

MANUAL DE LARVICULTURA



ÍNDICE

página 3	1. Introducción
página 4	2. Preparación de módulos de larvicultura
página 8	3. Microbiología
página 9	4. Cultivo de microalgas
página 16	5. Producción larvaria
página 20	6. Control de calidad de la larva
página 40	7. Descapsulación de Artemia
página 44	8. Tabla de tratamientos generales
página 45	9. Tabla de problemas que se puedan presentar y posibles soluciones
página 46	10. Formatos generales



1. INTRODUCCIÓN



La acuicultura, camaronicultura o producción de camarones en cautiverio, es una actividad de cultivo en medio acuático, industrializada por medio de la tecnología. Con fines de producción y comercialización, el consumo de camarón se ha expandido con la demanda de los países industrializados. Los camarones son unos de los animales que mejor se adaptan a todo tipo de cambios en su hábitat, desde alteraciones drásticas en la salinidad, la temperatura o la proporción de compuestos nitrogenados del agua.

Un fuerte crecimiento de India, una recuperación en China y una mayor producción de otros países asiáticos y latinoamericanos, impulsará la producción mundial de camarón a más de 3.5 millones de toneladas métricas en 2018, según el panel de camarón en la Conferencia Global Seafood Market (GSMC). Zhanjiang Guolian Aquatic Products, la compañía de camarones más grande de China, pronostica que el consumo mundial de camarones de cultivo aumentará a 5.2 millones de toneladas métricas en 2020. China representó el 42% del consumo mundial de camarón en 2017, seguido por el 15% del mercado Estadounidense y el 13% de la Unión Europea.

El panel de camarón GSMC estima una producción de camarón de India, de 697,000 TM en 2017/2018 y 757,000 TM para el período 2018/2019. Por otro lado, se estima que Ecuador exportará 531,000 TM en 2018, frente a las 469,000 TM de 2017. Además del aumento de la producción de India y Ecuador, también se prevé que la producción vietnamita se disparará en 2018. El panel presentó 470,000 TM como la estimación de producción de Vietnam para 2018, frente a 415,000 TM en 2017. De la misma manera, la producción de Indonesia debería aumentar a 335,000 TM en el 2018.

La principal causa de este pronóstico de crecimiento es “mejores técnicas de alimentación y algún aumento en la densidad”. Alimento de mejor calidad, así como también el uso de alimentadores automáticos puede provocar un incremento de la producción

en los estanques. Indonesia ha aumentado el número de hectáreas dedicadas a la acuicultura. Sin embargo, la producción en los próximos años probablemente sea estable o muestre algún crecimiento, pero no alcance los antiguos niveles de incremento. Además, el país tiene algunos problemas con la enfermedad de las heces blancas. La enfermedad puede estar jugando un papel en Indonesia, pero ya no es un problema en Tailandia, donde el síndrome de mortalidad temprana (EMS) ya no es un factor determinante.

Por otro lado, Tailandia se ha recuperado de EMS, pero con menos estanques en operación. Sin embargo, las nuevas prácticas acuícolas generan una producción más eficiente, lo que conduce a un mayor tonelaje en menos superficie. Además, la capacidad de procesamiento del país se ha reducido para que coincida con la producción acuícola más baja. México también es un país que se ha recuperado del EMS, aunque la enfermedad nunca fue reconocida oficialmente. Para 2017, la producción fue de 140,000 TM, en comparación con los 120,000 del año anterior. Esto ha sido impulsado por un stock mejorado de reproductores con mayores tasas de supervivencia y una mejor tecnología acuícola (Undercurrent News: Perspectiva de la producción camaronera de cultivo, 2018).

La producción acuícola Ecuatoriana se realiza en 213 mil Ha (207 mil Ha de camarón), generando alrededor de 200 mil plazas de trabajo. Hasta octubre de 2018, se exportaron 417.864 TM de camarón, que representaron 2.390 millones de dólares, siendo sus principales países de exportación: Vietnam, China, Estados Unidos, España, Francia, Italia (Fuente: Estadistic S.A.).

2. PREPARACIÓN DE MÓDULOS DE LARVICULTURA



2.1 LIMPIEZA DE TANQUES Y EQUIPOS

El laboratorio de larvas consta de diferentes áreas de producción: departamento de producción: departamento de larvas, reservorio, Artemia, alimentación, cultivo de microalgas, análisis, cosecha, entre otras. Cada área debe poseer un protocolo de limpieza y desinfección antes, durante y después de cada ciclo de producción, para eliminar cualquier agente patógeno y controlar todos los puntos críticos que puedan llevar a una determinada contaminación; ya sea al principio, mitad o final de la producción.

2.1.1 TANQUES DE CULTIVO

Los tanques de producción en larvicultura pueden ser redondos, cuadrados o rectangulares. Deben tener inclinación hacia el punto de drenaje, que permita eliminar de manera eficiente todos los residuos al final del ciclo de producción. El material con el que se fabrican dichos tanques pueden ser fibra de vidrio, cemento, ladrillos pintados con pintura epóxica o recubiertos de liner (HDPE/ Polietileno de alta densidad), entre otros.

Para garantizar la limpieza de los tanques de producción, deben ser expuestos a un sistema de desinfección, antes y después de cada ciclo de producción para eliminar cualquier agente patógeno que pueda alterar la salud de los organismos cultivados.



PROCEDIMIENTO

Al inicio de la producción estos tanques deben ser lavados con abundante agua salada y una solución de amonio cuaternario (jabón líquido neutro) a una concentración de 10-20 ml/litro. Luego se debe aplicar una solución de vitamina C [10-20 ml/litro] disuelto en agua dulce. Por último, son enjuagados con abundante agua dulce y los tanques de producción deben ser cubiertos con polietileno traslúcido no tóxico, antes de ser llenados.

Al final del ciclo de producción estos tanques deben ser lavados con abundante agua salada, y aplicar sobre su superficie una solución de jabón líquido neutro [1-2 ml/litro]; eliminando toda suciedad y residuos de materia orgánica, luego se debe aplicar una solución de cloro líquido a concentración de 5-10 ml/litro en la superficie, dejando secar al sol por un tiempo determinado (5 a 7 días).

2.1.2 DEPARTAMENTO DE ARTEMIA - ÁREA DE TANQUES

Al inicio de la producción los tanques deben ser lavados con una solución de jabón líquido neutro [5-10 ppm] y luego aplicarles una solución de vitamina C [5-10 ppm], posterior se proceden a llenar a nivel operativo.

Debido a su alta probabilidad de poseer una elevada carga bacteriana, al final de cada ciclo de producción, deben ser sometidos a un sistema de desinfección más riguroso. Se lava con una solución de jabón líquido neutro [2-3 ppt] en agua dulce, luego se desinfecta con una solución de Hipoclorito de Sodio [50 ppt] eliminando cualquier agente patógeno, y se dejan secar al sol hasta el momento de iniciar nuevamente el ciclo de producción.



2.1.3 LÍNEAS DE AIRE

Para el inicio del ciclo de producción se enjuagan las líneas con una solución de vitamina C a una concentración de 2–4 ppt en agua dulce, recirculando por el lapso de 30 minutos. Luego se procede a drenar las líneas de aire, encender los sistemas de blower y conectar el sistema a los tanques de producción. Adicionalmente se puede colocar alcohol de grado reactivo y esperar vaporización por el lapso de 1 a 4 horas con el sistema de aireación encendido.

Al finalizar el ciclo de producción son desinfectadas con una solución de cloro líquido [25-50 ppt] y Peróxido de Hidrógeno [15-20 ppm] en agua dulce, recirculando por todo el sistema de aire por el lapso de 30 minutos o más. Si es posible, usar un sistema de eliminación física de residuos (esponjas), al final se drenan las líneas de aire y se dejan secar.



2.1.4 EQUIPOS

Todos los materiales a usar en un ciclo de producción deben estar debidamente desinfectados y de ser posible previo a ser utilizados lavarlos con jabón líquido neutro [5 ppt] junto con abundante agua dulce.

Al final del ciclo de producción son lavados con una solución de jabón líquido neutro [2-3 ppt] en agua dulce, eliminando todo residuo de materia orgánica e inorgánica. Luego deben ser colocados en una tina con agua dulce e Hipoclorito de Sodio [1-10 ppt], dejarlos en sumersión por 24 horas mínimo, retirarlos de la solución y dejar secar al sol.



2.1.5 PREPARACIÓN DEL AGUA

Se llenan los reservorios con agua de mar y se les adiciona Hipoclorito de Sodio a una concentración de 40-50 ml/ton de agua, con 24 horas de aireación y aplicando recirculación. Se neutraliza el cloro residual con vitamina C, confirmando la residualidad por medio de prueba química con ortotolidina. Se recircula el agua por 48 horas y luego se adiciona Hidróxido de Calcio 5-20 gr/ton y se deja decantar para obtener el agua superficial. Luego se procede a transferir a los tanques de cultivo.

3. MICROBIOLOGÍA



Esta área debe estar vinculada a cada uno de los procesos de producción y las metodologías van a variar dependientemente del sistema de cultivo y los sitios de muestreo. No obstante, es considerada un área de control de calidad que ayuda a la prevención y diagnóstico de enfermedades de manera oportuna, logrando así optimizar los procesos de producción (Cuellar et al., 2014).

4. CULTIVO DE MICROALGAS

Las diatomeas son organismos unicelulares y microscópicos, solitarios o bien formando cadenas como organismos coloniales. Las formas de las diatomeas son variadas. Los caracteres más importantes de éstas residen en su pared celular llamada frústula, la cual no contiene celulosa, sino pectina impregnada de sílice. La frústula no forma una pieza completa, sino está constituida de dos valvas que se embonan una dentro de la otra.

Las diatomeas presentan dos tipos de reproducción, una sexual por fusión de gametos y la asexual por medio de división celular. En el medio natural se producen agrupaciones masivas de organismos causadas por factores fisicoquímicos y principalmente por incrementos en los nutrientes. Estas agrupaciones son ocasionadas por la reproducción asexual de los organismos, conocidas comúnmente como floraciones.

Los cultivos de microalgas son indispensables para las actividades acuícolas, pudiéndose aprovechar las poblaciones naturales del medio y aquellas que pueden producirse de manera invitro.





4.1 CEPARIO

Las especies de microalgas se seleccionan en base a los siguientes criterios: el del valor alimenticio, su facilidad de ser cultivadas, las dimensiones de las células, la naturaleza de su pared celular y la composición química propia (Barnabé ,1991). Las microalgas están representadas por una gran variedad de grupos, que aportan oxígeno, tienen contenidos nutritivos importantes, como lo son polisacáridos, aminoácidos, enzimas y otras proteínas. Las microalgas más utilizadas en la acuicultura son las diatomeas de los géneros *Chaetoceros* como las algas flageladas (*Thalassiosira* sp. / *Tetraselmis* sp.).

