

INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**USO DE MONENSINA SÓDICA EN EL
CULTIVO DE CAMARÓN MARINO LITOPENAEUS
VANNAMEI PARA EL TRATAMIENTO DE
GREGARINAS EN COOPERATIVA FAUNA
SILVESTRE, BAHÍA DE JIQUILISCO.**

En asocio con Cooperativa Fauna Silvestre.

DOCENTE INVESTIGADORA PRINCIPAL:
LCDA. CLAUDIA MARISOL ORELLANA DE GRANADOS

CENTRO REGIONAL MEGATEC LA UNIÓN

ENERO 2018

INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**USO DE MONENSINA SÓDICA EN EL
CULTIVO DE CAMARÓN MARINO LITOPENAEUS
VANNAMEI PARA EL TRATAMIENTO DE
GREGARINAS EN COOPERATIVA FAUNA
SILVESTRE, BAHÍA DE JIQUILISCO.
*En asocio con Cooperativa Fauna Silvestre.***

DOCENTE INVESTIGADORA PRINCIPAL:
LCDA. CLAUDIA MARISOL ORELLANA DE GRANADOS

CENTRO REGIONAL MEGATEC LA UNIÓN

ENERO 2018

Rectora

Licda. Elsy Escolar SantoDomingo

Vicerrector Académico

Ing. Carlos Alberto Arriola Martínez

Vicerrectora Técnica Administrativa

Inga. Frineé Violeta Castillo

**Dirección de Investigación
y Proyección Social**

Ing. Mario Wilfredo Montes, Director

Ing. David Emmanuel Ágreda

Sra. Edith Aracely Cardoza

Director Centro Regional La Unión

Lic. Luis Ángel Ramírez Benítez

636.089 51

C613d Orellana de Granados, Claudia Marisol, 1978 -
SV

Uso de monensina sódica en el cultivo de camarón marino *Litopenaeus vannamei* para el tratamiento de gregarinas en la cooperativa Fauna Silvestre, Bahía de Jiquilisco : En asocio con cooperativa Fauna Silvestre. / Claudia Marisol Orellana de Granados -- 1ª ed. -- Santa Tecla, La Libertad, El Salv. : ITCA Editores, 2018. 55 p. : 28 cm.

ISBN 978-99961-50-78-4 (impreso)

1. Farmacología marina. 2. Cultivo de mariscos - Camarones. 3. Parasitología veterinaria. 4. Gastroenterología veterinaria. 5. Enfermedades intestinales I. Título.

Autor

Lcda. Claudia Marisol Orellana de Granados

Tiraje: 13 ejemplares

Año 2018

Este documento técnico es una publicación de la Escuela Especializada en Ingeniería ITCA-FEPADE; tiene el propósito de difundir la Ciencia, la Tecnología y la Innovación CTI, entre la comunidad académica y el sector empresarial, como un aporte al desarrollo del país. Este informe de investigación no puede ser reproducido o publicado parcial o totalmente sin previa autorización de la Escuela Especializada en Ingeniería ITCA-FEPADE. Para referirse a este documento se debe citar al autor. El contenido de este informe es responsabilidad exclusiva de los autores.

Escuela Especializada en Ingeniería ITCA-FEPADE

Km 11.5 carretera a Santa Tecla, La Libertad, El Salvador, Centro América

Sitio web: www.itca.edu.sv

Tel: (503)2132-7423

Fax: (503)2132-7599

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	5
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
2.1.	DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	5
2.2.	ANTECEDENTES – ESTADO DE LA TÉCNICA.....	6
2.3.	JUSTIFICACIÓN	6
3.	OBJETIVOS	7
3.1.	OBJETIVO GENERAL.....	7
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
4.	HIPÓTESIS – PREGUNTA PROBLEMA.....	7
5.	MARCO TEÓRICO	7
5.1.	GENERALIDADES	7
5.2.	AGENTE ETIOLÓGICO Y HOSPEDEROS MÁS COMUNES.....	8
5.3.	CICLO DE VIDA.....	9
5.3.1.	MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.....	9
5.3.2.	SIGNOS CLÍNICOS.....	9
5.4.	CULTIVO DE CAMARÓN EN JAULAS FLOTANTES	10
5.5.	ANÁLISIS EN FRESCO	11
5.6.	TAXONOMÍA Y ANATOMÍA.....	11
5.7.	SELECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.....	13
5.7.1.	MUESTREO ALEATORIO	14
5.7.2.	MUESTREO NO ALEATORIO	15
5.8.	DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS EN FRESCO	16
5.9.	ALTERACIONES EXTERNAS.	18
5.10.	ELECCIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS EN FRESCO.....	21
5.11.	DISECCIÓN DE ORGANISMOS Y REVISIÓN DE MUESTRAS.....	22
6.	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	28
6.1.	DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	28
6.2.	UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	30
6.3.	FASE DE CAMPO	31
6.4.	FASE DE LABORATORIO	31
6.5.	ANÁLISIS DEL CAMARÓN.....	32
6.6.	ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS DE HEMOLINFA.....	33

6.7. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS DE HEPATOPÁNCREAS	33
7. RESULTADO	33
7.1. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE CAMARÓN	33
7.2. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO	34
7.3. ANÁLISIS EN FRESCO DE MUESTRAS DE CAMARÓN SOMETIDO A MONENSINA SÓDICA	37
7.4. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE MUESTRAS DE CAMARÓN MARINO SOMETIDOS A LA MONENSINA SÓDICA	39
8. CONCLUSIONES	41
9. RECOMENDACIONES	42
10. GLOSARIO	43
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
12. ANEXOS	46

1. INTRODUCCIÓN

Este proyecto estuvo orientado a evaluar el efecto del producto veterinario Monensina Sódica, un anticoccídico utilizado actualmente en el cultivo de camarón marino de la especie *Litopenaeus vannamei* para el tratamiento de la parasitosis por gregarinas. Durante la investigación se identificó la presencia de gregarinas en los estanques de la Cooperativa Fauna Silvestre; se estableció el porcentaje de la población infectada por gregarinas y se determinó el grado de afectación que presenta el cultivo, información que permitió seleccionar el estanque donde se instalaron tres japas, cada una con una dimensión de tres metros de largo por un metro y medio de ancho y un metro de profundidad; en cada japa se colocaron 100 camarones procedentes del mismo estanque. La aplicación del tratamiento fue por un periodo de 5 días, el cual consistió en evaluar el efecto de dos tratamientos con dosis de 8 y 10 gramos de Monensina Sódica por cada kilogramo de alimento que se suministra por separado a los camarones de las japas uno y dos; el tercer grupo de camarones será la japa testigo en el estudio. Posteriormente se evaluó el crecimiento de los camarones tratados durante un ciclo de cultivo y se comparó con los camarones que no recibieron tratamiento. Las muestras de camarón tomadas en campo fueron trasladadas en bolsas con agua y oxígeno hacia el laboratorio del Centro Regional MEGATEC La Unión, donde fueron procesadas mediante el método de análisis en fresco, método que permitió identificar el grado de infestación del parásito que se aloja en el intestino del camarón. Las muestras se tomaron antes y después de iniciar el tratamiento con Monensina Sódica. Durante la toma y procesamiento de las muestras se contó con la participación de estudiantes del Técnico en Manejo Integrado de Recursos Costero Marinos, con la finalidad de fortalecer sus capacidades mediante la aplicación de procedimiento, para detectar de forma temprana la presencia de Gregarinas en los cultivos de camarón marino.

Para identificar el estado de los camarones con las Gregarinas, se realizaron un total de 98 análisis, de los cuales los principales fueron los análisis en fresco para identificar los parásitos en los intestinos y en las hepatopáncreas. La presencia de bacterias del género *Vibrio* spp. en el agua y en los intestinos de los camarones analizados indican que el equilibrio microbiano está volcado para la predominancia de vibrios que tienen el registro de pocas cepas patógenas, es decir, vibrios que pudieran considerarse “buenos” y por lo tanto, el desencadenamiento de una enfermedad de vibriosis podría ser poco probable que ocurra.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La presencia del parasitismo en los cultivos de camarón es un tema de gran preocupación e interés por parte de los productores de la zona, sin embargo el tema de la identificación temprana y sus posible tratamiento hoy en día continúan siendo un vacío en El Salvador ya que no se cuenta con investigaciones que determinen la eficiencia y eficacia de muchos de los productos químicos que se utilizan en los cultivos de manera empírica y son suministrados sin preinscripción medica corriendo el riesgo de agudizar el problema, ya que se conoce que el uso sin control de productos químicos pueden desencadenar problemas como la resistencia de los microorganismos en los cultivos. Los análisis en fresco en cooperativas camaroneras de la Bahía de Jiquilisco han permitido establecer la presencia de gregarinas en organismos jóvenes y adultos. Su presencia en el intestino del camarón se considera una de las causas de mortalidad significativa durante el cultivo.

2.2. ANTECEDENTES – ESTADO DE LA TÉCNICA

Impacto de las gregarinas en la industria camaronesa.

Las gregarinas son protozoarios que parasitan los cultivos de camarón; el género *Nematopsis*, parasita comúnmente el intestino del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*, especie que se cultiva actualmente en todo el mundo (Chávez-Sánchez et al., 2002). Por otra parte, Jiménez (1991) Reporta que la más alta concentración de gregarinas en camarones del género *Litopenaeus*, está asociada a intestinos vacíos o parcialmente vacíos, con tasa de crecimiento baja y que en el caso de invasiones masivas de gregarinas en camarones de talla menor, llegan a producir alta mortalidad. Cobarrubias (2013) Menciona que la infestación de los cultivos de camarón marino por gregarinas en grado 3 y 4 provoca una disminución del consumo de alimento, reducción en el crecimiento y altas mortalidades.

Métodos de diagnósticos.

La edad de los organismos en cultivo es importante, ya que algunas enfermedades afectan más a camarones de cierta edad que de otra. Los animales jóvenes presentan más frecuentemente patologías causadas por agentes infecciosos como virus, bacterias y hongos; los adultos, aunque son más resistentes a enfermedades, pueden presentar parasitosis internas (gregarinas) o externas (epicomensales), lesiones degenerativas o en algunos casos tumores. Realizar una adecuada anamnesis acompañada de una correcta exploración física, puede conducir a un diagnóstico certero que permitan evitar las mortalidades en los cultivos (Morales, V. y J. Cuéllar-Ángel (eds.). 2014)

Selección y toma de la muestra.

Para analizar una población se requiere de la selección y la toma adecuada de la muestra; ésta se elige de acuerdo con el estado de salud de los organismos o ante la sospecha de alguna enfermedad. El número de muestreos en el tiempo hasta la cosecha dependerá de los programas de prevención, de la historia de la granja, del origen de los organismos y de la densidad de organismos sembrados en el cultivo. Dependiendo del propósito del estudio, el muestreo puede ser aleatorio o no aleatorio. (Morales-Covarrubias, M.S. 2013).

Incidencia de la gregariniasis en el cultivo de camarón.

En una encuesta realizada a 23 camaronas de Sinaloa, México, en el año 2001, se reportaron ocho enfermedades, siendo las más frecuentes, la parasitosis por gregarinas, para lo que los granjeros utilizaron 106 diferentes productos para el control de estos padecimientos, destacando los aditivos en alimento, antibióticos, vitaminas y fertilizantes inorgánicos, sin obtener resultados favorables (Lyle-Fritch et al., 2006).

2.3. JUSTIFICACIÓN

Los cultivos de especies hidrobiológicas como lo es el cultivo de camarón marino están expuestas al padecimiento de enfermedades producto de las condiciones internas y externas que se presentan en los estanques de cultivo en las cooperativas de la Bahía de Jiquilisco, la frecuencia con que se repiten las enfermedades sobre todo las causadas por la parasitosis de gregarinas se han convertido en un verdadero problema ya que genera episodios repetitivos de mortalidad durante todo el ciclo de cultivo.

Por otra parte, la presencia de gregarinas se ha asociado a una reducción del crecimiento del camarón obligando al productor a prolongar su cultivo, situación que compromete la rentabilidad del cultivo; razón

por la cual los productores se ven en la necesidad de utilizar diversos tratamientos químicos que son recomendados por experiencias empíricas de otros camaroneros, sin establecer preinscripción médica de las dosis requeridas en el cultivo y sin conocer la efectividad del producto. Por tal motivo la Escuela de Ciencias del Mar desarrolló una investigación en estanques de la cooperativa Fauna Silvestre con el propósito de evaluar la efectividad de la Monensina Sódica como tratamiento parasitario para eliminar las gregarinas que son parásitos internos que se alojan en el intestino del camarón; con la investigación se pretende informar a los productores sobre el efecto de este producto y la forma responsable de su uso y aplicación.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de Monensina Sódica para el tratamiento de Gregarinas en el cultivo de camarón marino en cooperativa Fauna Silvestre.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar una evaluación del porcentaje de camarones parasitados por Gregarinas, en estanques de la cooperativa Fauna Silvestre y establecer el grado de infestación.
2. Evaluar el efecto del uso de 8 y 10 gramos de Monensina Sódica para el tratamiento de camarones parasitados por Gregarinas.
3. Elaborar una cartilla educativa sobre el impacto del parasitismo por Gregarinas en el cultivo de camarón marino.

4. HIPÓTESIS – PREGUNTA PROBLEMA

¿Cuál será el porcentaje de efectividad de la aplicación de Monensina Sódica en el tratamiento de camarones parasitados por Gregarinas?

