



**Pontificia Universidad
Católica del Ecuador**
Seréis mis testigos

MANABÍ

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE MANABÍ**

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

TÍTULO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUA RESIDUAL DEL CULTIVO
DE CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* EN EL ORO, GUAYAS Y MANABÍ**

**PREVIO AL TÍTULO DE:
BIÓLOGO MARINO**

**AUTOR DE LA INVESTIGACIÓN:
JONATHAN ANDRÉS MARTÍNEZ FARIAS**

**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACION:
FRANCISCO HERNÁN POZO MIRANDA, M.Sc.**

**JUNIO, 2022
BAHÍA DE CARÁQUEZ - MANABÍ – ECUADOR**

CERTIFICACIÓN

En mi calidad de tutor del trabajo de integración curricular, certifico haber revisado el presente manuscrito de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, cumpliendo la Normativa del Trabajo de Integración Curricular; en consecuencia, es apto para su presentación y sustentación.

Francisco Pozo Miranda. M.Sc.

Tutor del trabajo de integración curricular

C.I.: 0918330952

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador aprueba el presente trabajo de integración curricular en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí.

Evelyn Arias Cedeño M.Sc.

Primer lector

Gabriel Durán Cobo M.Sc.

Segundo lector

Francisco Pozo Miranda Mg.

Tercer lector

Bahía de Caráquez, junio de 2022

DERECHOS DE ORIGINALIDAD

Éste manuscrito no contiene ningún tipo de material que ha sido aceptado para la obtención de un título universitario en otra institución, excepto en forma de información de sustento que ha sido debidamente citada en mi trabajo. Este trabajo es de total responsabilidad del autor, quien declara bajo juramento que ninguna sección de esta tesis infringe los derechos de autor de nadie.

CI: 1314081108

Teléfono: 0981373140

Email: jonathaneljam@hotmail.com

Bahía de Caráquez, junio de 2022

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a distribuir este manuscrito de investigación en medios físicos y electrónicos con el fin de promover la divulgación de mis resultados a la comunidad científica y a la sociedad en general. Adicionalmente autorizo el uso de los contenidos de esta investigación como bibliografía para fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, citando como fuente de información al autor de este trabajo.

CI: 1314081108

Teléfono: 0981373140

Email: jonathaneljam@hotmail.com

Bahía de Caráquez, junio de 2022

DEDICATORIA

Dedico este documento a mis Padres Tania Elizabeth Martínez y Gustavo Mendoza quienes con mucho esfuerzo y sacrificio del día a día supieron ofrecerme todo su apoyo incondicional en el transcurso de mi formación académica, moral y construir de mí una persona responsable.

A mis tíos Ing. Patricio Martínez, Ing. Andrés Martínez, Ing. Kelvin Martínez, Jordán Martínez y tías Tatiana Martínez, Ana Josselin y Ana Liseth que han sido un pilar fundamental en todo el proceso de mi formación, que me han aconsejado y han estado en todo momento y han confiado en mí.

A mis abuelos Wilson Martínez y Ana Farías que con mucho sacrificio supieron brindarme todo su apoyo incondicional y enseñarme el camino del bien en todo momento. Gracias Dios por tenerlos con vida.

A mi querida Antonella Gudiño Mosquera por apoyarme cada día de su vida. Finalmente, dedico este trabajo a todas y cada una de las personas que me supieron ayudar durante mi proceso formativo y también para aquellas personas que no creyeron en mí, pues con este documento demuestro el fruto de mi esfuerzo.

Los sueños se hicieron para cumplir.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme la oportunidad de vivir y lograr cada uno de mis sueños, a mis padres por su apoyo constante. A todos los profesores que me vieron llegar desde el primer día de clases y que me han acompañado desde el inicio de mi carrera universitaria hasta el final gracias por transmitirme sus experiencias y brindarme sus conocimientos y por dedicar confianza en este humilde servidor.

De manera muy especial quiero agradecer a mi colega Antonella Gudiño Mosquera por brindarme todo su apoyo en todo mi proceso formativo, agradezco encarecidamente todo el arduo esfuerzo que me brindo en cada etapa de este proceso y lograr el objetivo. Con este logro también quiero agradecer a la empresa camaronera CAMARONES MURGUAN S.A., por abrirme las puertas de su empresa, la misma que me ha visto crecer profesionalmente día a día en mi desempeño laboral y formarme como todo un profesional lleno de experiencias, las experiencias no se cuentan, se viven a diario en el mundo de la acuicultura.