El proceso de renovar las cepas debe realizarse mensualmente, con el fin de mantener en buen estado las algas. Una vez retirado el tapón de algodón que tiene la fiola con las cepas, se debe pasar el cuello de esta por el mechero de Busen. Un volumen de 20 a 50 ml es pasado a otra fiola, que contiene el medio previamente esterilizado. Luego se quema el cuello de la fiola y se coloca el tapón. Las cepas serán conservadas hasta obtener los nuevos crecimientos. La esterilidad es muy importante en cada paso.

Algunas algas de uso común en los cultivos



Tetraselmis sp. (10-15 μm)



Isochrysis sp. (3-5 μm)



Chaetoceros sp. (4-6 μm)

4.2 FACTORES DE IMPORTANCIA DENTRO DE LA PRODUCCIÓN DE ALGAS

Estos factores fisicoquímicos que permiten incrementar rápidamente y regular a la población, son:

4.2.1 LUZ (INTENSIDAD LUMINOSA)

La intensidad de la luz es uno de los factores más importantes para el crecimiento fotosintético de las microalgas. Los sistemas de cultivos de microalgas pueden ser iluminados por luz artificial, luz solar o ambas. Entre los sistemas de cultivo de algas con iluminación natural, con grandes áreas de iluminación, se encuentran los estanques abiertos, los llamados platos planos o flat plates, los airlift tubulares o de tipo serpentín y los de tipo inclinado, entre

otros (Chisti, 2007). Los sistemas de biorreactores empleados a nivel laboratorio son iluminados interna o externamente por luz artificial con lámparas fluorescentes y diodos emisores de luz (light emitting diodes, LED).



4.2.2 TEMPERATURA

La producción de algas aumenta proporcionalmente con la temperatura, hasta alcanzar la temperatura óptima de cada especie. Por encima de esta, aumenta la respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global. La temperatura óptima varía entre las especies, pero en general está entre 28° y 35°C (Park et al. 2011a).

Información de pH 7,6 a 8 (Fábregas et al. 1984) Fábregas, J., J. Abalde, C. Herrero, B. Cabezas & M. Veiga. 1984. Growth of the marine microalgae Tetraselmis suecica in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. Aquaculture 42: 207-215



4.2.5 CONCENTRACIÓN DE DIVERSOS NUTRIENTES

El nitrógeno es el nutriente más importante para las microalgas (después del carbono) y se incorpora como nitrato (NO_3^-) o como amonio (NH_4^+) (Grobbehaar 2004, Martínez 2008, Abdel-Raouf et al. 2012).

El fósforo es fundamental en muchos procesos celulares, tales como la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía (Grobbehaar 2004). Aunque el contenido en fósforo de las microalgas es menor al 1%, su deficiencia en el medio de cultivo es una de las mayores limitaciones al crecimiento.

4.3 TÉCNICAS DE AISLAMIENTO

En relación al uso de técnicas de aislamiento del medio marino, con la finalidad de obtener cepas puras monoespecíficas; es decir, de una sola especie, por medio de repiqueteos y diluciones, y axénicas, se mencionan en los manuales de Guillard (1973), Stein (1973) y Paniagua et al; (1989).

Existen varias técnicas que nos permiten la obtención de cultivos de algas por separación dentro de las cuales podemos mencionar: pipeteo con pipetas Pasteurs, por estrías en cajas Petri, por separación en agar, entre otros.

El uso de pipeta, consiste de una micropipeta tipo Pasteur (hecha de tubo de vidrio). Tomando una alícuota de muestra (una gota) se deposita en un portaobjetos, con la ayuda de microscopio óptico se observan, utilizando los objetivos 10 X y 40 X. Al encontrar las microalgas, la micropipeta se pone por arriba de ellas y manualmente se baja hasta el nivel de las algas, la cual subía por gravedad, esto se deposita en una gota de agua.

4.4 MEDIOS ENRIQUECIDOS

Los medios enriquecidos como el F/2 de Guillard. (1973), y el de Mathiensen y Tomer en: Paniagua y Bückle (1984) se mencionan en cada uno de sus trabajos, siendo de los más importantes y además los más utilizados para el cultivo de diatomeas y otras especies utilizadas en acuicultura.

Preparación de medio de cultivo W.C., modificado de Guillard y Lorenzen (1972)

Reagentes	Solución-Estoque (g 100 ml ⁻¹)	Medio de cultura
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36,8	1mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	37,0	1mL
Na ₂ HCO ₃	12,6	1mL
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	11,4	1mL
NANO ₃	85,0	1mL
Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	21,2	1mL
Solución de hierro	(g 100 ml ⁻¹ de agua destilada); Na ₂ EDTA=4,36; FeCl ₃ ·H ₂ O=3,15	1mL
Solución de micronutrientes	(g 100 ml ⁻¹ de agua destilada); CuSO ₄ ·5H ₂ O = 0,01; ZnSO ₄ ·7H ₂ O = 0,022; COCl ₂ ·H ₂ O = 0,01; MnCl ₂ ·4H ₂ O = 0,18; Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O = 0,006; H ₃ BO ₃ = 1,0	1mL
Solución de vitaminas	(g 100 ml ⁻¹ de agua destilada); Tiamina HCl = 0,1; Biotina = 0,0005	1mL
Agua destilada		1000mL

4.5 CONTEOS

Esta técnica de conteo es la sugerida por Guillard (1973), donde utilizan un hematocitómetro o cámara de Neubauer de 0.1 mm de profundidad. Se utiliza como fijador de las algas solución al 1% de lugol y de esta se coloca una gota o 2 ul de la muestra.

Control de calidad en producción de larvas.

Para la producción de larvas es importante tomar en consideración varios puntos para mantener una buena calidad de las larvas durante su producción:

- Almacenamiento de progenitores

- Maduración

(ver nuestro manual de maduración skretting para mayor detalle)

- Desove

- Eclosión

- Cría larval

- Producción de algas

- Artemia

- Producción en fase de engorde

El control de calidad debe ser aplicado desde las primeras etapas de la producción de larvas y este implica el control de patógenos a través de las herramientas de diagnóstico.

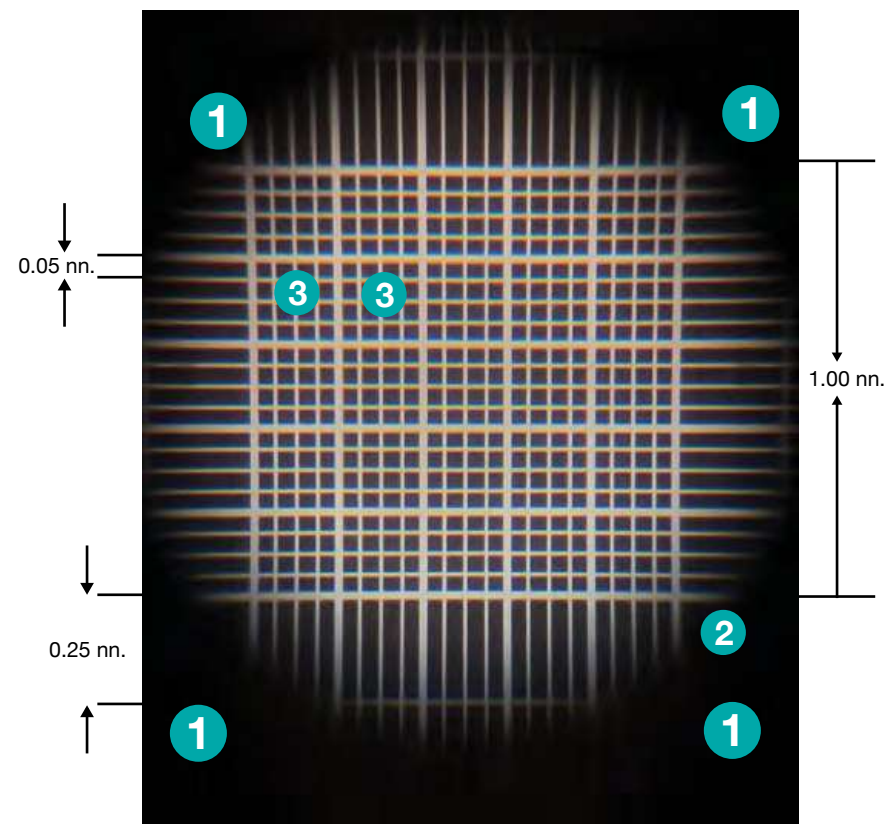
Procedimiento

Dependiendo del tipo de muestra a medir, se prepara una muestra con una concentración apta para su recuento. Típicamente, el rango de concentraciones que permite contar el hematocitómetro está entre 250.000 células y 2,5 millones de células por ml.

Se toman 10 uL de la muestra preparada en el paso 1 con la micropipeta. Se coloca el cubreobjetos encima del hemocitómetro.

Se coloca la punta de la pipeta en el borde del cubreobjetos, en el extremo de la cámara de Neubauer. Se trata de dejar que el líquido penetre entre la cámara y el cubreobjetos desde el lateral, por capilaridad.

Colocar el hematocitómetro en el microscopio, seleccionar el tipo de cuadrado donde vaya a realizarse el recuento y realizar el conteo. **(Ver imagen de referencia)**. Para el cálculo de la concentración se toma como referencia el tipo de cuadrado seleccionado inicialmente para el conteo y se realiza el respectivo cálculo.



Cálculo para determinación de concentración:

Cuadrado 1

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total células contadas} \times 10.000}{\text{Número de cuadrados}}$$

Cuadrado 2

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total células contadas} \times 160.000}{\text{Número de cuadrados}}$$

Cuadrado 3

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total células contadas} \times 250.000}{\text{Número de cuadrados}}$$

5. PRODUCCIÓN LARVARIA



5.1 DESINFECCIÓN DE NAUPLIOS

Existen muchos tratamientos para desinfectar nauplios. Estos varían según el químico usado, dosis y tiempos de exposición.

A continuación, se muestran algunos tratamientos para nauplios previo a su siembra: Tratamiento para Nauplio 5

- 50 ppm de yodo povidine por 60 segundos
- 25 ppm de yodo povidine por 3 minutos .
- 2 ppm de Chloramina T por 5 minutos.

5.2 SIEMBRA DE NAUPLIOS

La densidad de siembra va a depender del tipo de cultivo sea este extensivo, semi-intensivo, intensivo o hiper-intensivo. Una vez que hayan llegado los nuevos animales para larvicultura, se debe calcular cuántos animales son necesarios por tanque (de 120 a 175 nauplios por litro). Considerar alimentar en base a la cantidad de población en el tanque y estimando las mortalidades y/o retrasos.