5. MARCO TEÓRICO

5.1. GENERALIDADES

Las gregarinas son protozoarios cuyo grupo ha sido tradicionalmente ubicado en el Phylum Protozoa y en la clase Sporozoa (Kudo, 1954), son parásitos monoxenos o estenoxenos, concavidades corporales característica de los invertebrados, durante su ciclo de vida presenta fases de trofozoitos (gamontes) y fases sexuales grandes extracelulares (Reyes-Villanueva, 2004). Las gregarinas del género Nematopsis, parasitan comúnmente el intestino del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*, especie que se cultiva actualmente en todo el mundo (Chávez-Sánchez et al., 2002) citado por (Guzmán-Sáenz, Pérez-Castañeda, Gutiérrez-Salazar, & González-, julio-diciembre, 2014,)

Los protozoarios representan un grupo digno de atención, ya que a menudo son causantes de pérdidas económicas significativas en todos los sistemas de la acuicultura, son cosmopolitas y se les encuentra en todas las regiones del mundo donde se cultiva el camarón. Son considerados parásitos facultativos u obligados. Afectan a casi todos los órganos y tejidos de los camarones, y son fáciles de observar en preparaciones para análisis en fresco. En México, las gregarinas son observadas en los camarones durante todo el ciclo de cultivo con prevalencias de 10 a 60%, grados de severidad de 1 a 4, causando destrucción de la mucosa, desprendimiento del epitelio, formación de pliegues en el epitelio, hiperplasia, daños en los ciegos hepáticos e infiltración hemocítica severa que en ocasiones no permite el paso de la heces fecales con mortandad de 5 a 30 %. (Cobarrubias, 2010)

Los endoparásitos son protozoarios parásitos presentes en todo el mundo que se encuentran de manera natural en los estanques de cultivo y, dependiendo de la calidad del agua, el estrés y la susceptibilidad de los organismos pueden causar daños, obstrucción, inanición y mortalidad. Las gregarinas son los endoparásitos de mayor prevalencia en sistemas de cultivo con baja salinidad. Pueden encontrarse inter o intracelularmente en su hospedero, y aunque las células individuales de éste son destruidas por las fases intracelulares del parásito, la mayoría de las especies (*Nematopsis* sp, *Cephalolobus* sp y *Paraophioidina* sp) no son consideradas de alta patogenicidad en *Farfantepenaeus duorarum*, *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*. La única especie reportada como causante de daños en camarones es la denominada ***Nematopsis penaei***; en grados altos (G3-G4) provoca, en los camarones de cultivo, una disminución en el consumo de alimento, reducción en el crecimiento y altas mortalidades. También es posible que ocurran lesiones significativas que consisten en la reducción del grosor de la mucosa e hiperplasia del epitelio del intestino medio, para formar dobleces y perforaciones; esto puede facilitar el inicio de bacteremias potencialmente letales. Las gregarinas infectan la mucosa de los intestinos medio y posterior y los ciegos de camarones silvestres y cultivados; asimismo, causan destrucción del epitelio intestinal y afectan la absorción del alimento, por lo que es posible observar el intestino con secciones sin heces (Morales Cobarrubias, 2013)

5.2. AGENTE ETIOLÓGICO Y HOSPEDEROS MÁS COMUNES

Las gregarinas que se presentan con más frecuencia en camarones *P. vannamei* de cultivo, son del género *Nematopsis* sp. Pueden transmitirse al camarón mediante la ingestión de poliquetos como la *Polydora cyrrhosa* o a través de la ingestión de materia fecal de este segundo hospedero del protozoario. Otros hospederos son algunos moluscos bivalvos, que al igual que los poliquetos, ingieren las zigosporas que son las formas infectantes de protozoario.

Otros dos géneros que también se han observado en camarones *penaeidos* de cultivo son *Paraophioidina* y *Cephalolobus*, aunque con menor frecuencia.

Las siguientes son algunas de las características de los 3 géneros mencionados:

Nematopsis: el trofozoito está compuesto de 2 células: un protomerito largo provisto de un collar muscular, unido a un deutomerito más largo y más angosto. La forma del trofozoito se asemeja al de un champiñón. El paso de esporozoito a trofozoito lo realiza en el intestino medio.

Paraophioidina: en estado adulto se presenta como una sola célula alargada con un solo núcleo en zona media. En su parte anterior presenta estructuras de fijación mediante las cuales se adhiere al

hospedero o a otras gregarinas congéneres. Al igual que el género anterior, el paso de esporozoito a trofozoito lo realiza en el intestino medio.

Cephalolobus: se caracteriza por tener un englobamiento en la porción anterior, haciendo semejanza con una falsa “cabeza”. El ciclo de vida y las características morfológicas generales excepto la dilatación cefaloide, son similares a las descritas para *Nematopsis* sp. A diferencia de los géneros anteriores, el paso de esporozoito a trofozoito lo lleva a cabo en la zona posterior del estómago.

5.3. CICLO DE VIDA

En los camarones, la ingestión de un hospedero intermediario que contenga esporas de gregarina, trae como consecuencia la infestación. Las esporas ingeridas “germinan” para llegar a ser esporozoitos, los cuales se adhieren a la capa de quitina de las paredes y a los pliegues terminales del filtro gástrico. También pueden invadir o unirse al intestino medio o a las células epiteliales del ciego anterior, con su proceso especializado de epimeritos. Una vez adheridos, se desarrollan a trofozoitos que se caracterizan por su epimerito especializado y consisten en la forma inicial del protomerito, con un núcleo diferenciado y localizado centralmente. De cada uno pueden generarse al menos tres trofontes.

Los trofontes se separan de su unión al estómago o intestino medio, para convertirse en esporadio y pasar al intestino posterior, alojándose en sus pliegues. De cada célula individual de esporadio, se desarrolla un gametocisto. Algunas de estas células darán paso a la fase sexual de la reproducción del parásito, formando microgametos (gametos masculinos) y macrogametos (gametos femeninos). Cuando hay ruptura de los gametocistos, los gametos se entrecruzan y fusionan para formar cigotos, los cuales son liberados al medio externo.

Las zigosporas son consumidas por bivalvos y poliquetos. En el interior de estos segundos hospederos ocurre la esporogonia en las células del epitelio intestinal. Posteriormente, el camarón ingiere los poliquetos o sus heces y se infesta. Dentro del tracto gastrointestinal del camarón, se liberan los esporozoitos, ocupando el estómago posterior o el intestino medio, adhiriéndose a la cutícula o penetrando las membranas de las células del hospedero. Los esporozoitos son desarrollados a trofozoitos en el intestino medio, posterior o en el propio estómago.

5.3.1. MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Debido a la necesidad de varios hospederos dentro del ciclo de vida de las gregarinas, se cree que la transmisión de un camarón a otro no es frecuente. Algunos ensayos de transmisión en acuarios han mostrado que eliminando el segundo hospedero una vez están infestados los camarones, desaparecen los protozoarios del tracto intestinal en pocos días. Aunque los moluscos bivalvos han sido implicados tradicionalmente como hospederos intermediarios de las gregarinas para camarones penaeidos, el poliqueto *Polydora cyrrhosa*, anélido muy común que vive en el fondo de los estanques de cultivo de camarón, fue encontrado como un importante hospedero intermediario para el *Nematopsis* sp. Según estudios realizados en Ecuador, en estanques de cultivo de *P. vannamei*.

5.3.2. SIGNOS CLÍNICOS

Los camarones con infestaciones muy altas (más de 100 trofozoitos por cm de intestino medio), pueden mostrar una coloración amarillenta del intestino. En los casos en los que la infestación es severa e involucra a una gran parte de la población de cultivo, se puede presentar bajo crecimiento de los

camarones y aumento en el factor de conversión alimenticia.

Los camarones con niveles bajos o moderados de infestación por gregarinas, pueden no presentar signos clínicos y tener una apariencia general equivalente a camarones aparentemente sanos. (Abud., S/A).

5.4. CULTIVO DE CAMARÓN EN JAULAS FLOTANTES¹

El sitio donde deben ponerse las jaulas depende de:

- a) Aspectos técnicos, como movimiento, profundidad y calidad de aguas, todo esto en una región donde las mareas bi-diurnas de tres metros producen grandes corrientadas.
- b) La ubicación respecto a pesca y tránsito.
- c) Aspectos sociales, como accesibilidad y cuidado.

Mientras que la cercanía es muy relevante para miembros de la comunidad que no poseen botes o motores, como en general las mujeres, el cuidado es fundamental para todos porque el robo y el vandalismo son los factores externos tal vez de mayor detrimento. Las jaulas pueden ser de una variedad de diseños y materiales mientras mantengan a los camarones adentro y a los depredadores afuera, y permitan el paso del agua y la salida de desechos. Para camarones, los requerimientos para jaulas pequeñas (con volúmenes de 1 a 30 m³) no son muy exigentes, aunque las jaulas deben ser suficientemente fuertes y de por lo menos 1 m de profundidad (para un mínimo de 0.5 a 0.7 m sumergidos), cerradas en la superficie (para evitar escapes, sobre todo por hundimientos totales o parciales, al volcarse, o por oleaje fuerte) y preferiblemente con sombra (sarán) para mantener a los camarones seguros y tranquilos. En la Figura 1 se muestra una jaula, (a) de PVC, (b) de palos, (c) de varilla de hierro soldada, para pescado, forrada a mano con neumático, que es el tipo de jaula que ha demostrado ser la más resistente a estas condiciones, y (d) pequeña de madera para post-larva.



Figura 1 Jaula con marco de tubos de PVC, forrada con malla de nylon multifilamento de ¼".

La malla para la jaula depende del estadio de desarrollo. Se debe utilizar la malla que, mientras mantenga a los camarones adentro, permita el mayor paso del agua y evacuación de materia orgánica. Para los estadios post-larva se utilizó malla antiáfidos², aunque casi cualquier tela podría funcionar pues las pequeñas jaulas de vivero deben ser colocadas dentro de las jaulas más grandes de engorde para

¹ Artículo Científico de la Universidad de Costa Rica, Autor: Ricardo Radulovich, enero 2012

² La Malla Antiafidos evita la entrada de insectos vectores durante toda la temporada de cultivo de camarón, reduciendo la incidencia de virus sobre la producción, favoreciendo el rendimiento y calibre.

evitar su exposición directa al ambiente. Hay un segundo estadio de pre-engorde para el cual se puede utilizar sarán tejido (malla plástica para sombra, 70-80 % sombra), preferiblemente también manteniendo las pequeñas jaulas de pre-engorde dentro de las jaulas más grandes de engorde. El tercer estadio es engorde, en el cual camarones de más de 0.5-1.0 g de peso son mantenidos en jaulas más grandes cerradas totalmente preferiblemente con red de nylon, tratadas o no, o incluso cedazo de PVC u otros materiales de la menor apertura posible, como sarán tejido, que ha probado ser sorprendentemente fuerte).

Puede utilizarse doble malla u otras estrategias para divertir el paso del agua y troncos que vienen con ella. Notablemente, algunas condiciones (por ej. corrientes y lo que estas traen) varían cuando se tienen varias o muchas jaulas comparado con tener pocas. Las jaulas deben tener anclajes sólidos y los más fáciles de construir son bloques de concreto con una manilla de cuerda gruesa o de hierro cubierta con una manguera. Considerando jaulas, anclajes y otros costos como boyas (que pueden ser botellones plásticos de hasta 20 litros, incluso reusados), se ha logrado mantener un costo de alrededor de US\$20/m³ de jaula (o menos dependiendo de cómo se asigna valor a materiales y mano de obra), lo cual es aceptable porque son jaulas pequeñas con un cultivo de alto precio.

5.5. ANÁLISIS EN FRESCO³

Es la técnica que se utiliza para monitorear el estado de salud de los organismos y realizar diagnósticos presuntivos en laboratorio y campo. Consiste en la observación y disección del camarón en todos sus estadios, para observar las alteraciones y patógenos que presenten sus órganos y tejidos. Su sensibilidad depende de la característica de la técnica, de la carga infectante, de la biología de los parásitos, del conocimiento del huésped, del transporte y preparación de la muestra, de la implementación de equipos adecuados y de la disponibilidad de tiempo y experiencia de los observadores.

5.6. TAXONOMÍA Y ANATOMÍA.

El camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) y el camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) son crustáceos decápodos que pertenecen a la familia Penaeidae. Poseen cuerpo comprimido lateralmente, con la configuración típica de los crustáceos decápodos nadadores.

Presentan cabeza y tórax unidos en un único bloque, llamado cefalotórax, en el que destacan el rostro alargado y con dientes, los ojos, las antenas y anténulas, las piezas bucales y los apéndices torácicos o Pereiópodos.

Abdomen alargado (el segundo segmento montado sobre la parte posterior del primero) con los apéndices abdominales (especializados para la natación) o pleópodos y el telson alargado y de forma triangular (figuras 2 y 3) los cuales cumplen diferentes funciones (tabla 1).

³ Camarón Análisis en fresco, 2013.