A mis compañeros de curso Jhon Rivera, Emilio Ayala, Walter Buenaventura, Miguel Barrera, Israel Vera quienes me brindaban su apoyo y con quienes compartimos momentos inolvidables y llenos de experiencia dentro y fuera de la universidad. Extiendo un cordial agradecimiento a mi tutor Francisco Pozo Miranda. M.Sc., quien ha sido mi guía durante todo este proceso para poder realizar mi trabajo de investigación. A toda mi familia y amigos que de una u otra manera creyeron en este humilde servidor y supieron brindarme todo su apoyo incondicional cuando realmente lo necesite. Finalmente, a todos los trabajadores de la empresa CAMARONES MURGUAN S.A., por su apoyo en la colecta de muestras para la parte experimental de la investigación.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	3
Área de estudio	3
Parámetros fisicoquímicos del agua	4
Salinidad	5
Oxígeno disuelto y temperatura	5
Turbidez	5
Suelo	5
Agua	5
Análisis químico	6
Análisis de Nitrato	6
Análisis de Fosfato	6
Análisis de Potasio	7
Análisis de Magnesio	7
Análisis de Alcalinidad	7
Materia orgánica MO	7
Composición microbiana (metagenómica).....	8
Extracción ADN	8
Amplificación del ADNr 16S mediante PCR	8
Visualización y purificación del ADN	8
Cuantificación y pureza del ADN	9
Secuenciación	9
Análisis de datos	9
RESULTADOS	9
Parámetros físico-químicos	9
Suelo	10
Nitrato y Fosfato - Compuerta	10

Nitrato y Fosfato – Préstamo	11
Potasio y Magnesio. - Compuerta	12
Potasio y Magnesio – Préstamo	12
MO- Compuerta	13
MO- Préstamo	13
Agua residual.....	14
Nitrato y Fosfato	14
Potasio y Magnesio	15
Alcalinidad	16
Composición microbiana – Manabí	17
Vibrio	18
Bacillos	19
Composición microbiana - Guayas	20
Vibrio	21
Bacillos	22
Composición microbiana – El Oro.....	23
Vibrio	24
Bacillos	25
Relación Ecología microbiana/Riqueza de especies	26
Índice de diversidad Margalef	27
Índice de dominancia de Simpson	28
Equitatividad de Pielou	29
Análisis de componentes principales	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIÓN.....	34
LITERATURA CITADA	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de las diferentes áreas de estudio, Manabí, Camaronera Ivanita S.A, Guayas, Camaronera Costa Azul S.A y El Oro, Camaronera Chalacal S.A (modificado mediante Argis™).....	4
Figura 2. Concentración de nutrientes presentes en las muestras de suelo de compuerta de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.....	11
Figura 3. Concentración de nutrientes presentes en las muestras de suelo del préstamo de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.	11
Figura 4. Análisis de Potasio (mg/L) y Magnesio (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.	12
Figura 5. Análisis de Potasio (mg/L) y Magnesio (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.	13
Figura 6. Concentración de materia orgánica presentes en las compuertas de pesca.....	13
Figura 7. Concentración de materia orgánica presentes en los préstamos de las piscinas.	14
Figura 8. Concentración de nutrientes presentes en el agua residual de las camaroneras de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.....	15
Figura 9. Análisis de potasio (mg/L) y magnesio(mg/L) tomados del agua residual de las piscinas camaroneras de Manabí, Guayas y El Oro.	16
Figura 10. Alcalinidad del agua residual.	16
Figura 11. Composición taxonómica microbiana presentes en Manabí.....	18
Figura 12. Composición taxonómica microbiana de Vibrio presentes en Manabí.....	19
Figura 13. Composición taxonómica microbiana de Bacillos presentes en Manabí.....	20
Figura 14. Composición taxonómica microbiana presentes en Guayas.	21
Figura 15. Composición taxonómica microbiana de Vibrio presentes en Guayas.....	22

