _____ Nombre del estanque:

_____ Fecha: _____ Hora de inicio: _____

Coordenadas: _____

Responsable de la colecta de datos:

Parámetros	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5
Profundidad (cm):					
Coordenadas:					
pH por punto:					
Características organolépticas:					
Olor:					
Color:					
Textura:					
Productos utilizados durante el ciclo de cultivo (tipo y cantidad):					

Anexo 2. Formulario para registrar parámetros físicoquímicos de la calidad del agua.

NF 02

CÓDIGO: _____

FORMULARIO PARA MEDICIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE CALIDAD DE AGUA DE LOS ESTANQUES

Nombre de la granja: _____ Nombre

del estanque: _____ Fecha: _____ Hora de inicio: _____

Coordenadas: _____. Responsable de la colecta de muestras:

Profundidad promedio del estanque (cm)	Profundidad de toma de muestra (cm)	Parámetros físico-químicos						
		Oxígeno sup. (mg/l)	Oxígeno fon. (mg/l)	Tem p. Sup. (°C)	Tem p. Fon. (°C)	Salinidad (%)	Turbidez (cm)	pH

Productos utilizados durante el ciclo de cultivo	Tipo	Cantidad
Biorremediador:		
Probiótico:		
Prebiótico:		
Antibiótico:		
Fertilizante:		
Melaza:		
Otros:		

Esquema de la forma del estanque y puntos a muestrear:

Color blanco o amarillo										
Diadema amarilla (%)										
Hemolinfa										
Tiempo de coagulación										
Color celeste translúcido										
Color translúcido										
Color blanquecino										

Observaciones:

Anexo 4. Glosario de términos empleados.

GLOSARIO

AHPND/ EMS	Siglas en inglés de la Enfermedad hepatopancreática aguda/ Síndrome de la mortalidad temprana.
Bentónico	Se designa así a un animal o planta que vive en el fondo del mar.
Fitoplancton	Algas y vegetales microscópicos que se encuentran en la superficie de las aguas marinas y lacustres.
Gregarinas	Protozoarios que parasitan al camarón marino.
Hemocianina	Sustancia de color azul con función semejante a la hemoglobina que se encuentra en la sangre de algunos crustáceos.
Humedal	Ecosistemas que suministran agua potable, abarca todos los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, ya sean dulces o salados.
Melanización	Pigmentación oscura del camarón producida por células sanguíneas como defensa al ataque de enfermedades.
Micrófitos	Microorganismo de naturaleza vegetal.
<i>Penaeus vannamei</i>	Nombre científico del camarón blanco del Pacífico.
PCR	Siglas en inglés de la Reacción en Cadena de la Polimerasa.
Plásmido	Moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera.
Postlarva	Se llama así al estadio del ciclo biológico del camarón posterior a la larvaria, cuando mide entre 7 y 12 mm y puede cultivarse en estanque.
Telson	Apéndice terminal del cuerpo del camarón marino.
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Microorganismo del género <i>Vibrio</i> que pertenece al tipo gram negativo.
Zeolita	Tipo de silicato de origen volcánico.

Imprenta Campos
Esta obra se terminó de imprimir en Enero 2018.
40 ejemplares.



MISIÓN

“FORMAR PROFESIONALES A TRAVÉS DE LA DOCENCIA, INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN SOCIAL, CON CALIDAD ACADÉMICA, ÉTICA Y COMPETITIVIDAD PARA CONTRIBUIR AL DESARROLLO NACIONAL”