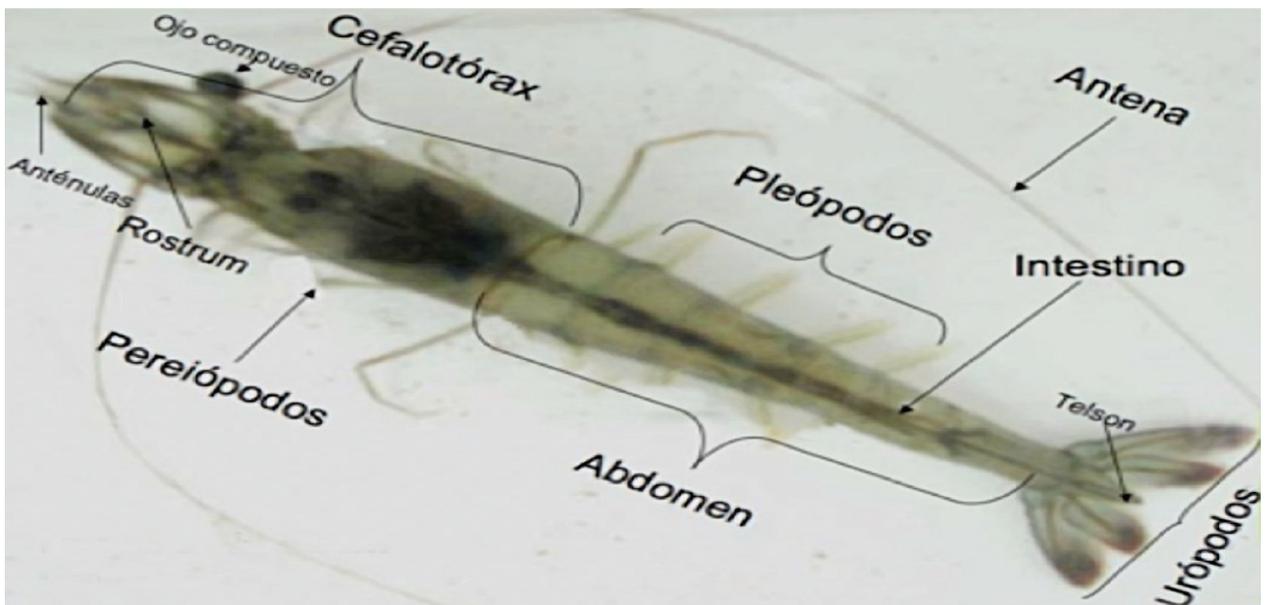


Figura 2: Anatomía general externa del camarón penaeido.⁴

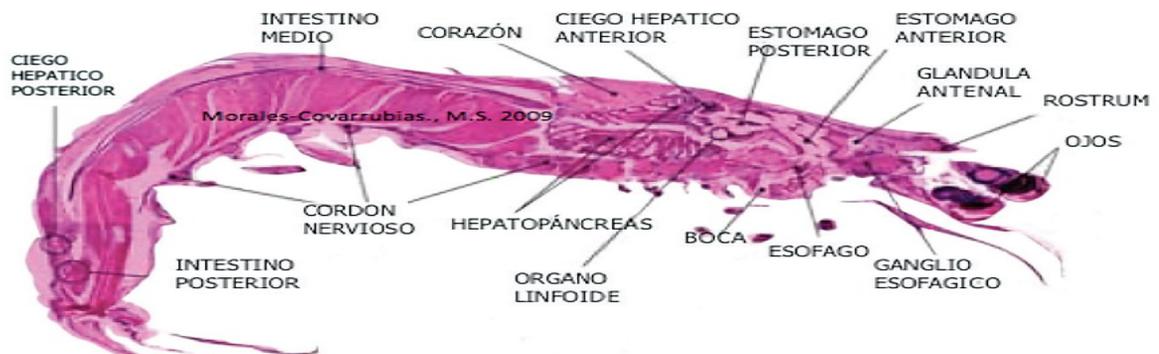


Figura 3 Anatomía general interna del camarón penaeido. (Adaptada de: Lightner 2005 y modificada) (Tinción de hematoxilina-eosina).

⁴ Morales-Covarrubias, M.S., 2009

Tabla 1: Función principal de los órganos y tejidos de los camarones peneidos (Adaptado de Brock y Main, 1992).

Órgano / Tejido	Función
Músculo abdominal estriado	Contracciones rápidas para escapar de los depredadores
Antenas	Sensores táctiles (detección de depredadores)
Glándula antenal	Excreción y mantenimiento del balance osmótico
Anténulas	Quimiorreceptores
Ciegos hepáticos anterior y posterior	Hasta la fecha su función es desconocida
Exoesqueleto	Soporte y barrera protectora
Intestino (boca, esófago y estómago)	Captura, proceso de masticar y almacenamiento temporal del alimento
Branquias	Respiración, excreción, osmorregulación y fagocitosis
Hepatopáncreas	Digestión, absorción de nutrientes y almacén
Órgano linfoide	Encapsulación y fagocitador de antígenos
Mandíbulas, palpo mandibular y Escafognatito	Sensores táctiles, para tomar las partículas de alimento Pereiópodos y pleópodos
Intestino medio	Absorción y excreción del alimento
Pereiópodos y pleópodos	Locomoción y quimiorrecepción

5.7. SELECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS.

Para analizar una población se requiere la selección y la toma adecuada de la muestra; ésta se elige de acuerdo con el estado de salud de los organismos o ante la sospecha de alguna enfermedad. El número de muestreos en el tiempo hasta la cosecha dependerá de los programas de prevención, de la historia de la granja, del origen de los organismos y de la densidad de organismos sembrados en el cultivo. Dependiendo del propósito del estudio, el muestreo puede ser aleatorio o no aleatorio:

5.7.1. MUESTREO ALEATORIO

Cuando solamente se quiere determinar el estado de salud o cuando se busca la prevalencia de algunos patógenos, se colectarán los organismos al azar y deberán tomarse de cuatro áreas diferentes del estanque (figuras 4 y 5). El tamaño mínimo de la muestra o submuestra debe garantizar el 95 % de confianza que, de existir una infección, ésta se incluirá en la muestra; para la prevalencia⁵, el muestreo dependerá de la prevalencia, estimada del patógeno y del nivel de confianza elegido (tabla 2). Los camarones seleccionados se depositan en contenedores con aireación (figura 6), debe procurarse crearles el menor estrés posible y se trasladan de inmediato al laboratorio para su análisis.



Figura 4 : Estanque de cultivo de camarón donde se observan las cuatro áreas para la selección de organismos en muestreo aleatorio



Figura 5: Estanque de cultivo de camarón donde se observa muestreo aleatorio



Figura 6: Contenedor con aireación donde se observan camarones vivos para análisis en frescos tomados en muestreo aleatorio.

⁵ Prevalencia. Es el número de individuos de una especie de huésped infectada con una especie particular de parásito/número de huéspedes examinados (Margolis et al., 1982)

Tabla 2: Selección del tamaño de la muestra y cálculo del porcentaje de prevalencia de un patógeno en una población determinada (Tomada de Lightner, 1996, y modificada de Amos, 1985)

Tamaño de la población	Tamaño de la muestra necesaria para una prevalencia estimada de:						
	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
1000	140	55	27	10	9	9	8
1500	140	55	27	10	9	9	8
2000	145	60	27	10	9	9	8
4000	145	60	27	10	9	9	8
10000	145	60	27	10	9	9	8
>10000	150	60	30	10	9	9	8

5.7.2. MUESTREO NO ALEATORIO.

Contiene solamente organismos enfermos. Este tipo de muestreo se realiza cuando se tiene la sospecha de la presencia de alguna enfermedad o síndrome en el estanque. Se seleccionan por lo menos 10 organismos que presenten señales clínicas, tales como: decoloración, melanización y necrosis en la cutícula, así como anorexia (falta de apetito), letargia (reducción de la actividad normal), coloración rojiza de los pleópodos y telson, o cualquier otra alteración evidente. Los organismos con estas características generalmente se encuentran en la compuerta de salida de los estanques (figura 7). Las muestras deberán procesarse inmediatamente, de acuerdo con el procedimiento o procedimientos que se hayan elegido para la detección del agente causal de la enfermedad. Los organismos habrán de ser: preservados en las soluciones fijadoras adecuadas, congelados o enviados vivos a los laboratorios de diagnóstico.



Figura 7: Estanque de cultivo de camarón donde se observa la compuerta de salida, área para la selección de organismos en muestreo no aleatorio.

5.8. DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS EN FRESCO

MEDICIÓN DE ORGANISMOS.

Los organismos son pesados (figura 8) y son medidos (figura 9) para obtener el peso y el tamaño promedio.

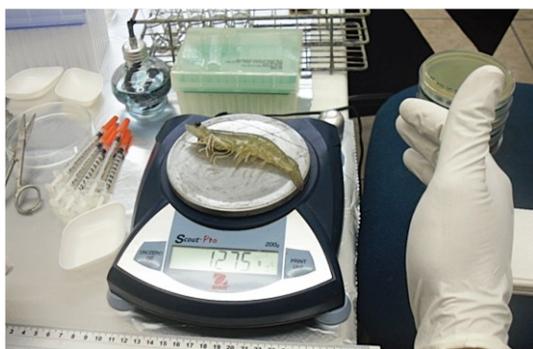


Figura 8: Pesaje a organismos para realizar el análisis en fresco.

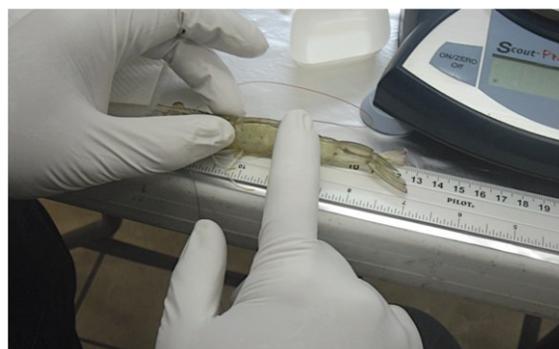


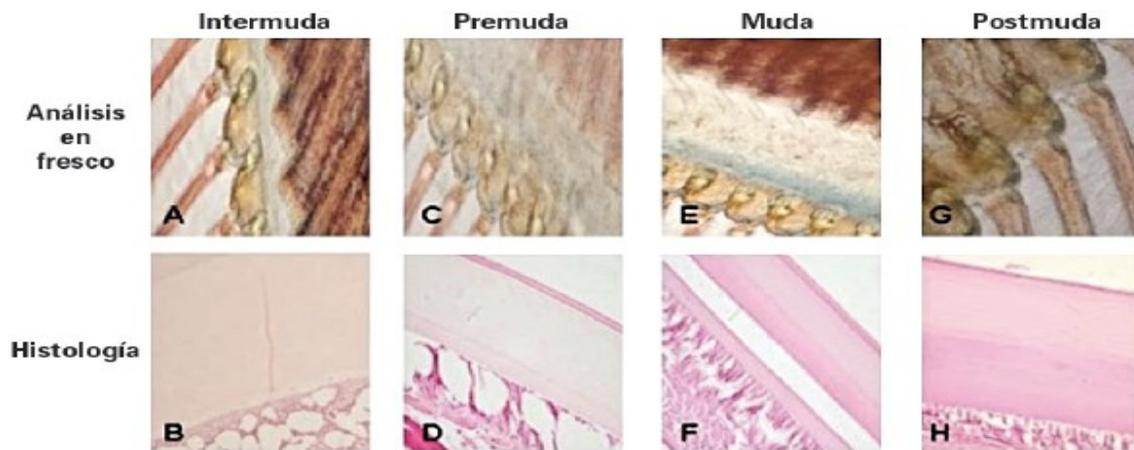
Figura 9: Medición a organismos para realizar el análisis en fresco

DETECCIÓN DE ESTADÍO DE MUDA.

Se toma una muestra de urópodos (figura 10), se deposita en el porta con una gota de solución salina para detectar estadio de muda (figura 11).



Figura 10: Toma de muestra de urópodos a organismos para revisar estadio de muda por análisis en fresco



Morales-Covarrubias, M.S., 2009

Figura 11: Estadios de muda generales⁶

6 A: intermuda, se observa una pequeña separación entre la cutícula vieja y la nueva; B, por histología se observa fragmentación de la cutícula vieja e hipertrofia de la epidermis subyacente; C: premuda: formación completa de la nueva cutícula, separación mayor entre la vieja y la nueva cutícula; D, histología, formación de exocutícula (nueva cutícula), alargamiento de la epidermis subyacente; E: muda; formación completa de la nueva cutícula, separación total entre la vieja y la nueva cutícula; F, histología, formación completa de exocutícula y alargamiento de la epidermis subyacente; G: No se observa ninguna separación, ni formación de nueva cutícula; H, histología, cutícula nueva con sus cuatro capas bien diferenciadas; la epicutícula, exocutícula, endocutícula y la capa membranosa.

5.9. ALTERACIONES EXTERNAS.

Se revisa el organismo para detectar cambios en su coloración normal blanco translúcido (figuras 12 y 13) a las siguientes coloraciones: coloración amarillenta, opacidad muscular, transparencia (figura 14), coloración rojiza (figura 15), melanización y necrosis (figura 16), así como también se pueden observar edemas, cutícula delgada (o suave) y deformaciones en el rostrum (figura 17) y en abdomen (figura 18).



Figura 12: Adulto de *P. vannamei* con coloración aparente normal (blanco translúcido).



Figura 13: Juvenil de *P. vannamei* con coloración aparente normal (blanco translúcido)

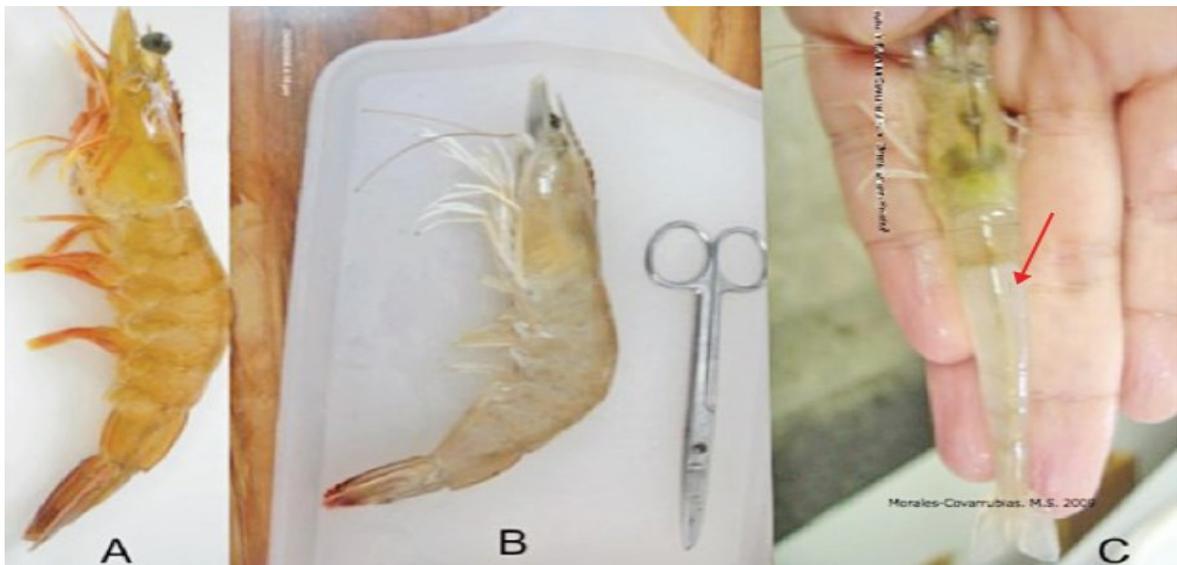


Figura 14: Juveniles de *P. vannamei* con coloración amarillenta (A), opacidad muscular (B) y transparencia (C), en cefalotórax y abdomen.