Figura 16. Composición taxonómica microbiana de Bacilos presentes en Guayas.	23
Figura 17. Composición taxonómica microbiana presentes en El Oro.	24
Figura 18. Composición taxonómica microbiana de Vibrio presentes en El Oro.	25
Figura 19. Composición taxonómica microbiana de Bacilos presentes en El Oro.	26
Figura 20. Riqueza de especies Guayas, El Oro y Manabí.	26
Figura 21. Riqueza de especies Guayas (Sample 2), El Oro (Sample 1) y Manabí (Sample 3).	27
Figura 22. Índice de diversidad de especies Margalef.	27
Figura 23. Índice de diversidad de Shannon Wiener.	28
Figura 24. Índice de dominancia de Simpson.	29
Figura 25. Análisis de componentes principales para identificar la composición microbiana en Manabí, Guayas y El Oro.	29

RESUMEN

Esta investigación de tipo cuantitativa evaluó la calidad de agua residual en cultivo de *Litopenaeus vannamei* en piscinas camaroneras de granjas ubicadas en las provincias Manabí, Guayas y El Oro, dado que éste puede alterar la estructura de la comunidad microbiana, por lo que se hace necesario conocer el estado del agua para un nuevo cultivo. Debido a ello, este estudio de alcance descriptivo se desarrolló desde diciembre de 2021 a febrero de 2022. Se evaluaron los parámetros físico-químicos del agua residual de las camaroneras objeto de investigación, a fin de establecer la concentración de los nutrientes (nitrato, fosfato, potasio y magnesio), alcalinidad y materia orgánica; luego se realizó análisis de metagenómica para conocer la composición microbiana. Los resultados revelan que la concentración de nitrato es significativamente alta en la piscina de El Oro con 25,67 mg/L; la piscina con mayor concentración de fosfato es Guayas con 18,17 mg/L. La concentración de potasio en Guayas es extremadamente alta con 115, 0 mg/L, mientras que magnesio, en Manabí, registra la mayor concentración con 93,33 mg/L. La biodiversidad bacteriana respecto a vibrios corresponde a 47% en Manabí, 56% en Guayas y 44% en El Oro. Este estudio permite establecer que la calidad de agua residual posee bacterias Gram negativas y positivas, las cuales ayudan a la biorremediación del agua en las piscinas camaroneras.

Palabras clave: calidad de agua, agua residual, metagenómica, *Bacillus*, *Vibrio*

ABSTRACT

This quantitative research study evaluated the overall wastewater quality of white shrimp *Litopenaeus vannamei* farming in shrimp farm ponds in the Provinces of *Manabí*, *Guayas* and *El Oro*, regarding that this kind of aquacultural farming may alter microbial community structure, which is why it is necessary to determine the water quality conditions for new shrimp production. Hence, this descriptive research study was developed from December 2021 through February 2022. Some physical and chemical parameters of wastewater of the shrimp farms under study were evaluated in order to calculate the concentration of nutrients (nitrate, phosphorus, potassium, and magnesium), alkalinity, and organic matter; then a metagenomic analysis was conducted to determine microbial community composition. The findings show that the nitrate concentration level is significantly high in the *El Oro* shrimp pond with 25.67 mg/L; the shrimp pond with the highest-level concentration of phosphorus is *Guayas* with 18.17 mg/L. The concentration level of potassium in *Guayas* is extremely high with 115.0 mg/L, while magnesium, in *Manabí*, has the highest concentration level recorded with 93.33 mg/L. Bacterial biodiversity of vibrios corresponds to 47% in *Manabí*, 56% in *Guayas*, and 44% in *El Oro*. This research study makes it possible to establish that the overall wastewater quality has Gram-negative and Gram-positive bacteria, which help bioremediation of water in shrimp ponds.

Keywords: water quality, wastewater, metagenomics, *Bacillus*, *Vibrio*

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es la crianza de organismos en todo tipo de ambientes acuáticos que se puede dividir en tres tipos: cultivos de agua dulce, marina y salobre, aplicando técnicas de producción para manejar el cultivo en óptimas condiciones (Correa & Montero, 2013). La camaronicultura en Ecuador comenzó a desarrollarse de manera casual, principalmente en la zona Sur del país. Aunque su conocimiento era escaso, no fue un limitante para que los productores se convirtieran en uno de los principales proveedores a escala mundial de camarón en el país, cerrando en el año 2021 con 1,8 millones de libras exportadas según manifestó la Cámara Nacional de Acuicultura (CNA) mencionado en Gonzabay Crespin et al., (2021); Novillo Jiménez, (2019). Esto permitió a nuestro país a ocupar el primer puesto de exportador de camarón a nivel mundial, generando divisas de USD 5, 1 millones de dólares.