5.2.1 ACLIMATACIÓN DE NAUPLIOS

Se debe proceder a un periodo de aclimatación de los nauplios previos a ser sembrados. El proceso se basa en causar el menor estrés a los animales, por esta razón las fundas deben ser desinfectadas y colocadas en los tanques sin abrir, logrando de este modo que la temperatura interna de la funda alcance la temperatura del agua de los tanques de cultivo. Constatar que los parámetros físicos comunes de recepción de semilla de cultivo son: Temperatura 29-30,5°C; Salinidad 30-35 g/l; Alcalinidad 125-220; ph 7-8; Oxígeno disuelto > 3mg/l

5.3 ESTIMACIÓN DE LAS POBLACIONES

Las estimaciones de las poblaciones se realizan de acorde al estadio larvario. Las más comunes son los métodos volumétrico (siembra y cosecha) y gravimétrico (cosecha).

5.3.1 MÉTODO VOLUMÉTRICO:

Se toman 4 muestras (250 ml cada una) en distintos puntos de los tanques, con un total de 1l. Se procede a contar cada muestra, se suman los resultados y se multiplican por el volumen (l) de agua en el tanque.



PL es un alimento de alta calidad de Skretting para larvas de camarón, diseñado para ofrecer una nutrición avanzada.

PL es una dieta de alta digestibilidad que ha sido formulada con proteínas marinas específicas, HUFAs, fosfolípidos, algas marinas, vitaminas y minerales.

PL se produce mediante un sofisticado proceso tecnológico a bajas temperaturas que garantiza partículas frescas, suaves y altamente atractables; ofreciendo una estabilidad máxima de los nutrientes en cada micro partícula avanzada en estadios larvarios y precriaderos de camarón tipo raceways.

PL se puede utilizar desde fase Zoea hasta pre-engorde.

5.3.2 MÉTODO GRAVIMÉTRICO:

Se toman muestras de 1 gramo cada una y se contabilizan. Este valor se multiplica por la biomasa presente en el tanque y se conoce la cantidad de larvas presentes. (Recomendado para estadios superiores a PL10 y cosechas, puesto que es necesario extraer toda la biomasa del tanque).

5.4 ALIMENTACIÓN

Uno de los factores más importantes en la larvicultura es la alimentación, los tipos de alimento; así como la calidad en los mismos. En la larvicultura la calidad de los alimentos es clave en el desarrollo y supervivencia de los organismos dentro de los cultivos. Esto puede significar la diferencia entre tener una producción con una supervivencia >50% por baja calidad de agua e insumos o tener un >65% de supervivencia con condiciones favorables y una nutrición óptima.

La alimentación de los organismos variará según el estado fisiológico del organismo, de acuerdo su estadio larvario y la disposición del biólogo/técnico encargado de la producción (Arellano, 1993).

Los pasos a seguir para una adecuada alimentación son:

- Pesar el alimento a suministrar de forma individual para cada tanque.
- Adicionar en referencia a la tabla de alimentación: vitaminas, minerales, probióticos, entre otros.
- Hidratar en un volumen adecuado para la correcta distribución en el tanque.
- Distribuir el alimento de manera uniforme en los tanques de cultivo, siempre aplicando las respectivas normas de bioseguridad. (Arellano, 1993)

Nota: Todos los alimentos y aditivos suministrados deben estar debidamente registrados y validados por los organismos competentes en materia de calidad y seguridad alimentaria (FAO, 2004). Además, considerar el ciclo circadiano de la especie a cultivar, ayuda a un correcto aprovechamiento de los alimentos (Molina, 2003).

5.4.1 DETERMINANDO LAS TASAS DE ALIMENTACIÓN

Por lo general la alimentación en larvicultura va a determinarse dependiendo de los estadios larvarios del camarón y la tasa de supervivencia diaria. En los primeros estadios se debe empezar alimentando con microalgas y alimento balanceado. Se recomienda

distribuir las alimentaciones de 4 a 6 raciones cada 24 horas en estadios de Zoea a Mysis 3, y post-larva de 6 a 8 raciones cada 24 horas.

PROTOCOLO DE PRODUCCIÓN											
Estadio	Temperatura Grados Centigrados	H ₂ O	Alga/ml		Artemia		Diets PL				
		Nivel	Chaeto.	Thalassiosira w.	Quiste/ cocinada	Quiste/ viva	PL#0	PL#1	PL#2	PL#3	PL#4
		Mar			Art/Ind	Art/Ind	10 - 110 micras	100 - 250 micras	250 - 400 micras	300 - 550 micras	500 -800 micras
							gr/ton/día	gr/ton/día	gr/ton/día	gr/ton/día	gr/ton/día
N5/Z1	30	12	60,000	15,000	0	0	0	-	-	-	-
Z1	32	13	80,000	17,000	0	0	0.432 x 6	-	-	-	-
Z2	33	14	80,000	20,000	0	0	0.56 x 6	-	-	-	-
Z3	33	15	100,000	20,000	6 x 6	0	1.0 x 8	0.2 x 10	-	-	-
M1	33	17	100,000	17,000	17 x 6	0	-	2.18 x 10	-	-	-
M2	33	18	100,000	17,000	13 x 6	8 x 6	-	2.35 x 10	-	-	-
M3	33	18	80,000	17,000	12 x 6	15 x 6	-	2.4 x 10	-	-	-
M3/PL1	33	↓13 ↑18	80,000	15,000	0	26 x 6	-	2.5 x 10	-	-	-
PL1	33	18	60,000	15,000	0	32 x 6	-	2.62 x 10	-	-	-
PL2	32	↓13 ↑18	40,000	10,000	0	40 x 6	-	2.7 x 10	-	-	-
PL3	32	18	40,000	10,000	0	45 x 6	-	2.95 x 10	-	-	-
PL4	32	↓13 ↑18	40,000	10,000	0	51 x 6	-	2.91 x 10	-	-	-
PL5	32	18	10,000	10,000	0	56 x 6	-	-	2.93 x 10	-	-
PL6	30	↓13 ↑18	10,000	10,000	0	60 x 6	-	-	3.07 x 10	-	-
PL7	30	18	10,000	10,000	0	60 x 4	-	-	3.22 x 10	-	-
PL8	30	↓13 ↑18	10,000	10,000	0	60 x 4	-	-	3.22 x 10	-	-
PL9	30	18	10,000	10,000	0	60 x 2	-	-	3.5 x 10	-	-
PL10	30	18	10,000	10,000	0	60 x 2	-	-	3.6 x 10	-	-
PL11	30	↓13 ↑18	10,000	10,000	0	60 x 2	-	-	-	3.65 x 10	-
PL12	30	18	10,000	10,000	0	0	-	-	-	3.65 x 10	-
PL13	30	18	10,000	10,000	0	0	-	-	-	3.65 x 10	-
PL14	30	18	10,000	10,000	0	0	-	-	-	3.65 x 10	-
PL15	30	↓13 ↑18	10,000	10,000	0	0	-	-	-	3.65 x 10	-
PL16	30	18	10,000	10,000	0	0	-	-	-	-	3.75 x 10

*tabla de referencia. Puede variar dependiendo del manejo técnico.

6. CONTROL DE CALIDAD DE LA LARVA



La evaluación de las condiciones de las larvas debe realizarse de manera periódica, tomando decisiones sobre la renovación de agua, alimentación y otras actividades; de tal forma que por la tarde, puedan llevarse a la práctica. Las larvas de cada tanque deben ser inspeccionadas mínimo cuatro veces cada día. Inicialmente se hace una inspección visual de la larva, de las condiciones del agua y del balanceado. Se puede tomar una muestra de larvas con un vaso de precipitado e inspeccionarlas a simple vista y también deben ser analizadas al microscopio. (FAO, 2004)

6.1 OBSERVACIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA

Se hacen observaciones sobre el estadio de la larva, salud, actividad, comportamiento, abundancia de comida y heces en el agua. También se deben guardar registros de los parámetros

de calidad del agua y de la cantidad de comida en el tanque. La misma muestra de larvas u otra diferente, debe ser también llevada al laboratorio para un examen más detallado al microscopio. Esto proporcionará la información sobre el estadio, condición, alimentación y digestión; así como de la presencia de cualquier enfermedad o deformidad física (FAO, 2004).

Se pueden enviar muestras, una o dos veces durante el ciclo, para el análisis en laboratorio de PCR y microbiología, para la búsqueda de enfermedades virales y/o bacterianas. (FAO, 2004).



OBSERVACIONES DE NIVEL 1

Las observaciones de Nivel 1 están basadas en aspectos visuales de la larva y las condiciones del agua que puedan ser apreciadas fácilmente a simple vista, tomando animales del tanque en un vaso de precipitado de cristal. Hay que prestar especial atención principalmente al comportamiento o actividad de las larvas, comportamiento natatorio (de acuerdo con su estadio), calidad del agua, presencia de comida y heces; y posteriormente, en la disparidad y homogeneidad de tamaño (FAO, 2004).

ACTIVIDAD NATATORIA

La actividad natatoria de las larvas cambia a lo largo del ciclo, aunque de forma característica. Los estadios zoea nadarán



rápida y constantemente hacia delante, normalmente en círculos, para alimentarse filtrando fitoplancton. El estadio mysis, por comparación, nada hacia atrás mediante sacudidas intermitentes de sus colas, manteniéndose en la columna de agua y alimentándose de fitoplancton y zooplancton. Post-larva, de nuevo vuelve a nadar rápida y constantemente hacia delante. Los primeros estadios son planctónicos, aunque por lo menos desde PL4-5 en adelante, migrarán al bentos para buscar alimento, a menos de que sean mantenidos en la columna de agua mediante una fuerte aireación. Dentro de cada uno de estos distintos modos de nadar, si observamos que el >95% de las larvas nadan activamente, entonces son puntuadas con un 10; si están activas del 70-95%, se puntúa 5; y si son <70% las activas entonces se puntúa 0 (FAO, 2004).



FOTOTAXIS

El estadio zoea debe mantener una fototaxis positiva muy fuerte y moverse hacia la luz. Para comprobar esto, se toma una muestra de larvas y se colocan en un recipiente traslúcido cerca de una fuente de luz y se observa el desplazamiento de los animales. Si el 95% o más de las larvas resultan fuertemente atraídas hacia la luz, las larvas se encuentran en buen estado y se puntúa 10 (FAO, 2004).

Si el 70-95% responde, se consideran aceptables y se anota 5; para menos del 70% se consideran débiles y se puntúa 0 (FAO, 2004).