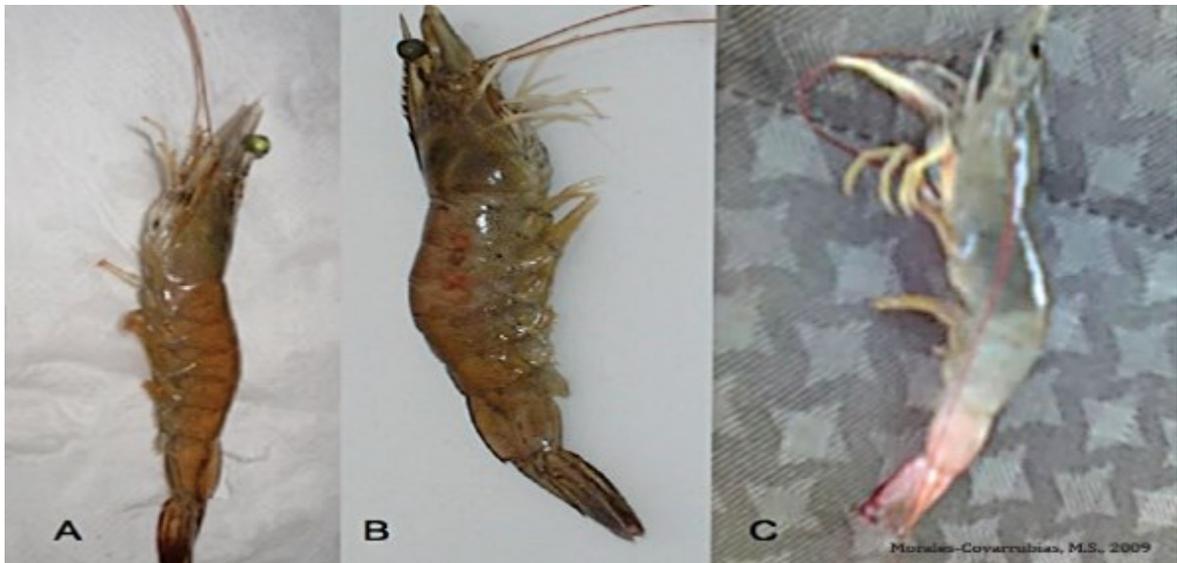


Figura 15: Juveniles de *P. vannamei* con coloración rojiza total en cefalotórax y abdomen (A), rojiza con erosiones en abdomen (B) y rojiza en urópodos, telson y sexto segmento (C).



Figura 16: Juveniles de *P. vannamei* con necrosis en pereiópodos, urópodos y branquias (A), necrosis multifocal en cefalotórax y abdomen (B) y necrosis multifocal en abdomen (C).



Figura 17: Juveniles de *P. vannamei* con rostrum deforme.



Figura 18: Juveniles de *P. vannamei* con abdomen deforme.

5.10. ELECCIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS EN FRESCO

Disectar el organismo (figura 19) y se selecciona una pequeña porción de cada tejido u órgano. Las porciones se colocan en portaobjetos limpios. Se les adicionan unas gotas de agua de mar estéril y se pone el cubreobjetos; debe procurarse que en la muestra no se formen burbujas que puedan interferir en la observación.



Figura 19: Juvenil de *P. vannamei* y material para disección.

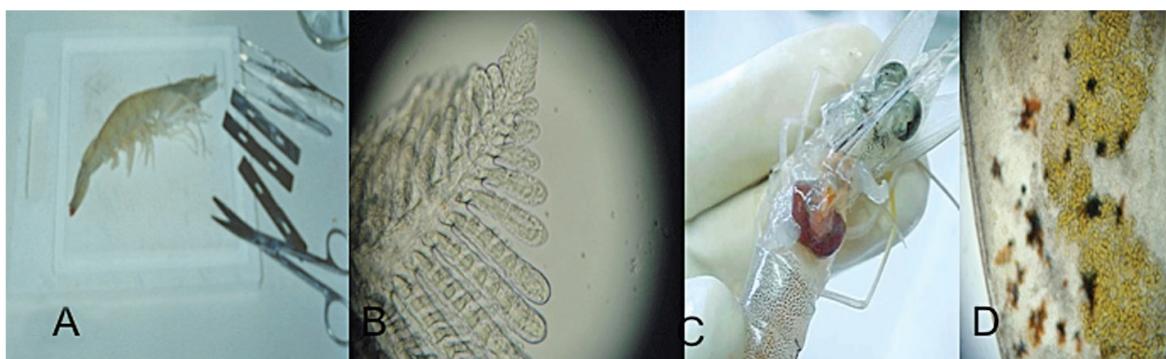


Figura 20: Juvenil entero de *P. vannamei* (A), branquias (B), hepatopáncreas completa (C) e intestino (D) para tomar pequeñas secciones y realizar análisis en fresco.

5.11. DISECCIÓN DE ORGANISMOS Y REVISIÓN DE MUESTRAS

Región oral.

Con las tijeras finas, se toma una pequeña porción de la región oral (Figura 21) y se coloca en un portaobjetos luego se vierten unas gotas de agua de mar y se presiona ligeramente al poner el cubreobjetos y se presiona para facilitar la búsqueda de bacterias filamentosas (*Leucothrix mucor* y *Flexibacter* sp) y detritus del fondo de los estanques.



Figura 21: Juvenil entero de *P. vannamei* con región oral melanizada.

Branquias.

Con las tijeras finas, se elimina el exoesqueleto que cubre las branquias. Se toma una pequeña porción y se coloca en el portaobjetos para buscar: cambios en la coloración de los filamentos branquiales (como: melanización, necrosis, áreas blanquecinas bien definidas), presencia de protozoarios (*Zoothamnium* sp, *Epistylis* sp, *Acineta*, *Ascophris*, *Bodo* sp.), bacterias filamentosas (*Leucothrix mucor* y *Flexibacter* sp.), detritus del fondo de los estanques, restos de microalgas, hongos, aglomerados de bacterias, melanizaciones y deformaciones. Para detectar cuerpos de inclusión viral en las branquias por

improntas, es necesario fijarlas en solución Davidson modificada (AFA, alcohol-formaldehído-ácido clorhídrico) si van a ser procesadas de manera inmediata; si este no es el caso, se pueden fijar en la solución de Davidson (AFA, alcohol - formaldehído - ácido acético), que se utiliza para fijar organismos para histología.



Figura 22: Juvenil entero de *P. vannamei* con exposición de branquias para toma de muestra.

Hepatopáncreas.

Se elimina todo el exoesqueleto del cefalotórax para descubrir el hepatopáncreas (figura 23) y el estómago. Se observa la coloración, el tamaño del hepatopáncreas para decidir si hay atrofia (reducción de tamaño) o hipertrofia (aumento de tamaño) del órgano. Con unas pinzas se retira la membrana que cubre el hepatopáncreas y con un bisturí se parte por la mitad para observar la coloración del fluido, textura, melanización y necrosis tubular. Se toma una pequeña muestra y se coloca en un portaobjetos para buscar: *Baculovirus penaei*, *Monodon baculovirus*, cúmulos o aglomerados de bacterias, deformación tubular, nódulos hemocíticos, encapsulación, melanización y necrosis de los túbulos. También debe observarse la cantidad de lípidos presentes, desprendimiento de células del epitelio de los túbulos del hepatopáncreas y acumulación dentro de vacuolas citoplasmáticas de los hepatocitos de una sustancia de color verde oscuro (“bolitas negras”). Para la realización de improntas e histología es necesario fijar los órganos y tejidos conforme al diagnóstico elegido.

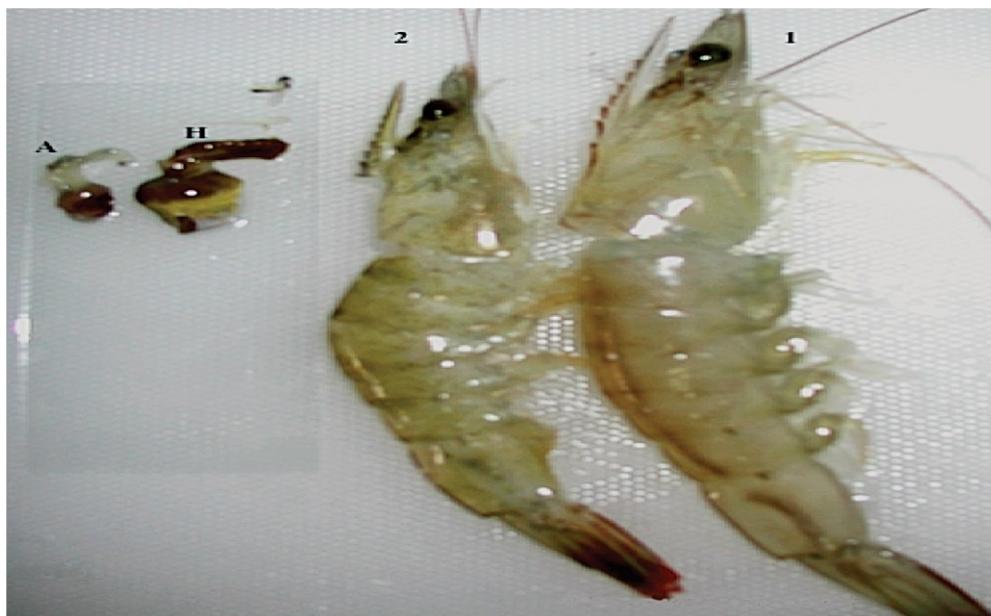


Figura 23: Juveniles enteros de *P. vannamei* con exposición de hepatopáncreas con atrofia (A) para toma de muestra.

Intestino.

El abdomen se separa del cefalotórax, del telson y de los urópodos para facilitar la extracción del intestino. Por la parte posterior se localiza el intestino (que puede contener o no hilo fecal); se revisa inflamación (figura 24) y con ayuda de una pinza fina, se extrae con cuidado y se coloca en el portaobjetos, procurando extenderlo. Luego se vierten unas gotas de agua de mar y se presiona ligeramente al poner el cubreobjetos. Al observar la muestra en el microscopio, se buscarán: gregarinas (diferentes estadios, distribución y porcentaje de adherencia en el intestino), nemátodos, cuerpos de oclusión de *Monodon baculovirus*, *Baculovirus penaei* y cianobacterias.



Figura 24: Juveniles enteros de *P. vannamei* con exposición de intestino inflamado para toma de muestra.

Músculo y gónadas.

Se toma una pequeña muestra de músculo y de las gónadas especialmente, aquel tejido que muestre opacidad de tipo lechoso (figura 25). Se coloca en un portaobjetos y se presiona para facilitar la búsqueda de microsporidios. Si estos tejidos fueron parasitados, se deben de observar las masas de esporas que de acuerdo con su tamaño y forma indican el tipo de parásito que lo está afectando. También en músculo se debe hacer un corte transversal y ponerlo entre dos portaobjetos y observar a 4X para buscar larvas de helmintos y nemátodos anisáquidos (hacen zoonosis en humano).



Figura 25: Juvenil de *P. vannamei* con opacidad muscular.

Observación y diagnóstico.

Las muestras ya preparadas (figura 26), se analizan en el microscopio, iniciando con el objetivo de menor aumento y finalizando con el mayor. Debido a su rápida descomposición, la primera muestra que se analiza es la del hepatopáncreas; después se estudian las de las branquias, región oral, luego el intestino y finalmente el músculo. En la hoja de reporte se anota todo lo que se observa con cada objetivo. Luego se calcula el porcentaje de prevalencia y se determina el grado de severidad (tablas 5, 6, 7 y 8), que presenten los organismos de la muestra analizada. Se finaliza con el diagnóstico y el reporte final.

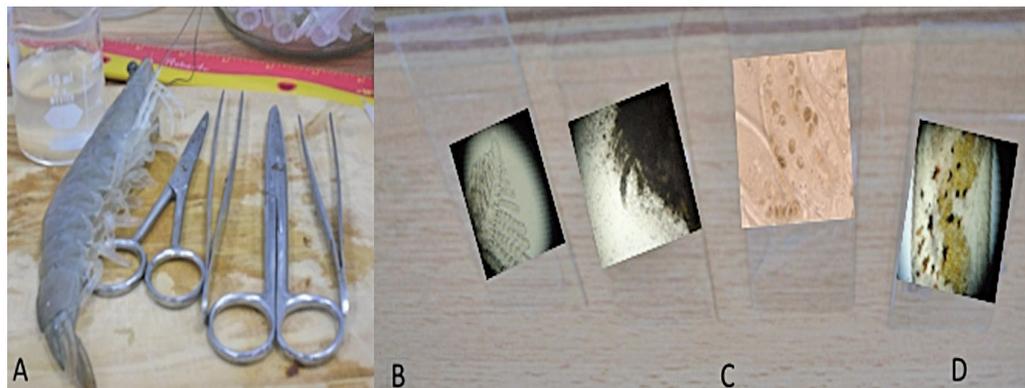


Figura 26: Disección y muestras de branquias (B), hepatopáncreas (C) e intestino (D) para revisión al microscopio.