La alta producción y calidad del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en el Ecuador es favorecida por los factores climáticos que permiten realizar entre tres o cuatro ciclos anuales de cosecha, con sobrevivencia entre el 65 y 70 % por hectárea cultivada, logrando doblar sus lotes de producción frente a los países competidores. En este sentido, los sistemas de producción (dependientes de las densidades de siembra) aplicados en nuestro país son los sistemas extensivos, semi intensivos e intensivos (Castillo & Velásquez, 2021). En Ecuador actualmente existen alrededor de 210 000 hectáreas dedicadas a la producción del camarón blanco, el Guayas representa el 60%, El Oro 15%, Esmeraldas 9%, Manabí 9% y 7% en Santa Elena (Bernabé, 2016).

Cada ciclo de cultivo en la fase de cosecha da como resultado la liberación total de agua de cultivo, que permite la supervivencia y el crecimiento de los camarones, por ello el manejo adecuado del agua es de primordial consideración, especialmente en estanques

con densidades de población altas (Hernandez Gurrola, 2016), ya que el crecimiento y la capacidad de supervivencia de los camarones está directamente relacionado con los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos (Boyd, 2003). La degradación de esta calidad es perjudicial para el crecimiento y la supervivencia del camarón, por esto se busca reducir las cantidades de amoníaco y partículas orgánicas para disminuir los riesgos de enfermedades y contaminación ambiental de las aguas residuales de las granjas camaroneras (Summerfelt, 1998).

La gran atención sobre el agua pos-cultivo, se debe al re-uso para nuevos cultivos mediante captación del agua que permiten llenar piscinas ubicadas en la parte baja del sitio de la cosecha. Por lo tanto, la gestión del agua se ha convertido en el tema central para asegurar la producción de camarón, tomando en cuenta la descarga de aguas residuales de la acuicultura (Magnotti et al., 2016a, 2016b).

Dentro de las principales afectaciones de las aguas residuales se encuentra la alteración de la estructura de la comunidad microbiana en el ambiente de manera, que puede tener un impacto adverso o positivo en las funciones ecológicas mediadas por microorganismos (Yong et al., 2018). Además, los alimentos suministrados a los sistemas de acuicultura de camarones generan gran cantidad de materia orgánica y nutrientes (principalmente fósforo y nitrógeno) como desechos metabólicos. Estos compuestos compiten mediante procesos de oxi-reducción con los animales acuáticos por el oxígeno disuelto en el agua (C. E. Boyd, 2003), lo que conlleva a una posible tasa de mortalidad alta de los organismos, especialmente cuando se utiliza el método intensivo de cultivo de camarones (Xi et al., 2015).

La competencia por oxígeno también se da por la presencia de microorganismos en el agua residual. Las bacterias y los virus son abundantes en el agua y la aparición de grupos patógenos se ha convertido en una seria amenaza para la acuicultura en todo el mundo.

Sin embargo, nuestra respuesta a los patógenos ha sido en gran medida reactiva, en el sentido de que generalmente no se descubre un nuevo patógeno hasta que ya ha alcanzado proporciones epidémicas. Con los avances en la tecnología de secuenciación y el desarrollo de herramientas bioinformáticas para el ensamblaje y la anotación de secuencias de ácidos nucleicos, la información sobre la diversidad de patógenos en los ecosistemas marinos se ha expandido rápidamente a través de la metagenómica (Fang et al., 2019).

La determinación de la relación microbiana con el medio de cultivo en el que se desarrollan los camarones ayuda a la identificación de organismos con potencial perjudicial o beneficioso para el desarrollo de los mismos (Intriago et al., 2018). Por ello, la finalidad de este estudio comprende evaluar la calidad de agua residual en cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei* en las provincias El Oro, Guayas y Manabí, estableciendo la composición microbiana mediante el análisis de la carga de nutrientes presentes en el suelo y agua de las camaroneras definiendo la acumulación de materia orgánica (MO) y concentración de nutrientes mineralizados y análisis fotométricos para establecer su carga en el efluente al final del ciclo de cultivo.