HILOS FECALES

Durante el estadio zoea 1, cuando se alimenta a los zoea casi exclusivamente con algas, se pueden observar largos hilos fecales colgándoles del ano y suspendidos en la columna agua. Cuando el 90-100% de las larvas tienen esos hilos largos y continuos a lo largo de todo su tubo digestivo, y continuando fuera de su cuerpo, se les considera bien alimentados y se puntúa 10. Cuando entre el 70-90% tienen esos hilos, o son cortos o discontinuos, se anota 5; y cuando son <70% de las larvas las que carecen de este hilo, significa que no están comiendo y se considera 0 (FAO, 2004).



LUMINISCENCIA

Este factor se observa directamente en el tanque de cría de las larvas estando en completa oscuridad. La luminiscencia de las larvas es debida a la presencia de bacterias luminiscentes como *Vibrio harveyi*. Si no se aprecia este fenómeno, se puntúa con 10, si se observa de una forma baja (hasta el 10% de la población) se anota 5; y para poblaciones con luminiscencia por encima del 10% se puntúa 0 (FAO, 2004).

HOMOGENEIDAD DEL ESTADIO

Este factor indica la uniformidad de los estadios larvarios en el tanque. Si el 80% o más de la población está en el mismo estadio, se les puntúa con 10, si están entre un 70-80%, la puntuación es 5; y para situaciones de menos del 70%, la puntuación es 0 (FAO, 2004).

Se debe tener en cuenta que cuando se produce la muda en las larvas, es normal apreciar un decrecimiento en la homogeneidad, por lo tanto hay que considerar el momento en el cual se determina. Esta consideración también es cierta para las post-larvas cuando están mudando (FAO, 2004).

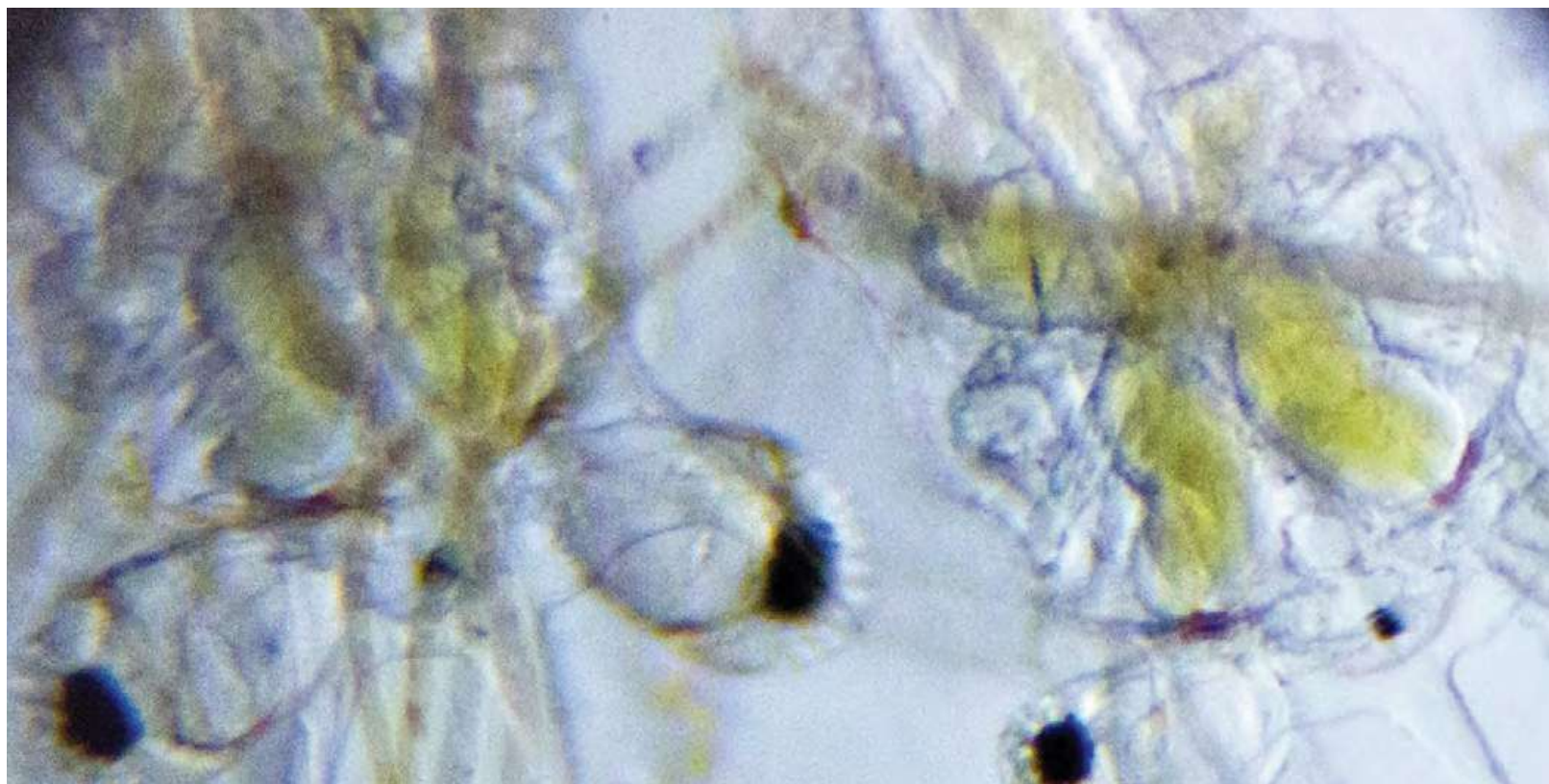
CONTENIDO INTESTINAL

Los contenidos intestinales pueden ser observados en los estadios larvarios tardíos. El intestino se aprecia como una línea oscura que sale desde el hepatopáncreas, situado en la región de la cabeza de la larva y que es fácilmente visible en las larvas si éstas son observadas en recipientes limpios, como un vaso de precipitado

de cristal. Esto sirve como una guía muy útil de la dieta de la larva y la disponibilidad de alimento. Si se observa que la mayoría de las larvas están llenas, se puntúa 10. Si la mitad de las larvas tienen comida en el intestino, se anota 5; y para situaciones con <20% la puntuación es cero (FAO, 2004).

Criterios de clasificación de Nivel 1 para el control de calidad de larva			
CRITERIO	PUNTUACIÓN	ESTADÍO	OBSERVACIONES
Actividad natatoria			
Activa (>95%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Intermedia (70-95%)	5		(2-4x)
Débil (en el fondo) (<70%)	0		
Fototaxis			
Positiva (>95%)	10	Zoea	Observaciones diarias
Intermedia (70-95%)	5		(2-4x)
Negativa (<70%)	0		
Hilos fecales			
Presente (90-100%)	10	Zoea	Observaciones diarias
Intermedio (70-90%)	5		(2-4x)
Ausente (<70%)	0		
Luminiscencia			
Ausente	10	Mysis	Observaciones diarias
Presente (<10%)	5		(2-4x)
Abundante (>10%)	0		
Homogeneidad del estado			
Alto (80-100%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Intermedio (10-80%)	5		(2-4x)
Bajo (<70%)	0		
Contenido Intestinal			
Lleno (100%)	10	Mysis	Observaciones diarias
Medio lleno (50%)	5		(2-4x)
Vacio (<20%)	0		

(FAO, 2004).



OBSERVACIONES DE NIVEL 2

Las observaciones de nivel 2 están basadas en el examen microscópico y de montaje en fresco. Si es necesario, se toma una muestra aleatoria de al menos 20 larvas por tanque (más para tanques mayores). Se debe prestar especial atención: al estado del hepatopáncreas y los contenidos intestinales, necrosis y deformidades de los miembros, organismos del fouling y la presencia de baculovirus en las heces o hepatopáncreas de las larvas de los estadios superiores (FAO, 2004).

CONDICIONES DEL HEPATOPÁNCREAS Y CONTENIDO INTESTINAL

Las condiciones del hepatopáncreas ofrecen una indicación de la alimentación y la digestión. Esto se observa haciendo un montaje en fresco de una muestra de larvas sobre un portaobjetos y observándola en el microscopio con un aumento de 40X. En larvas sanas que muestran una alimentación y digestión activa, el hepatopáncreas e intestino medio estarán llenos de pequeñas burbujas muy visibles (vacuolas digestivas o «lipídicas») y se apreciará una fuerte peristalsis en el intestino. Si el 90% o más de los animales muestreados presenten abundantes vacuolas lipídicas y/o el intestino lleno, se puntúa 10; si el porcentaje de individuos con vacuolas y/o el intestino moderadamente lleno está comprendido entre el 70-90%, se anota 5; y si son menos del 70% y/o el intestino está vacío, se puntúa 0 (FAO, 2004).

NECROSIS

La necrosis del cuerpo y miembros de las larvas, la cual es una indicación de canibalismo o una posible infección bacteriana, se puede observar a la luz de un microscopio de baja potencia. Si no presentan necrosis se puntúa 10; donde <15% de los animales presenten alguna necrosis se anota 5; y donde >15% muestren necrosis, lo que indica que existe una infección severa, se puntúa 0 (FAO, 2004).

DEFORMIDADES

Las deformidades pueden indicar una baja calidad de los nauplios, si aparecen en los primeros estadios, e infecciones bacterianas o manejo inapropiado y estrés si lo hacen en estadios posteriores. Típicamente las finas setas de los miembros o del rostrum pueden aparecer torcidas, rotas o no estar presentes. La cola puede estar doblada, o el intestino terminarse antes de llegar al ano. Normalmente no existen remedios para estos problemas (salvo para el manejo descuidado), y las larvas deformes morirán.



En determinados casos severos, puede ser preferible desechar todo el tanque lo más pronto posible y prevenir la propagación a otros tanques. Cuando no existan deformidades se puntúa 10, para <10% de casos se anota 5; y si son >10% entonces se puntúa 0 (FAO, 2004).

FOULING EPIBIONTE

Las larvas pueden hospedar un amplio rango de organismos que pueden ser desde bacterias y hongos hasta protozoos de muchas especies. Estos atacarán normalmente el exoesqueleto de la cabeza y el cuerpo, y especialmente alrededor de las branquias de las larvas. Cuando las infecciones son ligeras, en la siguiente muda puede deshacerse del fouling sin mayores problemas, pero en casos severos el fouling persistirá o reaparecerá en el siguiente estadio, siendo indicativo de una baja calidad del agua y siendo necesario tomar medidas. Cuando el fouling está ausente se puntúa 10; si <15% tienen temporal o permanente fouling, se anota 5; y si son >15% de los organismos que están colonizados permanentemente, se puntúa 0 (FAO, 2004).