Tabla 3: Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por epicomensales en lamelas branquiales (Adaptado de Lightner, 1996)

Grado de severidad	Signos Clínicos
0	No presentan signos de infección por protozooario. No presentan lesiones por epicomensales
1	Presencia muy baja de protozoarios (1-5/lamela/organismo) muy pocas lesiones causadas por los epicomensales, como inflamación.
2	Se observa la presencia moderada de protozoarios (6 – 10/lamela/organismo) incremento en las lesiones causadas por los epicomensales, como inflamación, Melanización y formación de nódulos, hemocíticos. Se observa mortalidad si no se aplican medidas de corrección.
3	Se observa alta presencia de protozoarios (10 – 15/lamela/organismo), lesiones moderadas a severas causadas por los epicomensales, como inflamación, áreas multifocales, melanizadas y formación de nódulos hemocíticos. Potencialmente letal si no se toman medidas de corrección.
4	Se observa gran cantidad de parásitos (más de 15), severas lesiones causadas por epicomensales, como inflamación, formación de nódulos hemocíticos, áreas multifocales melanizadas y necróticas. Muy letal, con altas mortalidades

Tabla 4: Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la deformación tubular en hepatopáncreas con análisis en fresco (tomado de Morales-Covarrubias et al., 2010).

Grado de severidad	Signos Clínicos
0	Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por gregarinas utilizando análisis en fresco.
1	Presencia muy baja del parásito (1-15/intestino/organismo), con muy poca inflamación.
2	Se observa la presencia moderada del parásito (16-50 / intestino / organismo). Incremento en las lesiones causadas por el parasitismo como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Se observa mortalidad si no se aplica tratamiento.
3	Se observa alta presencia del parásito (51-100 / intestino / organismo). Se observan lesiones moderadas a severas causadas por el parasitismo, como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Potencialmente letal si no se aplica tratamiento.
4	Se observa gran cantidad del parásito (más de 100 / intestino / organismo). Se observan severas lesiones causadas por el parasitismo, como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Muy letal, con altas mortalidades.

Tabla 5: Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por gregarinas utilizando análisis en fresco. (Tomado de Morales-Covarrubias 2010)

Tabla 6: Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por epicomensales en lámelas branquiales

Grado de severidad	Signos Clínicos
0	No presentan signos de infección. No presentan deformación tubular ni rugosidad. Organismo sano
1	Presencia muy baja de deformación tubular (1-5/campo/organismo). Se observa muy poco desprendimiento celular. Fase (0), infección
2	Se observa la presencia moderada de deformación tubular (6-10 / campo / organismo), atrofia, melanización y necrosis tubular. Se presenta mortalidad si no se aplica tratamiento. Fase (1), inicial.
3	Se observa presencia alta de deformación tubular (11-20 / campo / organismo), con lesiones de moderadas a severas, con melanización, necrosis, desprendimiento celular y atrofia tubular. Presencia de hemocitos y fibroblastos alrededor de túbulos atrofiados. Letal si no se aplica tratamiento.
4	Se observa gran cantidad de túbulos deformes (más de 20 / campo / organismo), con severas lesiones con melanización, necrosis, atrofia tubular y túbulos vacíos. Presencia de hemocitos y fibroblastos alrededor de túbulos atrofiados, melanizados y necróticos. Con mortalidades. Fase (III), crónica.

Grado de severidad	Signos Clínicos
0	Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por gregarinas utilizando análisis en fresco.
1	Presencia muy baja del parásito (1-15/intestino/organismo), con muy poca inflamación.
2	Se observa la presencia moderada del parásito (16-50 / intestino / organismo). Incremento en las lesiones causadas por el parasitismo como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Se observa mortalidad si no se aplica tratamiento.
3	Se observa alta presencia del parásito (51-100 / intestino / organismo). Se observan lesiones moderadas a severas causadas por el parasitismo, como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Potencialmente letal si no se aplica tratamiento.
4	Se observa gran cantidad del parásito (más de 100 / intestino / organismo). Se observan severas lesiones causadas por el parasitismo, como reducción de la mucosa, deformación del intestino, inflamación, melanización y formación de nódulos hemocíticos. Muy letal, con altas mortalidades.

6. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

6.1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

La investigación se realizó en la Cooperativa Fauna Silvestre, durante el desarrollo de los ciclos de producción acuícola.

Para implementar la investigación se desarrollaron tres fases:

- a. Fase 1 Examen clínico (visitas a las camaroneras para la recolección de muestras de camarón, sedimento y agua) en dos etapas:
 - Etapa 1: análisis de las muestras de camarón de la cosecha anterior.



Figura 27: Monitoreo de crecimiento del cultivo de camarón Marino

- Etapa 2: análisis de larva de camarón desde el inicio de la cosecha



Figura 28: Toma y traslado de muestras para laboratorio de ITCA-FEPADE La Unión



Figura 29: Análisis de laboratorio de muestras y larva de camarón

- b. Fase 2, Examen clínico (recolección de muestras para monitoreo del crecimiento del camarón marino e instalación de 4 Japas



Figura 30: Instalación de las bases de las 4 japas



Figura 31: Actividades de Instalación de Japas

- c. Fase 3 aplicación de monensina sódica en dosis de 8 y 10 gramos en las cuatro mapas y evaluación del crecimiento y salud de los camarones.



Figura 32: Desinstalación de japas y toma de muestras con la aplicación de la monensina sódica

6.2. UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La Cooperativa Fauna Silvestre pertenece al sector camaronero de Salinas del Potrero y se encuentra ubicado $13^{\circ}17'46.45''$ N y $88^{\circ} 40' 16.88''$ O, esta posee una elevación de 2 metros sobre el nivel del mar (Figura 32)



Figura 33: Cultivo de camarón en la Bahía de Jiquilisco, El Salvador Universidad Ramón Illull, Barcelona España 2008.

6.3. FASE DE CAMPO

EXAMEN CLÍNICO

Esta consiste en visitas a las camaroneras para la recolección de muestras de sedimento, agua y camarón.

La recolección de los camarones fue realizada en cuatro puntos del estanque: a) compuerta de entrada, b) compuerta de salida, c) borda norte y d) borda sur; los organismos se colocaron en una cubeta con agua y se seleccionó cinco camarones de cada punto.

Para establecer el PH del agua de los estanques se utilizó el método del potenciómetro con electrodo de vidrio en relación suelo-agua por volumen 1:1 (PRADEPESCA, s/a).

Para el traslado de los organismos seleccionados fueron colocados en bolsas plásticas llenas previamente con agua del estanque, a las cuales también se les inyectó oxígeno para garantizar la sobrevivencia de los camarones. Para mantener la temperatura a 27 °C se colocó bolsas con hielo fuera de las bolsas que contenían los organismos y las muestras fueron trasladadas para ser procesadas y analizadas en el laboratorio de Microbiología ubicados en ITCA – FEPADE Regional La Unión.

6.4. FASE DE LABORATORIO

Análisis del agua

Para realizar el análisis bacteriológico del agua, se prepararon diluciones y el procedimiento consistió en tomar 1.0 ml de la muestra con una micro pipeta y se depositó en un tubo con 9.0 ml de solución salina (2.5%), para la homogenización de la muestra se utilizó un vortex, luego se tomó con una micro pipeta 1.0 ml de la primera dilución y se aplicó en un segundo tubo con 9.0 ml de solución salina (2.5%) y se agitó; del segundo tubo se tomó 1.0 ml de la dilución y se aplicó en un tercer tubo con 9.0 ml de solución salina (2.5%), finalmente se preparó un cuarto tubo al que se le adicionó 1.0 ml retomado del tercer tubo; de esta forma se preparó cuatro diluciones 1/10, 1/100, 1/1,000 y 1/10,000.

Barrido de placas

El método utilizado para el barrido en las placas Petri fue el de “siembra en superficie”, el cual consiste en aplicar con una micro pipeta 0.1 ml de cada dilución en cajas petri con agar solidificado de Pseudomona cetrimide y con agar TCBS, luego la muestra fue extendida en la placa Petri usando asas de drigalski posteriormente se incubo a 30°C por 24 horas y finalmente se procedió a contar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), presentes en cada placa para lo cual se utilizó un cuenta colonia.

Para la interpretación de los resultados se utilizó como referencia la tabla publicada en manual (CESASIN, 2003).

Tabla 7: Análisis Bacteriológico del Agua

AGUA (UFC/gr)				
Rangos:	Vibrio		Heterot. Beige	Autotrof. Naranja
	Amarillas	Verdes		
Bajo	< 500	< 300	< 50,000	150,000
Medio	600 – 1,000	400 - 600	100,000	300,000
Medio Alto	1,100 – 3,000	700 - 1000	300,000	900,000
Alto	> 3,000	> 1,100	500,000	1,500,000

6.5. ANÁLISIS DEL CAMARÓN

Para el análisis de los camarones se utilizó microscopía directa (análisis en fresco de tejidos). A través de esta técnica se observaron las estructuras de las branquias, intestino, ciego intestinal, y urópodos, con el propósito de identificar endoparásitos y ectoparásitos. Los análisis fueron realizados el mismo día que se colectó la muestra en el campo y el número de camarones analizados se estableció en base a la prevalencia esperada de patógeno en un cultivo (Cuéllar-angel, 2014).

El procedimiento utilizado fue el siguiente:

- 1) Se examinó cada camarón para identificar las características externas (Anexo 3).
- 2) Se diseccionó una pequeña porción de branquias, el intestino, ciego intestinal y uropodos y se colocó las muestras por separado en portaobjetos.
- 3) Se adicionan a cada muestra unas gotas de solución salina y luego se colocó el cubreobjetos.
- 4) Las muestras ya preparadas se analizaron en el microscopio usando los objetivos 4x, 10x y 40x.

Las tablas de referencia que se utilizaron para establecer el grado de severidad debido a la presencia de

parásitos en las branquias se presentan en las tablas 4, 5 y 6 para el caso de presencia de parásitos intestinales.

6.6. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS DE HEMOLINFA

Para el análisis bacteriológico de los camarones fue utilizado el siguiente procedimiento:

- 1- Se limpió toda la cutícula del camarón con una torunda de algodón impregnada con alcohol al 90%
- 2- Se procedió a la extracción de 40 µl de hemolinfa con una jeringa de insulina, de la base del quinto pereiópodo.
- 3- La hemolinfa extraída se sembró directamente en una placa Petri de agar solidificado de TCBS y *Pseudomna cetrimide*
- 4- Las placas se incubaron a 30°C durante un periodo de 24 horas.
- 5- Pasado el tiempo de incubación se procedió a realizar el conteo para establecer las Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml).

6.7. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICOS DE HEPATOPÁNCREAS

Para el análisis de las hepatopáncreas fue utilizado el siguiente procedimiento:

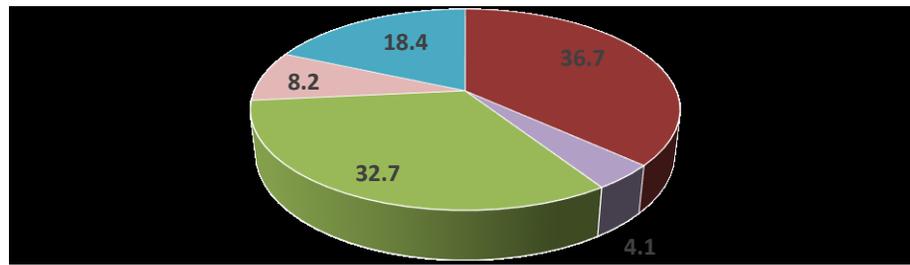
- 1- Se desinfectó el camarón con una torunda con alcohol al 90 %.
- 2- Se realizó la disección del camarón para extraer el hepatopáncreas, posteriormente se pesó 0.5 gr y se colocó en un tubo con 9 ml de solución salina estéril al 2.5%; se macero y se extrajo 1ml para transferirlo a un tubo con 9 ml de solución salina estéril.
- 3- Se homogenizó bien los inóculos en un Vortex y se procedió a sembrar ambas muestras 1/10 y 1/100 en diferentes cajas de Petri. Se colocaron 100 µl de cada muestra en medios de cultivo agar TCBS y *Pseudomna cetrimide*.
- 4- Ambas placas se incubaron a 30°C durante un periodo de 18 a 24 horas
- 5- Pasado el tiempo de incubación se procedió a realizar el conteo para establecer las Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/gr).

7. RESULTADO

7.1. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE CAMARÓN

Para identificar el estado de los camarones con las Gregarinas, se realizaron un total de 98 análisis, de los cuales los análisis en fresco para identificar los parásitos en los intestinos y en las hepatopáncreas fueron los principales (Grafico 01).

Porcentaje de análisis realizados como parte del proyecto de investigación



- Análisis en fresco (identificación de parásitos en intestino de camarón)
- Análisis bacteriológico de agua estanque
- Análisis de camarón Hepatopáncreas en medio de cultivo TCBS
- Análisis de camarón Hemolinfa en medio de cultivo TCBS
- Análisis en fresco (identificación de parásitos en branquia e intestino de camarón)

Gráfico 01: Muestra los análisis realizados para identificar el estado del camarón en los estanques de cultivo.