METODOLOGÍA

Área de estudio

El estudio se desarrolló en el litoral ecuatoriano en tres provincias. Guayas quien limita con las provincias Manabí y Los Ríos al Norte y al Sur se encuentra limitando con la Provincia El Oro al igual que el Golfo de Guayaquil. Por otro lado, la provincia de Manabí quien se encuentra al Norte de Esmeraldas, Este de Santo Domingo y Los Ríos, Sureste de Guayas y Oste del Océano Pacífico. La provincia de El Oro está limitada al Norte de Guayas, occidente con Zarumilla, Perú, este con Loja y noroeste con Azuay.

El estudio se realizó en tres localidades pertenecientes al sector camaronero del Ecuador; Manabí, Camaronera Ivanita S.A ($0^{\circ}36'33''\text{S}$ $80^{\circ}23'40''\text{W}$); Guayas, Camaronera Costa Azul S.A ($2^{\circ}43'24''\text{S}$ $79^{\circ}43'44''\text{W}$) y El Oro, Camaronera Chalacal S.A ($3^{\circ}11'11''\text{S}$ $79^{\circ}53'39''\text{W}$). De cada sector se escogió la piscina más representativa en producción de libras/hectáreas por cada ciclo de producción, cuyas piscinas individualmente de cada sector producen entre 4,500 y 5,500 libras por hectárea con sistemas de producción bifásicos y aireación constante por la noche. Las descargas de los efluentes de las camaroneras evaluadas están dirigidas a zonas estuarinas (Figura 1).

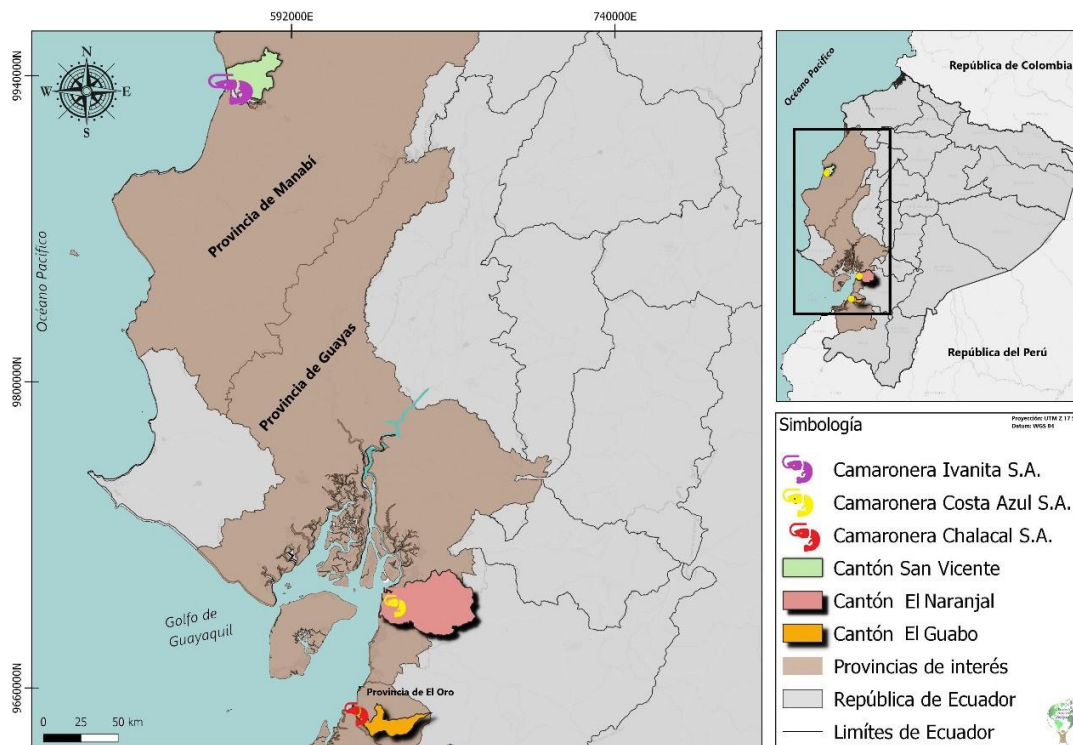


Figura 1. Ubicación geográfica de las diferentes áreas de estudio, Manabí, Camaronera Ivanita S.A, Guayas, Camaronera Costa Azul S.A y El Oro, Camaronera Chalacal S.A (modificado mediante *Argis*TM).