BACULOVIRUS

Los Baculovirus pueden ser normalmente detectados en preparaciones de hepatopáncreas enteros o aplastados (teñido con verde malaquita para el Monodon baculovirus) o de hilos fecales en el caso de larvas de mayor tamaño. Se usan microscopios de luz de alta potencia para identificar los cuerpos virales característicos (los cuales, en el caso de MBV, son tetraédricos y de color oscuro). La aparición de Baculovirus está frecuentemente asociada al estrés, y vemos, que la reducción de los niveles de estrés, y vemos que la reducción de los niveles de estrés puede hacer disminuir con frecuencia la prevalencia y los problemas asociados a la depresión del crecimiento. Cuando los baculovirus están ausentes se puntúa 10; si <10% lo tiene, se anota 5; y si >10% están infectados, puntúa 0 (FAO, 2004).

«BOLITAS»

Las «Bolitas» es el nombre que recibe el síndrome en el que las células epiteliales del intestino y hepatopáncreas se desprenden y aparecen como pequeñas esferas dentro del tracto digestivo.

Se cree que está causado por bacteria y puede ser letal. Para prevenir dicho síndrome han tenido éxito determinadas prácticas tales como sembrar rápidamente todo el laboratorio (entre tres y cuatro días), uso de probióticos y un manejo sanitario y alimenticio correcto (FAO, 2004).

Criterios de clasificación Nivel 2 para el control de calidad de larva

CRITERIO	PUNTUACIÓN	ESTADÍO	OBSERVACIONES
Hepatopáncreas (vacuolas lipídicas)			
Alto (>90%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Moderado (70-90%)	5		(2-4x)
Bajo (<70%)	0		
Contenido intestinal			
Lleno (>95%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Moderado (70-95%)	5		(2-4x)
Vacio (<70%)	0		
Necrosis			
Ausencia (0%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Moderado (<15%)	5		(2-4x)
Severo (<15%)	0		
Epibiontes			
Ausencia (0%)	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
Moderado (<15%)	5		(2-4x)
Severo (<15%)	0		
«Bolitas»•			
Ninguna	10	Todos los estadios	Observaciones diarias
1 a 3	5		(2-4x)
>3	0		
Baculovirus			
Ausencia (0%)	10	Mysis	Observaciones diarias
Moderado (<10%)	5		(2-4x)
Severo (>10%)	0		

- Células epiteliales desprendidas del hepatopáncreas y/o del intestino expresadas como número de «bolitas» en el tracto digestivo. (FAO, 2004).

OBSERVACIONES DE NIVEL 3

Las observaciones de Nivel 3 consisten en la utilización de técnicas moleculares e inmunodiagnósticos y no son normalmente requeridas hasta que las post-larvas no están preparadas para ser transferidas a las instalaciones de engorde. Las técnicas de PCR son las más comunes para realizar tests de la mayoría de los patógenos virales. No obstante, se recomienda el PCR por ser más sensible que el dot-blot (FAO, 2004).

Criterios de clasificación de Nivel 1 para el control de calidad de larva			
ANÁLISIS	OBSERVACIONES	DETERMINACIÓN CUALITATIVA	PUNTUACIÓN
PCR	WSSV	Negativo	10
	AHNP	Negativo	10
	IHHNV	Negativo	10
	TSV	Negativo	10

Análisis general de los criterios de clasificación para el control de calidad de larva

CRITERIO	OBSERVACIONES	EVALUACIÓN DE LA CALIDAD	PUNTUACIÓN
Opacidad muscular	Músculo opaco en la cola de la PL	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Deformidades	Deformidades en miembros y cabeza	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Dispersión de tamaños (CV)	Cálculo del CV del tamaño de la postlarva	<15%	10
		15-25%	5
		>25%	0
Contenido intestinal	Grado de contenido del tracto digestivo	Lleno	10
		Moderado	5
		Vacío	0
Color de hepatopáncreas	Coloración relativa del hepatopáncreas	Oscuro	10
		Pálido	5
		Transparente	0
Condición del hepatopancreas	Cantidad relativa de vacuolas lipídicas	Abundante	10
		Moderado	5
Fouling epibionte	Grado de fouling por epibiontes	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Mecanización	Melanización del cuerpo o miembros	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
		Ninguno	0
Desarrollo branquial	Grado de ramificación de las lamelas branquiales	Completo	10
		Intermedio	5
		Ligero	0
Peristalsis intestinal	Movimiento del músculo intestinal	Alto	10
		Bajo	5
Baculovirus	Observación diaria (2-4x) de Mysis	Ausente (0%)	10
		Moderado (<10%)	5
		Severo (>10%)	0
Relación músculo/intestino	Comparación de la proporción entre los grosores del músculo y el intestino	>3:1	10
		1-3:1	5
		<1:1	0
"Bolitas" células desprendidas del hepatopáncreas e intestino	Número de bolitas en el tracto digestivo	Ninguno	10
		1 a 3	5
		>3	0
Test de estrés	Si <75%, se recomienda otro test	75%	10

(FAO, 2004).



No se pueden ofrecer directrices o estándares fijos, puesto que esto generalmente viene determinado por la experiencia, aunque se puede usar la siguiente guía para reducir el riesgo de mortalidad o de bajo crecimiento del cultivo en estanque de *Penaeus vannamei*. En este análisis de riesgo, el orden de importancia de la evaluación es Nivel 3 > Nivel 2 > Nivel 1 (FAO, 2004).

Se pueden usar los siguientes criterios:

Las post-larvas tienen que pasar la evaluación de Nivel 3:

- Las muestras de post-larvas tienen que dar negativo en las pruebas de PCR para, AHNPD, IHHNV, WSSV y TSV.

• En el supuesto de que las post-larvas pasen la evaluación de Nivel 3, se puede usar la siguiente guía para el Nivel 2:

- Una puntuación superior a 100 representa un bajo riesgo de problemas severos de enfermedad.

- Una puntuación de 65-100 representa un riesgo moderado de problemas severos de enfermedad.

- Una puntuación menor de 65 representa un alto riesgo de problemas severos de enfermedad.

• En el supuesto de que los animales pasen la evaluación de Nivel 2, se puede usar la siguiente guía para el Nivel 1:

- Una puntuación mayor de 30 representa un bajo riesgo de problemas severos de enfermedad.

- Una puntuación de 20-30 representa un riesgo moderado de problemas severos de enfermedad.

- Una puntuación menor de 20 representa un alto riesgo de problemas severos de enfermedad.

6.2 PATOLOGÍAS ASOCIADAS A LA LARVICULTURA

Los patógenos bacterianos que causan daños al camarón de cultivo *Litopenaeus vannamei* habitualmente se encuentran de forma natural en el ambiente marino, siendo oportunistas cuando el camarón se encuentra estresado o debilitado, atacando a los animales; haciéndolos altamente sensibles a las enfermedades con graves implicaciones para el cultivo (Limonta et al., 2012; Citado por Romero, 2016).

La causa del brote de enfermedades de origen infeccioso y no infeccioso está relacionada a condiciones ambientales desfavorables como pueden ser: cultivos con altas densidades, insuficiencias nutricionales, aireación insuficiente, lesiones físicas y un gran número de agentes infecciosos (Abraham y Sasmal, 2009).

Al mismo tiempo Valenzuela, (2013) menciona que la acuicultura en nuestro país se ha desarrollado durante muchos años sin un correcto control; razón por la cual la aplicación de productos fue de forma desmedida, causando un gran impacto ambiental a nivel de los ecosistemas y provocando la aparición de enfermedades. Por tal motivo, es de interés realizar este tipo de investigaciones para poder tomar correctivos ante la presencia de enfermedades, con la finalidad de evitar pérdidas económicas durante el cultivo.



6.2.1 VIBRIOSIS

6.2.1.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

Se observan en la cutícula manchas de color rojo, cafés o negras, en áreas que han sido erosionadas por acción de bacterias quitinolíticas. Cuando la infección progresa, se puede observar el músculo melanizado y con secciones de necrosis y atrofia muscular.

6.2.2 SÍNDROME DE ZOEIA II

6.2.2.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

Se presentan altas mortalidades después de 36-48 horas de haber transcurrido la metamorfosis de Zoea I a Zoea II. Las sintomatologías más importantes son la anorexia (falta de apetito), rápida evacuación del contenido intestinal, letargo (disminución de la actividad normal) con nado errático y la permanencia en el fondo del tanque de los organismos infectados.

6.2.2.2 DIAGNÓSTICO Y CONTROL

El diagnóstico se realiza mediante la elaboración de placas en fresco de Zoeas II., donde se observa atrofia del hepatopáncreas con desprendimiento celular o hepatocitos hipertrofiados y redondos “llamados bolitas blancas”, inflamación y presencia de células del hepatopáncreas viajando a través del intestino. Se piensa que las bolitas blancas son una reacción a la presencia de toxinas bacterianas (*Vibrio* spp). También se han observado en el hepatopáncreas de zoeas y post-larvas tempranas “bolitas negras”, las cuales han sido asociadas a infecciones bacterianas. Estas bolitas poseen una sustancia oscura, que ha sido identificada como clorofila. Probablemente aparecen por las toxinas producidas por las bacterias asociadas con el tracto digestivo, las cuales causan desórdenes metabólicos y una mala digestión de las algas ingeridas. Hasta la fecha, se desconoce el origen de las bolitas negras en el cultivo larvario.



En organismos con la enfermedad de bolitas blancas, se diagnostica por histopatología con tinción de hematoxilina-eosina, y se busca la presencia de células “bolitas blancas” viajando por el lumen del túbulo del hepatopáncreas y del intestino de la Zoea II, hepatocitos hipertrofiados y en algunos casos infiltración hemocítica y formación de nódulos. Para el diagnóstico de las bolitas negras, se observan depósitos de color café dentro de las células del hepatopáncreas.

Para el control del síndrome de zoea II, es necesario el empleo de antibióticos, con la previa realización de antibiogramas para su selección y en muchos laboratorios cuando se presenta Zoea II, desechan todos los organismos que lo presenten y desinfectan los tanques de cultivo larvario.

6.2.3 ENFERMEDAD DE LUMINISCENCIA

6.2.3.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

Los organismos infectados con esta bacteria se observan con luminiscencia, letargo (disminución de la actividad normal), nado errático, permanencia en el fondo del tanque y mortalidades masivas.

6.2.3.2 DIAGNÓSTICO Y CONTROL

El diagnóstico se realiza mediante la elaboración de placas en fresco de larvas, donde se observa en la fase inicial colonización masiva de las bacterias en los apéndices, tracto digestivo y región oral. Pero conforme avanza la enfermedad y entra en la fase grave, se observa colonización en el intestino medio y posterior y en hepatopáncreas, hasta llegar a colonizar todos los órganos y tejidos del organismo; hasta tener una septicemia generalizada con mortalidades altas.