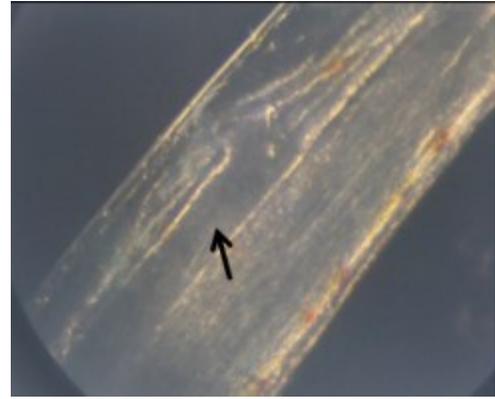
En los análisis desarrollados se encontró gregarinas grado 4 en su estado esporozoíto (organismos/Intestino), además de gregarinas en su estado Gametosistos (organismos/Intestino) y gregarinas en su estado Sicihias de dos a siete Divisiones (organismos/Intestino) ambas en grado 1, también fue encontrado la presencia de protozoarios en las branquias (organismos/campo).

7.2. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

Con los análisis bacteriológicos desarrollados se pudo evidenciar el daño causado por los parásitos en la mucosa intestinal del camarón (Figura 33). Además, utilizando agar TCBS se observa la presencia de colonias amarillas, sacarosa positiva y ausencia por completo de colonias verdes (sacarosa negativa) propias de *Vibrios* patógenos (Figura 34). También se puede observar de forma parcial el cefalotórax de una post larva de camarón marino mostrando el rostrum con 2 espinas superiores (Figura 35). Se puede observar también la sección parcial del tracto intestinal posterior de un camarón marino mostrando invaginación de la mucosa como posible indicio de la actividad de un parásito intestinal (figura 36). Además, se observó la presencia de cristales tetra hédricos, lo cual muestra una forma característica de la presencia del virus patógeno *Baculovirus penaeid*, aislados del contenido fecal de camarones marinos (figura 37).



Daño severo causado por parásitos en la mucosa del epitelio intestinal de un camarón juvenil o adulto. En la imagen (flecha de color negro) se observa la elongación de una galería cavada por una gregarina. 100 aumentos



Sección del último segmento abdominal de un camarón donde se observa el tracto intestinal completamente vacío (en flecha color negro). El índice de masa muscular tiene un valor igual a 2 (problema nutricional).

Figura 34: Estado de los camarones producto del daño causado en la mucosa intestinal del camarón, además del tracto completamente vacío, como resultado de la afectación de las gregarinas.

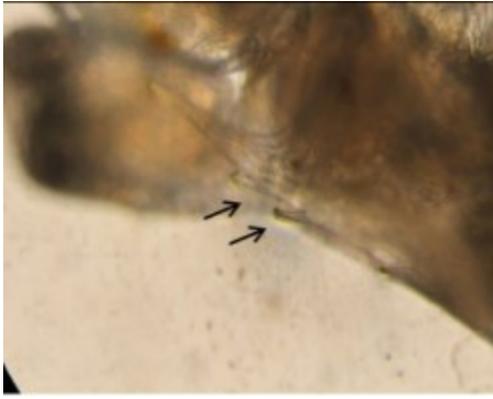


Vista parcial del cefalotórax de una post larva de camarón marino mostrando el rostrum con 3 espinas superiores y ausencia de espinas inferiores propio de una post larva cuya edad es de 9 días (PL 9).



Placa de cultivo de bacterias del género *Vibrio* sp. en medio de agar TCBS obtenidas de camarón marino. Obsérvese la presencia de colonias amarillas, sacarosa positiva y ausencia por completo de colonias verdes (sacarosa negativa) propias de *Vibrios* patógenos.

Figura 35: Presencia de presencia de colonias amarillas, sacarosa positiva y ausencia por completo de colonias verdes (sacarosa negativa) propias de *Vibrios* patógenos

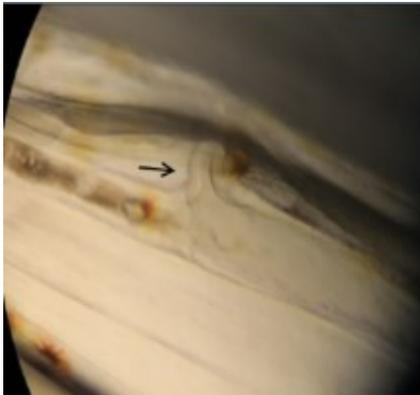


Vista parcial del cefalotórax de una post larva de camarón marino mostrando el rostrum con 2 espinas superiores (flecha de color negro) y ausencia de espinas inferiores propio de una post larva cuya edad es de 7 días (PL 7).

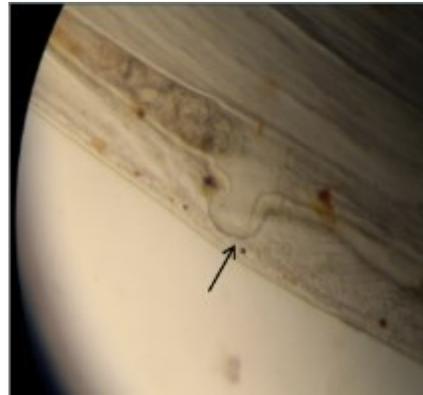


Vista parcial del cefalotórax de una post larva de camarón marino mostrando el rostrum con 2 espinas superiores (flecha de color negro) y ausencia de espinas inferiores propio de una post larva cuya edad es de 9 días (PL 9).

Figura 36: Vista parcial del cefalotórax de una post larva de camarón marino mostrando el rostrum con 2 espinas superiores

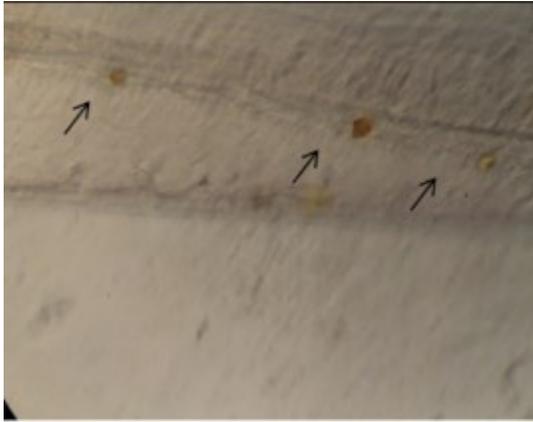


Sección parcial del tracto intestinal posterior de un camarón marino mostrando invaginación de la mucosa (flecha de color negro) como posible indicio de la actividad de un parásito intestinal



Sección parcial del tracto intestinal posterior de un camarón marino mostrando actividad peristáltica anormal (flecha de color negro).

Figura 37: Sección parcial del tracto intestinal posterior de un camarón marino mostrando invaginación de la mucosa como posible indicio de la actividad de un parásito intestinal



Presencia de nódulos hemocíticos (flechas de color negro) en el epitelio de la mucosa intestinal de un camarón marino

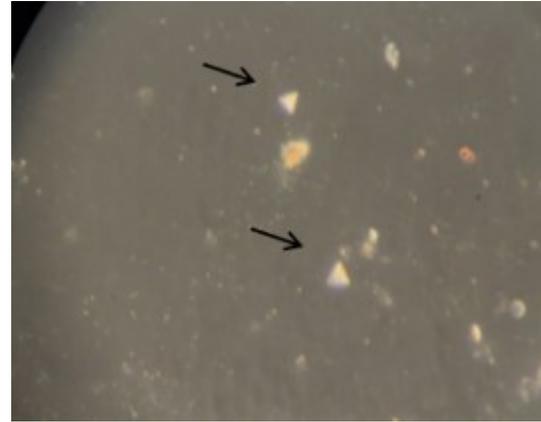


Imagen mostrando presencia de cristales tetra hédricos (flechas de color negro), una forma característica de la presencia del virus patógeno *Baculovirus penaeid*, aislados del contenido fecal de camarones marinos

Figura 38: Presencia de cristales tetra hédricos, lo cual muestra una forma característica de la presencia del virus patógeno *Baculovirus penaeid*, aislados del contenido fecal de camarones marinos

7.3. ANÁLISIS EN FRESCO DE MUESTRAS DE CAMARÓN SOMETIDO A MONENSINA SÓDICA



Figura 39: Vista ventral de un camarón de cultivo, *Penaeus vannamei*, mostrando los apéndices amarillentos tanto de periópodos como los pleópodos (flechas color negro), una signología alterada por efecto de la presencia de abundante carga bacteriana presente en el fondo del estanque. Muy común en fondos con abundante cantidad de materia orgánica en descomposición.



Figura 40: Apéndices de la cola de camarón marino llamados urópodos aparentemente con signología no alterada, normal, pues lucen translúcidos y los bordes no tienen coloración rojiza.



Figura 41. Camarón marino cultivado mostrando alteración en la sección del abdomen: síndrome de rigidez muscular comúnmente llamado “acalambramiento” o “camarón engrapado” debido a diversas causas, tales como agua con alta temperatura, déficit nutricional, desbalance iónico en el agua.



Figura 42. Camarones de cultivo mostrando signologías aparentemente normales pues el hepatopáncreas luce de tamaño normal, de color café oscuro, periópodos translúcidos, exoesqueleto con ausencia de regiones melanizadas y sin necrosis; el intestino medio y posterior está completamente lleno, de manera continua, no entrecortada. El cordón fecal es color negro, oscuro lo que indica que el contenido alimenticio tiene origen en la productividad natural presente en el fondo del estanque.



Figura 43. Camarón cultivado mostrando el tracto intestinal medio y posterior completamente lleno cuyo contenido alimenticio ha sido extraído de la productividad natural que ofrece el fondo del estanque. Se observa que el ciego hepático o saco intestinal presenta signología alterada (en círculo puntado color amarillo): está inflamado, posiblemente por la ingesta abundante de cianofitas y/o parásitos tales como gregarinas o nemátodos

7.4. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO DE MUESTRAS DE CAMARÓN MARINO SOMETIDOS A LA MONENSINA SÓDICA



Figura 45: Sección parcial de una Branquia de camarón de cultivo, se identifican cuatro puntos de necrosis (tejido muerto) producto de una infección causada por bacterias, debido a la mala calidad del agua

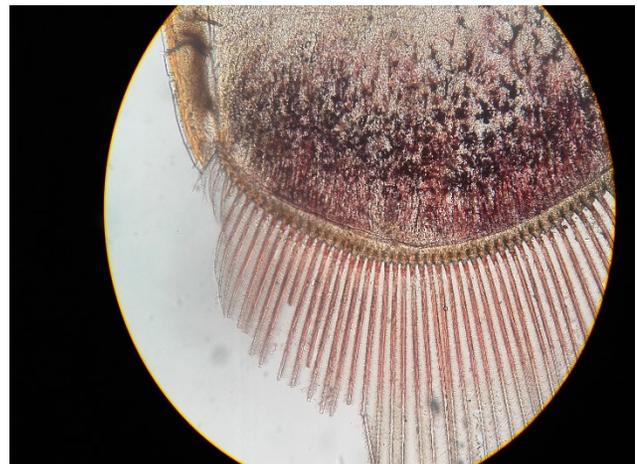


Figura 46: Sección distal de un Uropodo en fase de intermuda.

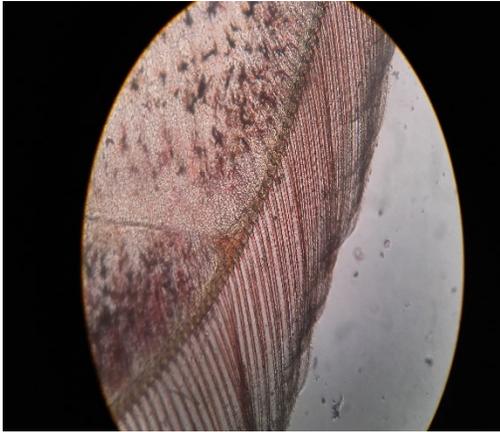


Figura 47: sección distal de un camarón en fase de posmuda

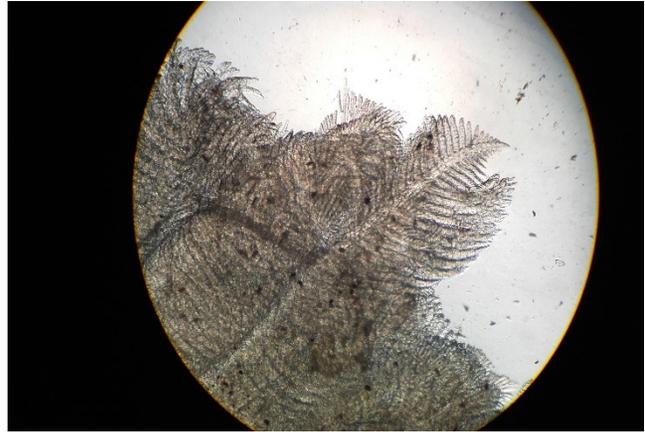


Figura 48: sección parcial de una branquia, se identifica una gran cantidad de tejido por necrosis generado por bacterias, indicador de mala calidad de agua



Figura 49: ciego hepático intestinal no se identifican presencia de parásitos

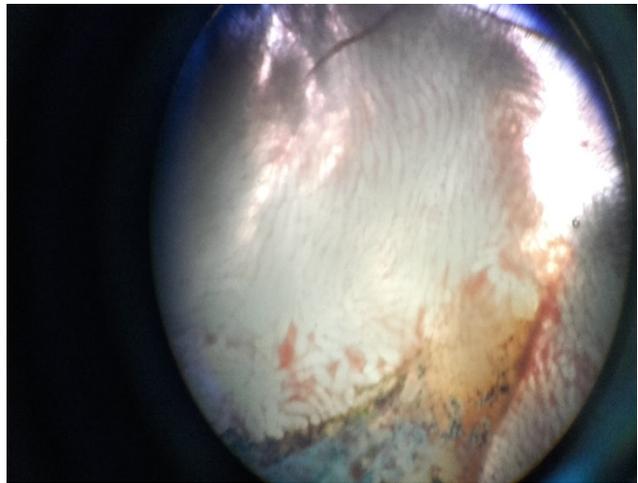


Figura 50: Foto transversal de un hepatopáncreas no se observa necrosis



Figura 51: se observan esporozoitos de gregarinas en el contenido estomacal del intestino medio del camarón, fase inicial del primer ciclo biologico de las gregarinas