Parámetros fisicoquímicos del agua

Se realizó la medición de los parámetros del agua en las piscinas en el momento de la cosecha y evacuación de las aguas residuales.

Salinidad

Se calibró el refractómetro (VEE GEE STX-3) colocando 1 mL de agua destilada en la superficie de lectura del equipo, luego se procedió a secar con papel toalla y se colocó 1 mL de agua de la piscina. El resultado se registró como g/L.

Oxígeno disuelto y temperatura

Se usó un equipo multiparamétrico cuyo sensor fue colocado a 40 cm desde el fondo de la piscina, se esperó 1 minuto para asegurar la estabilización del sensor y se tomó la lectura de oxígeno disuelto en unidades de O/mg/L y la temperatura en °C.

Turbidez

Se utilizó un disco secchi para establecer la profundidad de visualización (turbidez) en la columna de agua, 30 minutos antes de la cosecha, desde el borde de la compuerta de salida de la piscina, se tomó el disco secchi y se introdujo en la columna de agua hasta perder la visibilidad de los colores presentes en el disco (blanco y negro). Una vez establecida la turbidez del agua, el dato se registró en unidades de centímetros.

Suelo

Con nucleadores plásticos se tomaron 500 gramos de suelo de la compuerta y el préstamo, y fueron depositados en fundas herméticas. En el laboratorio fueron secadas en una estufa a 95 °C durante 24 horas, a fin de eliminar el agua. A continuación, se re-suspendió el suelo en agua desionizada y se procedió a filtrar para eliminar sedimentos. El agua obtenida se congeló para su posterior análisis. En cada sitio de muestreo se realizaron seis réplicas.

Agua

Usando un frasco estéril, se tomó 200 mL de agua en la salida de la compuerta. Una vez colectada se procedió a filtrar para eliminar coloides y congelar hasta su uso. Se realizaron seis réplicas.

Análisis químico

La medición se realizó mediante análisis fotométrico según el método descrito por el fabricante para cada nutriente (Palintest™ Test Kit - Fisher Scientific). Consiste en la acidificación de la muestra para lograr ionización de los nutrientes en el agua y poder realizar reacción de color que se cuantificará mediante el uso de espectrofotómetro. Los nutrientes para cuantificar en muestras de agua y suelo fueron los siguientes: Nitrato, Fosfato, Potasio, Magnesio y Alcalinidad.

Análisis de Nitrato

Se utilizó Palintest™ Nitrate (Nitratest) Test Kit, se tomó 20 ml de agua filtrada a temperatura ambiente (25 °C), posteriormente se añadió 200 mg de polvo de zinc (*Nitrates Powder*) del Kits Nitrate-Nitatest. Una vez realizado aquello se colocó una tableta *Nitrates tablets* y se agito fuertemente hasta observar su disolución. Luego se dejó reposar por 15 min. Posteriormente, se tomó 10 mL de sobrenadante y se colocó en un tubo de ensayo, se añadió una tableta Nitricol y se dejó incubar por 10 min. Finalmente, se transfirió la muestra a una cubeta de lectura y se colocó en el equipo YSI 9300 para realizar la lectura en NO₃ mg/L.

Análisis de Fosfato

Para el análisis de fosfato kits Phosphate Reagent, se tomó agua de la piscina previamente filtrada. La metodología fue acorde al fabricante, se tomó 10 mL de agua, se añadió un comprimido *-N° 1 Tablet-*, y se trituró con un pistilo estéril hasta su disolución homogénea, a continuación, se colocó el comprimido *-phosphate N° 2 Tablet-*. Se espero su dilución y se incubo por 10 min. Finalmente, se tomó una cubeta de lectura para colocarlo en el equipo YSI 9300 para realizar la lectura como PO₄ mg/L.