Por análisis de bacteriología es necesario aislar la bacteria principalmente de organismos moribundos que muestren una gran colonización de bacterias. El aislamiento se realiza en agar TCBS, sembrando el macerado de los organismos previamente desinfectados. Al obtener los resultados en las placas, se observa gran cantidad de colonias luminiscentes de color verde.

En organismos con la enfermedad de luminiscencia, se diagnostica por histopatología con tinción de hematoxilina-eosina y se busca la presencia de colonias de bacterias, infiltración de hemocitos, nódulos hemocíticos, melanización, necrosis en apéndices, tracto digestivo, intestino y hepatopáncreas. Para el control de esta enfermedad de luminiscencia, es necesario aplicar tratamiento



mediante el empleo de antibióticos, con la previa realización de antibiogramas y en algunos casos se desechan todos los organismos y se desinfectan los tanques de larvicultura.

6.2.4 (NHP-B) NECROSIS DEL HEPATOPÁNCREAS BACTERIANA

6.2.4.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

Durante la fase inicial de la enfermedad, no aparecen signos clínicos de organismo enfermo.

Durante la fase aguda, la primera señal que se reporta para esta enfermedad, es reducción en el consumo de alimento en post-larvas tardías juveniles, hasta dejar de comer por completo. Posteriormente se observa la aparición de camarones moribundos nadando cerca de la superficie y en las orillas de los estanques. Los camarones moribundos muestran palidez generalizada del cuerpo, con un color café claro, branquias de color amarillo pálido a café y hepatopáncreas atrofiado, con coloración café claro a oscuro, provocando que sea fácil de confundir con enfermedades virales. En esta fase se observan las más altas mortalidades.

6.2.4.2 DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Fase aguda: se observa atrofia del hepatopáncreas, mayor desprendimiento celular, células con núcleos hipertrofiados, coloración pálida (desaparece el color naranja), textura blanda y edematosa (fluido blanquecino al realizar la disección), melanización, atrofia tubular y necrosis de las células y de los túbulos del hepatopáncreas, así como también es posible observar nódulos hemocíticos en el hepatopáncreas.

Fase crónica: se observa una menor melanización, atrofia tubular y un aumento de la necrosis de las células y de los túbulos del hepatopáncreas, así como también es posible observar una mayor cantidad de nódulos hemocíticos en este órgano. El epitelio de los túbulos del hepatopáncreas se aprecia muy atrofiado; en algunas secciones se observa la formación de nódulos melanizados.



6.2.6 EPICOMENSALES (ENFERMEDAD DE LAS BRANQUIAS, ENFERMEDAD DE BRANQUIAS FILAMENTOSAS, ENFERMEDAD BACTERIANA DE LAS BRANQUIAS, BRANQUIAS SUCIAS, BRANQUIAS NEGRAS, BRANQUIAS CAFÉS O, BRANQUIAS CON ADHERENCIAS DE PROTOZOARIOS.)

6.2.6.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

La presencia de coloración amarilla, café o negra en las branquias, está relacionada con colonización de epicomensales y puede ser debido a material detrítico atrapado por los microorganismos que están adheridos a las lamelas.

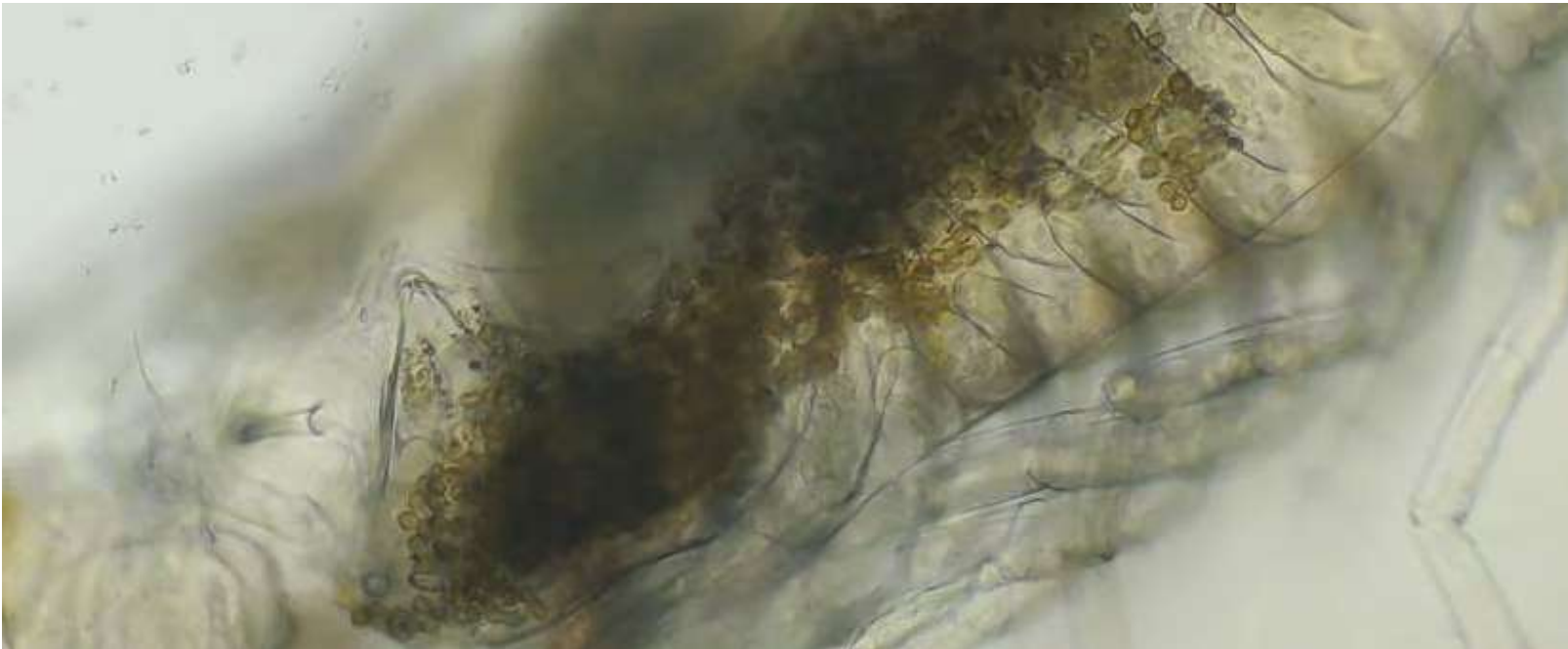
Si se observa coloración verde o verdosa de las branquias, puede deberse a colonización de las lamelas branquiales por una o varias especies de algas.

En infestaciones de larvas o post-larvas, con frecuencia se ven involucrados los apéndices natatorios, ojos y algunas partes de la boca. Como se mencionó anteriormente, los animales afectados pueden mostrar dificultades para moverse y alimentarse.

Una invasión desde moderada hasta alta, puede inhibir la respiración del animal. Los camarones pueden aparecer exteriormente normales pero mueren rápidamente durante o inmediatamente después del ejercicio, manipulación (muestreos o transferencias) o exposiciones a condiciones de oxígeno bajo en el agua.

Cuando los camarones se encuentran severamente afectados por epicomensales, pueden morir durante la muda, encontrándose luego en el fondo con apariencia "limpia" del exoesqueleto, pero con la cutícula suave. Teniendo las branquias fuertemente colonizadas por epibiontes, las condiciones de oxígeno disuelto bajo durante las madrugadas, pueden potencializar el ambiente hipóxico del camarón que de por sí se está presentando por la enfermedad en las branquias.

Tanto los hallazgos mediante montajes en fresco como a través de análisis histológicos, deben ser registrados para establecer la prevalencia y severidad del problema.



6.2.6.2 DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Las lamelas de las branquias son el lugar más frecuente para la infestación en juveniles y camarones mayores. Por esta razón, el examen visual de camarones afectados mostrará cambio de coloración de las branquias, constituyéndose así en un examen valioso para la detección de enfermedad por epicomensales.

Las enfermedades por organismos epicomensales, son diagnosticadas mediante la observación de preparaciones en fresco de los microorganismos, tanto en larvas y post-larvas, como en secciones de branquias y apéndices orales de camarones juveniles o adultos afectados.

En sistemas intensivos y sobreintensivos, debe ser una práctica frecuente el monitoreo de camarones y su examen bajo un microscopio, para determinar la prevalencia y severidad de la enfermedad. De esta manera, se proporciona información significativa sobre las condiciones sanitarias de las branquias

con base en la adherencia de epibiontes en los camarones. Las decisiones para implementar sistemas de control en los casos de enfermedades por organismos epicomensales, están basadas en los datos obtenidos a partir de estos monitoreos.

Normalmente, de cinco a diez camarones de un tanque deben ser seleccionados y sometidos a un examen microscópico. Utilizando cortes histológicos en parafina teñidos con H&E, pueden detectarse y usualmente identificarse organismos epicomensales del cuerpo, branquias y apéndices. Además, el grado de severidad de la infestación por organismos epicomensales, es con frecuencia fácilmente determinado, especialmente por cortes que proporcionan un panorama de las branquias.



6.2.7 MICOSIS LARVARIA

6.2.7.1 SIGNOS CLÍNICOS DE IMPORTANCIA DIAGNÓSTICA

Mortalidades súbitas durante los estadíos larvarios o post-larvarios tempranos.

Infecciones generadas por *Lagenidium* sp. ocurren con mayor frecuencia en los estadíos de huevo, nauplio, protozoa y mysis.

Infecciones ocasionadas por *Sirolopidium* sp. más comúnmente en los estadíos de mysis y post-larvas tempranas.

Las infecciones generadas por estas dos especies de hongos en las larvas y post-larvas resultan en micosis progresivas. Pueden tener una respuesta inflamatoria o no inflamación del todo. Las infecciones son generalmente letales y pueden ir acompañadas de vibriosis durante los estadíos terminales.

Comúnmente el micelio infecta completamente el cuerpo del camarón, reemplazando todos los órganos y tejidos.

No hay lesiones distintivas, pero en los estadíos avanzados de la enfermedad, las larvas dejan de alimentarse, presentan letargia y adquieren una coloración opaca blanquecina (Arellano, 1993).

6.2.7.2 DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Las larvas infectadas muestran la presencia de un micelio extensivo, sin septas y altamente ramificado, invadiendo el cuerpo y los apéndices de la larva. Las hifas reemplazan prácticamente todos los tejidos y órganos de las larvas o post-larvas y son de una coloración pálida verdeamarillenta y contienen numerosas inclusiones pequeñas que refractan la luz. Un tipo de hifa especializada forma tubos de descarga, los cuales pueden o no presentar una vesícula terminal en su parte distal y se les puede observar empujando hacia afuera a través de la cutícula.