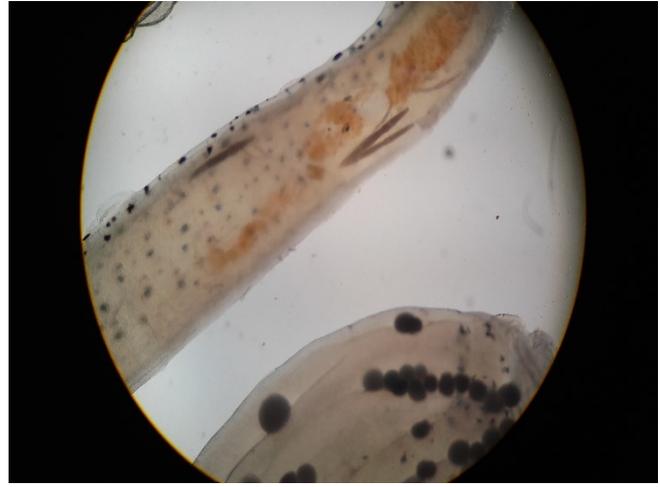


Figura 52: Parte del Intestino posterior de un camarón, presenta abundante cantidad de gregarinas, aproximadamente 22 gregarinas en fase de gametosistos



Figura 53: Corte parcial del intestino posterior, se identifican dos gregarinas en fase de gametosistos

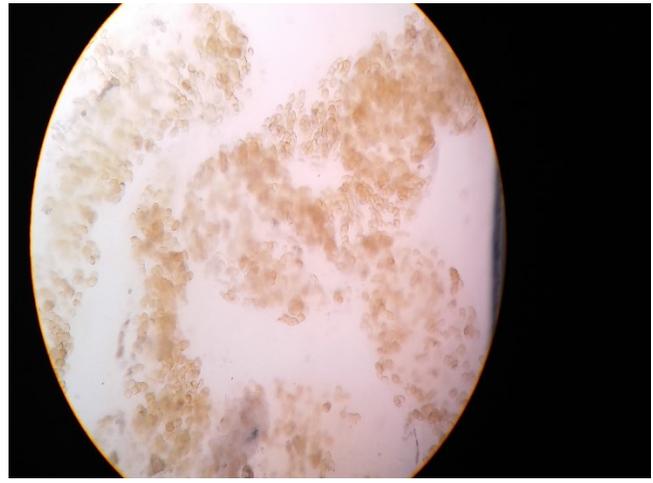


Figura 54: contenido fecal del intestino del camarón, se observan esporozoitos en abundantes cantidades, gregarinas con un grado de severidad de 4

8. CONCLUSIONES

1. La incidencia de parasitismo causado por gregarinas puede aparecer en las etapas tempranas del desarrollo del camarón de cultivo; el grado de infestación ya puede llegar a ser severo en los primeros días después de acontecida la siembra en el estanque.

2. El grado de severidad de la infestación por gregarinas en la escala de 3 y 4 puede causar serios trastornos en el tracto digestivo del camarón de cultivo, el efecto puede ser actividad peristáltica anormal en la sección del intestino posterior, lesiones en la mucosa del epitelio intestinal y contenido vacío debido al estado de letargia en que entra el camarón y síntomas de pérdida del apetito.
3. El diagnóstico de los camarones objeto de estudio también arroja la presencia de otros patógenos potenciales y oportunistas que pueden estar presentes en el camarón en los primeros días del cultivo, tanto de bacterias como de virus. Una parasitosis severa causada por gregarinas puede causar serias lesiones en el órgano del intestino y hace aumentar la probabilidad que esos microbios específicos de bacterias del género *Vibrio* spp. y virus de *Baculovirus penaeid* puedan generar un cuadro clínico de patogenicidad asociada de tipo oportunista.

Lo anterior proviene que el diagnóstico a menudo pueda ser errado al prestarle mayor atención al cuadro clínico causado por patógenos oportunistas y obviar o dejar de lado el factor o causa que pudo ocasionar todo esto: la presencia de gregarinas que generan un daño tisular (en el tejido) en el intestino y entonces, como consecuencia, una bacteria o un virus puede entrar a incidir como patógeno.

4. La presencia de bacterias del género *Vibrio* spp. en el agua y en los intestinos de los camarones analizados indican un cuadro un tanto más benevolente; en cuanto al estado del cultivo el equilibrio microbiano está volcado para la predominancia de vibrios que tienen el registro de pocas cepas patógenas, es decir, vibrios que pudieran considerarse “buenos” y por lo tanto, el desencadenamiento de una enfermedad de vibriosis podría ser menos probable que ocurra.
5. La edad de siembra que presentaron las post larvas de camarón recién sembradas fue inferior a 12 días, esto acarrea el inconveniente que por tratarse de organismos muy pequeños, puedan ser más vulnerables a las parasitosis o enfermedades de tipo infeccioso causadas por bacterias o virus.
6. Si bien es cierto que el origen de la post larva cuando es producida en laboratorio puede garantizar mayor bio seguridad, no garantiza por completo que pueda estar libre de patógenos virales: para el caso del presente estudio, la presencia de *Baculovirus penaeid* puede tener origen en las condiciones de cultivo presentes en el laboratorio o “hatchery”.

9. RECOMENDACIONES

1. Es muy importante realizar análisis en fresco en las post larvas que recién se adquieren al momento de iniciar un manejo de cultivo en estanques, para esto es necesario que la granja cuente con un microscopio óptico en buen estado y que el personal técnico de la granja haya recibido capacitación adecuada de modo que pueda realizar un diagnóstico certero y oportuno acerca del estado de parasitosis por gregarinas.
2. Es necesario aplicar un tratamiento terapéutico de “choque” en las primeras instancias una vez se ha hecho el diagnóstico de gregariniasis y más aún cuando el estado de infestación es de un valor numérico es 3 o 4 según la tabla de referencia. El uso de monensina sódica es una buena alternativa en las primeras etapas de cultivo, pues la dosis de aplicación es baja en relación al volumen de

alimento que se aplica en el estanque y el período de retiro del fármaco es lo suficientemente amplio, pues aún quedan 90 a 120 días de cultivo hasta el momento de la cosecha.

3. El monitoreo de la parasitosis por gregarinas es crucial para evitar mortalidades tempranas, sobre todo en las primeras 3 semanas de cultivo. Esta podría ser una causa poco evaluada en la mayoría de granjas del país pues casi ninguna granja cuenta con las herramientas necesarias (al menos un microscopio óptico) ni el personal entrenado para tal fin. La implementación de talleres y la dotación de equipo es una prioridad a resolver.
4. Se debe aplicar una certificación más rigurosa por parte del laboratorio que produce la post larva al momento de hacer la entrega de ésta a los productores de modo que, entre otras cosas, se garantice la edad y el desarrollo de post larvas mas aptas para resistir enfermedades parasíticas e infecciosas.
5. Cualquier tratamiento terapéutico enfocado a combatir una enfermedad de origen bacteriano, que puede ser una vibriosis enterocítica (del tracto digestivo) en camarón de cultivo, será siempre infructuoso si no se toma en cuenta el modo de abordar el combate de parásitos como las gregarinas, pues deberá reconocerse que si la carga parasítica es de 3 o 4 en la escala está se convierte en el agente causal de mayor importancia en el cuadro clínico analizado.
6. Deberá implementarse una trazabilidad más rigurosa en cuanto a las condiciones de bioseguridad de un laboratorio de producción de post larvas de camarón marino para prevenir en la mayor medida de lo posible la presencia de Baculovirus penaeid. El diagnóstico confirmativo mediante técnica de PCR deberá ser de estricto cumplimiento para tal propósito.
7. La aplicación de melaza o azúcar en el agua del estanque es recomendada con el propósito de incidir en el equilibrio bacteriano para lograr mantener una co dominancia en favor de bacterias del género Vibrio spp. que son sacarolíticas (que consumen azúcar) y en detrimento de las especies de vibrios que no son sacarolíticas (que no consumen azúcar) y que además son las que registran la mayor cantidad de cepas patógenas que provocan la enfermedad de la vibriosis.

10. GLOSARIO

- **Acción mecánica:** es la que ejercen los parásitos cuando al acumularse en cantidades considerables ocupan espacios como el intestino u otras cavidades que pueden llegar a obstruirse.
- **Acción tóxica:** es producida por la liberación de ciertos metabolitos por parte del parásito; al ser absorbidos, producen daños celulares. (Cobarrubias, 2010)
- **Acción traumática:** es aquella que ejerce el parásito al lesionar los tejidos del huésped.
- **Agentes patógenos-** organismos que producen cambios en el animal en virtud de su capacidad de invadir los tejidos y de multiplicarse en ellos, o de desarrollarse en los líquidos orgánicos ejerciendo sus efectos por medio de las toxinas liberadas en ellas.

- **Algas-** Organismos vegetales de organización sencilla que por medio de la fotosíntesis producen oxígeno; viven en el agua o en ambientes muy húmedos.
- **Bacterias-** Son microorganismos unicelulares que carecen de núcleo verdadero y orgánulos como mitocondrias, cloroplastos y lisosomas (procariota).
- Cuando el parásito vive en continua e íntima asociación con el huésped, depende metabólicamente de éste y lo perjudica en mayor o menor grado, le causa un daño en su salud, que quizá lo lleve a la muerte. (Cobarrubias, 2010)
- **Ectoparásito-** Parásito que vive en la superficie corporal de su huésped.
- **El parásito** es un organismo que vive y come dentro o sobre otro más grande que él y a sus expensas. El organismo más grande es el huésped, o sea el que hospeda al parásito. Los hay de diferentes tipos:
- **Examen clínico-** Es el orden recorrido para estudiar y comprender el proceso de salud y de enfermedad de un sujeto.
- **Huésped definitivo:** aquel en que el parásito alcanza su madurez y se reproduce sexualmente.
- **Huésped-** El animal que alberga y proporciona sustento a otro organismo.
- **Huésped intermediario:** aquel en que los estadios larvales del parásito se desarrollan hasta llegar a ser infectante para el huésped definitivo.
- **Huésped paraténico** (huésped de espera, de transporte o de almacenamiento): aquel en que el parásito vive y se alimenta, no continúa su ciclo biológico, pero sobrevive y es infestante para el huésped definitivo.
- **Huésped reservorio:** aquel que puede ser infestado y pasar la infestación a otro huésped (no perteneciente a la misma especie del definitivo).
- **Infeción-** Invasión y multiplicación de microorganismo en tejidos corporales.
- **Infestación-** Ataque o subsistencia parasitaria en la piel o en sus apéndices o en ambas, además en algunos casos de invasiones de órganos y tejidos.
- **Inmunológicas-** Estado de resistencia a enfermedades, no susceptibilidad a los efectos invasivos o patogénicos de microorganismos o parásitos o al efecto tóxico de sustancia antigénicas producido por los mismos.
- La acción patógena de los parásitos sobre sus huéspedes puede ser de tres tipos:
- **Parásito-** Organismo animal o vegetal (huésped) que vive a expensas de un organismo (hospedador).
- **Toma de muestra-** Conjunto de procedimientos destinados a obtener una parte representativa cuantitativamente a partir de un todo, en nuestro caso, el paciente, el medio ambiente, etc.
- **Virus-** Cualquier miembro de una clase única de agentes infecciosos, que se distinguen originariamente por su pequeño tamaño y su incapacidad de replicarse fuera de la célula huésped.
- Los grupos de animales parásitos son diversos, la mayoría de ellos son invertebrados, protozoarios, cestodos, trematodos, nematodos e insectos. Estos grupos de parásitos actúan sobre el animal huésped por diferentes mecanismos de acción, y llegan a causar en el animal un mismo perjuicio,

pero de diversas formas, como puede ser la pérdida de ganancia diaria de peso, originada por una inapetencia o por una irritación o estrés prolongado e intenso.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso Rodríguez Rosalba, P. O. (2004). El Fitoplancton En La Camaronicultura y Larvicultura: Importancia De un Buen Manejo. México: Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México Comité de Sanidad Acuícola de Sinaloa.
2. CESASIN. (Marzo de 2003). Técnicas de Bacteriología, Análisis en fresco, Calidad de agua y Buenas Prácticas de manejo y Bioseguridad en Granjas Camaroneras. México, Mazatlán.
3. Covarrubias, M. S. (2010). Enfermedades del Camarón. México: Trillas.
4. Covarrubias, M. S. (2013). Camaronicultura en Agua de Baja Salinidad. México: Trillas.
5. Cuéllar-Angel, V. M. (2014). Guía Técnica Patología e Inmunología de Camarones Peneidos (SEGUNDA EDICIÓN ed.). Panamá: OIRSA.
6. Gómez Gil Bruno, R. A. (s.f.). Enfermedades Infecciosas más Comunes en la Camaronicultura en México y el Impacto del Uso de Antimicrobianos. México: Universidad Autónoma de Sinaloa.
7. López, J. (s.f.). Estado Actual de La Camaricultura en El Salvador y sus Perspectivas. El Salvador
8. Oddone Nahuel, B. T. (2013). Diagnóstico de la cadena de camarón de cultivo en El Salvador. El Salvador: Ministerio de Economía (MINEC) de El Salvador y la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL).
9. Tobey James, C. J. (1998). Impactos Económicos, Ambientales y Sociales del Cultivo de Camarón en Latinoamérica. Estados Unidos: División de Comunicaciones del Centro de Recursos Costeros de la Universidad de Rhode Island.
10. USDA APHYS. (2011). Bioseguridad y Prevención de Enfermedades en la Acuicultura. EE.UU.: Universidad de AIOWA facultad de Medicina Veterinaria.
11. Rao, D. A. (octubre de 2015). Vibriosis en la Acuicultura del Camarón. Obtenido de: <http://www.mvd.sld.cu/doc/pescayacuicultura/vibriosis-en-la-acuicultura-del-camaron.pdf>
12. USDA. (2011). <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf-library/Acreditacion-Veterinaria/NVAP-Mod-15-AQBIO.pdf>. Recuperado el 16 de MARZO de 2016

ANEXO 3. Hoja de reporte para los análisis en fresco.