6.3 HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO PARA DETECCIÓN DE ENFERMEDADES

La detección de las enfermedades se realizará por medio de Reacción en Cadena de la Polimeraza (PCR) para afecciones virales, bacterianas. Determinación cuantitativa de bacterias por medio de siembra en agares como TCBS, Marino, TSA, GSP MRS.

Cabe concluir que Morales (2013) indicó que la producción camaronera mundial ha ido en aumento. La última década se ha caracterizado por diversas restricciones en la producción, siendo la ocurrencia de enfermedades de origen viral la más importante. Actualmente la Organización Mundial de Sanidad Animal, considera a la enfermedad Mancha Blanca (WSS), la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHN), ANHPD y la Hepatopancreatitis Necrotizante (NHP), como enfermedades de declaración obligatoria.

6.4 CALIDAD DEL AGUA

El agua para el laboratorio debe ser filtrada y tratada para prevenir la entrada de vectores y patógenos que puedan estar presentes

en la fuente de agua. Esto se puede conseguir mediante el filtrado inicial, a través de pozos excavados en arena, filtro de arena (de gravedad o de presión), o filtros de saco de malla dentro del reservorio o estanque de decantación. Seguidamente a la desinfección primaria por cloración, y tras la decantación, el agua debe ser filtrada otra vez con un filtro más fino y luego desinfectada mediante luz ultravioleta (UV) y ozono. El uso de filtros de carbón activado, la adición de EDTA y la regulación de temperatura/salinidad, deben ser también considerados dentro del sistema de abastecimiento de aguas (FAO, 2004).

USO DEL AGUA	TAMAÑO DE FILTRO (μM)	TEMPERATURA ($^{\circ}\text{C}$)
Cria larvaria	5	28 a 33
Cultivo de algas	0,5	18 a 24

(FAO, 2004).



6.4.1 TEMPERATURA DEL AGUA

Una instalación de larvicultura debe estar equipada con un equipo de regulación de temperatura para los tanques. Por lo general puede ser por sistema de calderos, quemadores de GLP, intercambiadores de calor y un sistema de tuberías que recorren internamente cada uno de los tanques de cultivo, el cual por medio de contacto va a transmitir energía calórica. La temperatura dentro de los cultivos oscila entre 28°C a 34°C, dependiendo del estado fisiológico de los organismos.

6.4.2 RECAMBIOS

Los recambios deberán realizarse cuando las condiciones del medio presenten condiciones desfavorables para el cultivo normal. Esta metodología es usada para sacar/diluir compuestos no deseados del sistema, ingresar compuestos deseados al sistema

y/o proveer flujo mecánico; no obstante, el/los factores que influirán en la realización de los recambios son:

- Elevada concentración de sólidos disueltos
- Presencia de elevada carga bacteriana >10⁶ UFC
- Concentraciones de Amonio >0,05 mg/lit
- pH >8,0
- Niveles de oxígeno <2,0 mg/lit
- Presencia de metales pesados o toxinas
- Para variaciones en la salinidad de los cultivos



6.4.3 TIPOS DE RECAMBIOS

6.4.3.1 DILUCIÓN

Entra agua al sistema, pero no sale. Se incrementa el nivel. Puede causar cambios no previstos, debido a que no se eliminan sustancias o factores no deseados. (Arellano, 1993)

6.4.3.2 RENOVACIÓN PARCIAL.

Sale agua del sistema, sacando parte de las sustancias no deseadas; creando un hacinamiento temporal, pero luego se recupera el nivel inicial o un nivel distinto. (Arellano, 1993)

6.4.3.3 TRANSFERENCIA

Se cambia el medio de cultivo cosechando los organismos en su totalidad. Es muy eficiente pero requiere más instalaciones y crea

un estrés por cambio de condiciones y manipulación. (Arellano, 1993)

6.4.3.4 RECAMBIO DIRIGIDO

Basado en la realización de sifón o recolección puntual, generalmente de fondo o de sitios puntuales se extrae parte del medio de cultivo y depende de los factores si se coloca el volumen inicial o no. (Arellano, 1993)

6.4.3.5 FLUJO CONTINUO

Entra agua al sistema de cultivo y sale lo necesario para mantener el mismo nivel, bajo este método es difícil cuantificar el recambio real. (Arellano, 1993)

6.4.4 FÓRMULAS A CONSIDERAR

6.4.4.1 FLUJO PARA REMPLAZAR FRACCIÓN DE AGUA (VAN WYK,1999):

$$Q = -\ln(1-F) \times V/T$$

% Recambio real

$$F = 1 - e^{-QT/V}$$

Donde:

Q= Flujo de agua fresca (l/h)

F= Fracción de agua remplazada (%)

V = Volumen de tanque / Piscina (l)

T= Periodo de tiempo (h)

6.4.4.1 FLUJO PARA REMPLAZAR FRACCIÓN DE AGUA (VAN WYK,1999):

Donde:

F= Fracción de agua remplazada (%).

S_{na}= Salinidad (ToC) agua entrante.

S_{fin} = Salinidad (ToC) agua deseada.

S_{ini} = Salinidad (ToC) agua inicial de tanque.

Adicional se puede realizar recambios en situaciones en las cuales se requiera bajar las salinidades para realizar despachos o bajar densidades para aumentar la tasa de velocidad de crecimiento. (Van Wyk,1999)

Velocidades de recambio en relación a los rangos de salinidad

RANGO SALINIDAD	TIEMPO PARA CAMBIO	Ppt / Hora
32-16 ppt.	8 horas	2 ppt.
16 - 8 ppt.	8 horas	1 ppt.
8 - 4 ppt.	8 horas	0.5 ppt.
4- 2 ppt.	8 horas	0.25 ppt.
2- 1 ppt.	8 horas	0.125 ppt.
1 - 0.5 ppt.	8 horas	0.063 ppt.

(Van Wyk,1999).

7. DESCAPSULACIÓN DE ARTEMIA



Mediante el proceso de descapsulación se eliminan muchos problemas de manejo de nauplios de Artemia. En este proceso el corión desaparece mediante el uso de una solución de Hipoclorito de Sodio y Soda líquida, quedando el embrión solamente protegido por una cutícula embrionaria y la membrana cuticular externa; facilitando así el proceso de eclosión (Arellano, 1993). La técnica consiste en forma básica en los siguientes pasos:

- Hidratar 1 kg de cystos por cada 12 litros de agua de mar, por una hora.
- Preparar una solución de 0.75 l de cloro líquido con 25-37.5 ml de soda líquida, por cada libra de Artemia a ser descapsulada.
- Colocar los cystos de Artemia hidratados en un bolso descapsulador y enjuagar con abundante agua
- Colocar en un recipiente adicionando 2-5 l de agua y aplicar la

solución previamente preparada.

- Agitar vigorosamente y de manera continua hasta observar un cambio de coloración de café a color anaranjado. Este proceso puede realizarse en dos partes y el tiempo estimado es de 3 a 5 minutos aproximadamente.
- Rápidamente colocar en la malla descapsuladora y lavar con abundante agua a presión. Esto para bajar rápidamente la temperatura que provocó la reacción de los químicos utilizados y eliminar todo el residual del químico presente.
- Una vez limpios los cystos se procede a sembrar a una densidad de 1-2 gr por litro, con una fuerte aireación.
- Esperar un tiempo de 24 horas previo a la siembra para proceder a la cosecha.

7.1 DESINFECCIÓN DE ARTEMIA

Una vez confirmado el porcentaje de eclosión presente en cada cono de Artemia, se procede a su cosecha y desinfección bajo el siguiente procedimiento: (Arellano, 1993)

- Retirar el sistema de aireación de los conos y esperar a que se precipiten los cistos no eclosionados y proceder a retirarlos.
- Una vez retirados los cistos no eclosionados, colocar el sistema de aireación y cosechar los nauplios de Artemia en bolsos cosechadores de 100 micras.
- Colocar los nauplios cosechados en un balde de 20 litros y adicionar 50 ml de Peróxido de Hidrógeno para proceder a la limpieza de los mismos, lo cual nos ayudará a eliminar la cutícula desprendida de los cistos eclosionados.
- Una vez realizada la limpieza de los nauplios lavar con abundante agua y volver a colocar en 20 litros de agua tratada.

- Adicionar 100 ml de formol para eliminar agentes contaminantes (hongos, bacterias, protozoarios) y dejar actuar durante 5 minutos, volver a enjuagar.

- Se dosificará a los tanques de cultivo dependiendo del requerimiento nutricional y el estadio de los organismos.

Ver referencia en protocolo de la pagina 19.



7.2 CONGELACIÓN DE ARTEMIA

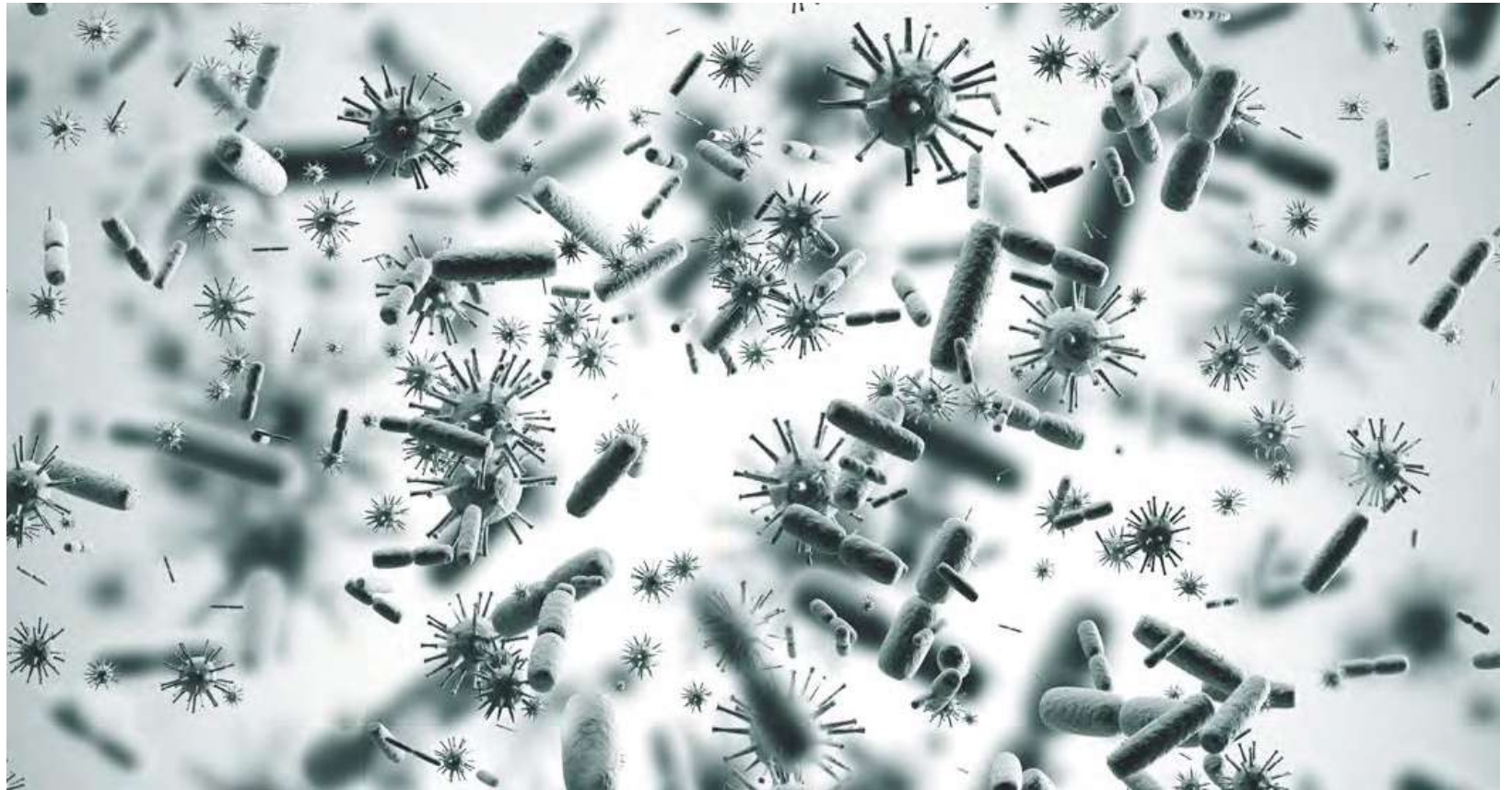
El proceso de congelamiento de biomasa de Artemia debe ser realizado posterior a su cosecha, colocando una cantidad de 1l aproximadamente en una funda de plástico inocua; tratando de que el contenido sea distribuido de manera horizontal para que quede lo más fino posible y que el proceso de congelación sea rápido. De esa manera se ayuda a la eficiencia del uso de espacio del congelador. Este proceso debe ser inferior a 2 horas con una temperatura bajo el punto de congelación para evitar el aumento de la carga bacteriana.

7.3 TRATAMIENTOS PROFILÁCTICOS Y CORRECTIVOS

Como cualquier enfermedad, las medidas preventivas son las más económicas y eficaces. Un buen manejo de los cultivos debe incluir la adopción de normas de bioseguridad para evitar la entrada de patógenos y permitir una mejor supervivencia (Cuellar et al., 2014).

7.3.1 MICOSIS LARVARIA

Debido a la implementación de medidas profilácticas aplicadas, tanto a los huevos como a los nauplios, la presencia de micosis larvaria ha presentado una tendencia a disminuir en la larvicultura moderna. La cosecha de nauplios basado en la respuesta fototáctica positiva y el uso de aditivos comerciales durante las primeras fases del cultivo larvario, probablemente han ayudado a reducir la prevalencia de la enfermedad (Cuellar et al., 2014).



7.3.2 ENFERMEDADES DE CARÁCTER BACTERIANO Y VIRAL

Considerando las características del sistema inmune de los camarones, no existe un tratamiento específico para las infecciones de carácter viral o bacteriano. En algunos casos es necesario el empleo de ácidos orgánicos (Cuellar et al., 2014).

8. TABLA DE TRATAMIENTOS GENERALES EN LARVICULTURA

USO EN LABORATORIOS	PRODUCTOS QUÍMICOS	PRODUCTOS QUÍMICOS
Desinfección del flujo entrante de agua de mar	Hipoclorito de Sodio	20 a 50 ppm durante mínimo 30 minutos
Quelación de metales pesados en el flujo entrante de agua de mar	EDTA	Depende de las concentraciones de metales pesados en el agua
Alcalinidad inferior a 100 ppt	Carbonato de Calcio o P-24	Dependiente de la alcalinidad
Desinfección del agua residual	Hipoclorito de Sodio	>20 ppm durante mínimo 60 minutos
Determinación de la presencia de cloro en el agua	Orto-tolodina	3 gotas en 5 ml de muestra de agua
Neutralización del cloro en el agua residual	Tiosulfato de sodio	1 ppm por cada 1 ppm de cloro residual
Eliminación de larvas desechadas	Hipoclorito de Sodio	20 ppm
Retirada del fouling epibionte de las postlarvas	Formalina	Hasta 20-30 ppm por 1 hora con fuerte aireación
Test de estrés de las postlarvas	Formalina	30 minutos
Descapsulación de los cistos de Artemia	Soda cáustica (NaOH) y cloro líquido	40 g en 4 ml (8-10% de ingrediente activo)
Desinfección de nauplios de Artemia	Solución de Hipoclorito de Sodio y/o Cloramina-T	20 ppm, 60 ppm durante 3 minutos
Lavapies	Solución de Hipoclorito de Sodio (Calcio)	>50 ppm (o >100ppm)
Desinfección del equipo (contenedores, mangueras, etc.)	Hipoclorito de Sodio o Ácido muriático	>20 ppm, 10% solución
Desinfección de las manos	Yodo-PVP o Alcohol	20 ppm, 70%
Limpieza y desinfección de los tanques de nauplios, postlarvas o eclosión de Artemia	Hipoclorito de Sodio o Ácido muriático	>20 ppm, 10% de solución (pH 2-3)
Desinfección de los tanques previamente limpiados y desinfectados antes de empezar un nuevo ciclo	Ácido muriático	10% solución
Desinfección de los tanques de cultivo de algas	Hipoclorito de Sodio seguido de Ácido muriático	10 ppm, 10% solución
Desinfección de los filtros de arena	Hipoclorito de Sodio o Ácido muriático	20 ppm, 10% de solución (pH 2-3)
Lavado del equipo de preparación de dietas	Yodo-PVP	20 ppm

(Modificado de Arthur et al. 2000).

9. TABLA DE PROBLEMAS QUE SE PUEDAN PRESENTAR Y POSIBLES SOLUCIONES:

ENFERMEDAD	ESTADIO	TRATAMIENTO	DOSIS (mg/l)
Necrosis bacterial	Protozoa, Mysis, Post-larva	EDTA	1-50
Bacteria Filamentosa	Post-larva	Ácidos orgánicos	3 a 10 mg/l
Hongos	Protozoa, Mysis, Post-larva	Formol	0.01-0.1
Protozoarios Ciliados	Mysis, Post-larva	EDTA	10-50, 1 hora de tratamiento
Vibriosis	Mysis, Post-larva	Formol	10-50 ppm
			10-50 ppm

(A guide to common problems and Disease Cultured *Penaeus vannamei* James A. Brock)

10. FORMATOS GENERALES

TABLA DE TEMPERATURA

TANQUES DE CULTIVO	DÍA 1								
	🕒 00:00	🕒 03:00	🕒 06:00	🕒 09:00	🕒 12:00	🕒 15:00	🕒 18:00	🕒 21:00	🕒 00:00
TQ#1									
TQ#2									
TQ#3									
TQ#4									
TQ#5									
TQ#6									
TQ#7									
TQ#8									
TQ#9									
TQ#10									
TQ#11									
TQ#12									
TQ#13									
TQ#14									
TQ#15									
TQ#16									
TQ#17									
TQ#18									
TQ#19									
TQ#20									
Observaciones									
Operario Día 1									
Operario Día 2									
Operario Noche 1									
Operario Noche 2									

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, G., López, E. y Vázquez, M. 2013. Efecto de *Vibrio harveyi* en la sobrevivencia de las larvas de *Litopenaeus vannamei*. *Scientia Agropecuaria*, 4:121-127.
- Arellano, E. 1993. Guías Técnicas en el cultivo de larvas de camarón. *Boletín de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. CENAIM 1*: 35-86.
- Arthur J., Lavilla-Pitago C. y Subasinghe, P. 2000. Use of Chemicals in Aquaculture in Asia. *Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia*, 20–22, 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines, SEAFDEC-AQD, Tigbauan, Iloilo, Philippines, 235 pp.
- Cuellar, J., Pantoja, C., Lightner, D., Lemos, A., Shinozaki, E., Vasconcelos, T., & García, O. (2014). Guía técnica de Patología e inmunología de camarones penidos. Panamá: Vielka Morales Q. Jorge Cuéllar-Anjel. 1-274 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004. Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina. *FAO Documento Técnico de Pesca*. No. 450. Roma, FAO. 2004. 66p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016*. Roma: FAO. 1-200 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016, Agosto 12). *GLOBEFISH - Analysis and information on world fish trade*. Retrieved from FAO: <http://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/383163/>.
- Hlady, W., & Klontz, K. (1996). The Epidemiology of *Vibrio* Infections in Florida, 1981–1993. *The Journal Of Infectious Diseases*. (1996) , 173(5): 1176-1183 pp.
- Instituto de promoción de exportaciones e inversiones. (2016). *Perfil sectorial de Acuicultura*. Guayaquil: PRO ECUADOR. 1-19 pp.
- James A. Brock and Kevin L. Main, *A guide to the Common Problems and Diseases of Cultured Penaeus vannamei*.
- Molina, C. 2003. Alimentación en base al ciclo lunar. *Boletín de la Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. CENAIM 89*.
- Pantoja, C. y Lightner, D., 2008. *Enfermedades virales* pp. 55-114. En: Morales, V. & Cuéllar-Anjel J. 2008. *Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos*. Programa CYTED Red II-D *Vannamei*, Panamá, Rep. de Panamá. 270 pp.
- Subasinghe, R. (1997). *Fish health and quarantine. Review of the State of World Aquaculture*. Roma, Italia: FAO, Inland Water Resources and Aquaculture Service - Fishery Resources Division. 1-166 pp.
- Van Wyk, P., & Scarpa, J. (1999). *Water quality requirements and management. Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*, 128-138.

Skretting es líder mundial en el suministro de soluciones nutricionales innovadoras y sustentables para la industria de la acuicultura. Proporcionamos alimentos y servicios excepcionales en todo el mundo para la producción sustentable de pescados y camarones sanos y deliciosos.

Nuestra misión:

feeding the future



Para mayor información contactar a:

Ventas: victor.moreno@skretting.com / 098 656 1806

Servicio Técnico: kevin.nieto@skretting.com / 0969448120

www.skretting.ec

 @skrettingec