Escuela Especializada en Ingeniería ITCA FEPADE MEGATEC- La Unión		Escuela de Ciencias del Mar		Laboratorio de Microbiología ITCA La Unión		Hoja de Reporte del Análisis en Fresco (Muestras de Camarón marino)		
Fecha: _____		Nombre de la cooperativa de Procedencia: _____		Nombre del Estanque: _____				
N°	Características Externas	Observaciones/ Número de organismos Examinados						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Peso promedio (gr)							
2	Tamaño promedio (cm)							
3	Actividad del camarón							
4	Coloración del Organismo (blanco translúcido)							
5	Coloración del Organismo (rojizo)							
6	Coloración del Organismo (amarillento)							
7	Opacidad muscular							
8	Textura de la cutícula (exoesqueleto) normal							
9	Textura de la Cutícula (exoesqueleto) delgada o suave							
10	Melanización (color café claro) en los periopodos							
11	Melanización (color café claro) en las estructuras de la boca							
12	Melanización (color café claro) en los uropodos							
13	Coloración rojiza de los urópodos							
14	Ampulas en los uropodos							
15	Pleopodos y periopodos completos							
16	Pleopodos y periopodos incompletos							
17	Deformidad en el abdomen							
18	Deformidad en el rostrum							
19	Deformidad en el telson							
20	Color de la antena							
21	Antena completa							
22	Antena incompleta							
23	Intestino vacío							
24	Intestino lleno							
25	Presencia de heces en forma continua							
26	Presencia de heces en forma discontinua							
27	Ciego Intestinal Normal							
28	Ciego Intestinal Inflamado							
29	Ciego Intestinal Cortado							
30	Síndrome del acalambamiento							
31	Color del Hepatopancreas							
32	Tamaño normal del Hepatopancreas							
33	Atrofia (reducción del tamaño)							
34	Hipertrofia (aumento de tamaño)							
35	Tiempo de Coagulación de Hemolinfa (seg.)							
N°	Características Internas	Observaciones/ Número de organismos Examinados						
		1	2	3	4	5	6	7
Intestino								
36	Número Gregarinas en su estadio gametocisto							
37	Número Gregarinas en su estadio esporozoito							
38	Número Gregarinas en su estadio sicigias de dos a siete divisiones							
39	Inflamación del intestino							
40	Presencia de nematodos							
41	Presencia de cianofitas							
Estadio de muda								
42	Presencia de ectoparásitos							
43	Estadio de intermuda							
44	Estadio de premuda							
45	Estadio de posmuda							
Branquias								
46	Presencia de detritus en la branquias							
47	Áreas oscuras en las branquias							
48	Presencia de protozoarios en la branquias							
49	Presencia de bacterias filamentosas en la branquias							
50	Presencia de nodulos amarillos							
Firma responsable				Firma responsable				

ANEXO 4. Guía para dar un valor numérico cualitativo del grado de severidad a la infestación por gregarinas utilizando Análisis en Fresco.

Grado de severidad	Signos Clínicos
0	No presentan signos de infección por el parásito (0). No presentan lesiones causadas por el parasitismo
1	Presencia muy baja del parásito (1 -15/intestino/organismo) se observan muy pocas lesiones causadas por el parasitismo, como infiltración hemocítica.
2	Se observa presencia moderada del parásito (16 - 50/intestino/organismo) se observan lesiones moderadas a severas causadas por el parasitismo, como infiltración hemocítica y formación de nódulos hemocíticos, se observa mortalidad si no se aplica tratamiento
3	Se observa presencia alta del parásito (51 - 100/intestino/organismo) se observa un incremento en las lesiones causadas por el parasitismo, como infiltración hemocítica y áreas multifocales mecanizadas y formación de nódulos hemocíticos, Potencialmente letal si no se aplica tratamiento
4	Se observa gran cantidad de parásito (más de 100/intestino/organismo) se observan severas lesiones causadas por el parasitismo, como infiltración hemocítica, melanización multifocal y necrosis, Muy letal con altas mortalidades

ANEXO 5⁷. Clasificación del daño causado en la hemolinfa y hepatopáncreas los camarones juveniles y adultos.

Tipos de UFC en Agar TCBS	Hemolinfa (UFC/ml)		Hepatopáncreas (UFC/gr)	
	>10 ³	<10 ³	>10 ⁵	<10 ⁵
Verdes Luminiscentes 100 %	Grave	Grave	Grave	Serio
Verdes >50 %	Serio	Elevado – Serio	Serio	Elevado - Serio
Verdes <50 %	Elevado - Serio	Elevado	Elevado	Normal- Elevado
Amarillas	Elevado	Normal- Elevado	Normal- Elevado	Normal

⁷ Fuente: Dr. Bruno Gómez-Gil, CIAD, AC

ANEXO 6. Resultados de análisis en fresco muestras de camarón

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Externas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Peso promedio (gramo)	4.4	3.9	4.4	4.0	4.9	4.0
Tamaño promedio (centímetro)	9.3	8.2	9	8.5	8.4	8.2
Actividad del camarón	activo	activo	activo			
Coloración del organismo blanco traslucido	No	No	Si			
Coloración rojiza	No	No	No			
Coloración amarillenta	No	No	No			
Opacidad muscular	Si	Si	No			
Textura de la cutícula normal	Si	Si	Si			
Extracción de hemolinfa (ml)	2.0	1.0	-			
Textura de la cutícula delgada (o suave)	No	No	No			
Melanización (color café claro) en los periozopos	No	No	No			
Melanización (color café claro) en los Uropodos	No	No (cola verde)	No (cola verde)			
Ciego intestinal normal	Si	No	No			
Ciego intestinal Inflamado	No	Si	Si			
Deformidad en el abdomen	No	Si	No			
Deformidad en el rostrum	No	No	No			
Color blanco traslucido de los Uropodos	Si	Si	Si			
Coloración rojiza de los Uropodos	No	No	No			
Ámpulas en los Uropodos	No	No	No			
Síndrome de acalambramiento	No	No	No			

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Externas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Color de la hepatopáncreas	Café claro	Café claro	Café claro			
Tamaño normal de la hepatopáncreas	Si	Si	Si			
Atrofia (reducción del tamaño)	No	No	No			
Hipertrofia (aumento de tamaño)	No	No	no			
Hepatopáncreas						
Color del fluido del Hepatopáncreas						
Melanización tubular (Túbulos /campos)						
Necrosis tubular (Túbulos /campos)						
Túbulos Melanizados (Túbulos /campos)						
Deformación de los túbulos (Túbulos /campos)						
Cantidad de Lípidos (Gotas de Grasa)						
Intestino						Grado 0
Numero de gregarinas en su estado Esporozoíto (organismos/Intestino)	Grado 4	Grado 3				
Numero de gregarinas en su estado Gametosistos (organismos/Intestino)	Grado 1		Grado 1	Grado 1		
Numero de gregarinas en su estado Sicigias de dos a siete Divisiones (organismos/Intestino)		Grado 1				
Presencia de nematodos(No/Campo)						

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Externas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Presencia de Cianofitas (No/Campo)						
Microsporidios (No/Campo)						
Estado de Muda						
Estado de inter muda	Si		Si		Si	Si
Estado de pre muda						
Estado de muda		Si		Si		
Estado de post muda						
Branquias						
Presencia de necrosis en las branquias (organismos/campo)						
Presencia de nódulos hemocíticos en las branquias (organismos/campo)						
Presencia de protozoarios en las branquias (organismos/campo)	Si zootha mnum sp grado 2					

ANEXO 7. Análisis en fresco de muestras de camarón marino

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Externas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Peso promedio (gramo)	4.3	6.4	6.6	4.4	4.5	3.0
Tamaño promedio (centímetro)	3.8	4	4	3.9	3.5	3.1
Actividad del camarón	Inactivo	Inactivo	Activo	Activo	Activo	
Coloración del organismo blanco traslucido	No	Si	No	No	No	No
Coloración rojiza	No	No	No	No	No	No
Coloración amarillenta	No	No	No	No	No	No
Opacidad muscular	Si	No	Si	Si	Si	Si
Textura de la cutícula normal	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Extracción de hemolinfa (ml)	5	1	3	5	1	
Textura de la cutícula delgada (o suave)	No	Si	No	No	No	No
Melanización (color café claro) en los periopodos	Si	Si	Si	Si	No	No
Melanización (color café claro) en los Uropodos	No	No	No	No	No	No
Ciego intestinal normal	No	Si	No	No	Si	No
Ciego intestinal Inflamado	Si	Si	Si	Si	No	Si
Deformidad en el abdomen	No	No	No	No	No	No
Deformidad en el rostrum	No	No	No	No	No	No
Color blanco traslucido de los Uropodos	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Coloración rojiza de los Uropodos	No	No	No	No	No	No

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Externas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Síndrome de acalambramiento	No	No	No	No	No	No
Color de la hepatopáncreas	Café claro	Café claro	Café claro	Café claro	Café claro	Café claro
Tamaño normal de la hepatopáncreas	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Atrofia (reducción del tamaño)	No	No	No	No	No	No
Hipertrofia (aumento de tamaño)	No	No	No	No	No	No

ANEXO 8: análisis en fresco de muestras de camarón marino (externas) cooperativa fauna silvestre

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Internas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Hepatopáncreas						
Color del fluido del Hepatopáncreas						
Melanización tubular (Túbulos /campos)						
Necrosis tubular (Túbulos /campos)						
Túbulos Melanizados (Túbulos /campos)						
Deformación de los túbulos (Túbulos /campos)						
Cantidad de Lípidos (Gotas de Grasa)						
Intestino						
Numero de gregarinas en su estado Esporozoíto (organismos/Intestino)	No	No	No	Si Grado 4	Si Grado 4	Si Grado 4
Numero de gregarinas en su estado Gametosistos (organismos/Intestino)	No					Si Grado 1

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Internas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Numero de gregarinas en su estado Sicigias de dos a siete Divisiones (organismos/Intestino)	No					Si Grado 1
Presencia de nematodos(No/Campo)						
Presencia de Cianofitas (No/Campo)						
Microsporidios (No/Campo)						
Estado de Muda						

Procedencia especie: Cooperativa Fauna Silvestre						
Especie: L.V.						
Estanque Numero: La Troncosa						
Fecha: Julio 2017						
Características Internas	Observaciones en camarón vivo					
	1	2	3	4	5	6
Estado de inter muda	Si	Si	Si		Si	Si
Estado de pre muda				si		
Estado de muda						
Estado de post muda						
Branquias						
Presencia de necrosis en las branquias (organismos/campo)	No					
Presencia de nódulos hemociticos en las branquias (organismos/campo)	Si	Si	Si	Si		
Presencia de protozoarios en las branquias (organismos/campo)	Si zootham nium sp grado 3	Si zootham nium sp grado 4	Si zootham nium sp grado 1	Si zootham nium sp grado 1	Si zootham nium sp grado 3	

VISIÓN

Ser una institución educativa líder en educación tecnológica a nivel nacional y regional, comprometida con la calidad, la empresariedad y la pertinencia de nuestra oferta educativa.

MISIÓN

Formar profesionales integrales y competentes en áreas tecnológicas que tengan demanda y oportunidad en el mercado local, regional y mundial, tanto como trabajadores y como empresarios.

VALORES

EXCELENCIA: *Nuestro diario quehacer está fundamentado en hacer bien las cosas desde la primera vez.*

INTEGRIDAD: *Actuamos congruentemente con los principios de la verdad en todas las acciones que realizamos.*

ESPIRITUALIDAD: *Desarrollamos todas nuestras actividades en la filosofía de servicio, alegría, compromiso, confianza y respeto mutuo.*

COOPERACIÓN: *Actuamos basados en el buen trabajo en equipo, la buena disposición a ayudar a todas las personas.*

COMUNICACIÓN: *Respetamos las diferentes ideologías y opiniones, manteniendo y propiciando un acercamiento con todo el personal.*

SEDE Y REGIONALES EL SALVADOR



La Escuela Especializada en Ingeniería ITCA-FEPADE, fundada en 1969, es una institución estatal con administración privada, conformada actualmente por 5 campus: Sede Central Santa Tecla y cuatro Centros Regionales ubicados en Santa Ana, San Miguel, Zacatecoluca y La Unión.

1 SEDE CENTRAL SANTA TECLA

Km. 11.5 carretera a Santa Tecla, La libertad.

Tel.: (503) 2132-7400

Fax: (503) 2132-7599

2 CENTRO REGIONAL SANTA ANA

Final 10a. Av. Sur, Finca Procavia.

Tel.: (503) 2440-4348

Tel./Fax: (503) 2440-3183

3 CENTRO REGIONAL LA UNIÓN

Calle Sta. María, Col. Belén, atrás del Instituto Nacional de La Unión

Tel.: (503) 2668-4700

4 CENTRO REGIONAL ZACATECOLUCA

Km. 64.5, desvío Hacienda El Nilo sobre autopista a Zacatecoluca.

Tel.: (503) 2334-0763 y

(503) 2334-0768

5 CENTRO REGIONAL SAN MIGUEL

Km. 140 carretera a Santa Rosa de Lima.

Tel.: (503) 2669-2298

Fax: (503) 2669-0061