Análisis de Potasio

En la evaluación de potasio se usó el kit Potassium Reagent, en la prueba se usó 10 mL de agua filtrada previamente para colocarla en un tubo de vidrio y se agregó una pastilla -Potassium K- la cual fue triturada en el tubo con un pistilo plástico. Se espero 2 min de reacción y se realizó la lectura en el equipo YSI 9300.

Análisis de Magnesio

Se realizó con la ayuda de una jeringa dosificadora para tomar una muestra de 1 ml del agua bajo prueba. Luego se llevó el tubo de ensayo un volumen de 10 ml de agua desionizada. Se agregó una tableta de *Magnecol* la misma que fue triturada y mezclada de forma homogénea en el recipiente. La muestra se dejó reposar por un tiempo de 5 minutos para que se desarrolle el color de forma completa y aclare la ligera turbidez. Para concluir, la muestra se llevó al equipo YSI 9300 para que realice la lectura de los niveles de magnesio en el rango de 0 - 100 mg/L Mg.

Análisis de Alcalinidad

Se utilizó kits de *Alkalinity reagent*, se llenó el recipiente con 10 mL de muestra, seguido a esto, se añadió una tableta *Alkaphot*TM. Luego, se trituró y se mezcló la muestra de forma homogénea. Por último, se cerró la cubierta del tubo y se esperó 1 minuto (si el color no es totalmente uniforme se volverá a mezclar) se lo llevó al equipo YSI 9300 para que realice la lectura como CaCO₃ mg/L.

Materia orgánica MO

Se secó el suelo a 95 °C. Luego con la ayuda de una balanza analítica se pesó 1.00 gr de suelo seco (peso inicial) y se colocó sobre una llama para su incineración. Finalmente, se pesó por segunda vez la muestra (peso final) y se obtuvo la diferencia entre ambos pesos. Esto se realizó con el fin de calcular el porcentaje de materia orgánica pérdida durante el proceso de incineración.

Composición microbiana (metagenómica)

Extracción ADN

La extracción de ácidos nucleicos se realizó acorde a las instrucciones del Kit Mag-Bind Environmental DNA 96, se tomó 10-250 mg de muestra de suelo, se agregó tampón para la lisis y degradación de ARN (SLX-Mlus-RNasa), se realizaron lavados consecutivos con DS Buffer y se procedió a separar con de partículas Mag-Bind® RQ. Finalmente, se transfirió el sobrenadante que contiene ADN purificado a una microplaca limpia, para luego almacenar el ADN a -20 ° C.

Amplificación del ADNr 16S mediante PCR

La amplificación del ADN bacteriano se realizó mediante PCR, usando oligonucleótidos universales 27F 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3' y 1492R5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3'. El PCR fue acorde a las siguientes condiciones: 45s para la desnaturalización del ADN a 94°C, 30s de acoplamiento entre los cebadores y el ADN diana a 54°C, y 90s de extensión a 72°C. Se realizó 30 ciclos con una extensión final de 10 min a 72°C. El resultado de la PCR se visualizó mediante electroforesis.

Visualización y purificación del ADN

Se elaboró un gel de agarosa (1 %) en TAE 1X (Buffer Tris Acetate-EDTA) con Green DNA (0,5 µg/mL). Se mezcló 5 µL del producto del PCR la muestra de ADN con el frente de carga (2 µL), y se depositó 5 µL de esta mezcla. Se utilizó un marcador de peso molecular de un tamaño de 300 – 1000 bp (AXIGEN). La electroforesis se realizó a 100 V durante 45 min y su visualización se realizó mediante un transluminador UV (WiseUv® - WUV-L10).

Una vez visualizadas la amplificación de las bandas se procedió a extraerlas y purificarlas, mediante el uso Spin Columns PureLink™ (INVITROGEN).

Cuantificación y pureza del ADN

La cuantificación del DNA se determinó por espectrofotometría (NanoDrop 100) calculada a través de la absorbancia a 260 nm (A260) y la pureza se obtuvo mediante la relación A260/A280 y A260/A230.

Secuenciación

La secuenciación se realizó mediante la construcción de librerías de secuenciación, los amplicones del gen ADNr16S se secuenciaron en la plataforma Illumina MiSeq (Macrogen©).

Análisis de datos

Usando el programa estadísticos SPSS, se evaluaron los datos de nutrientes de agua y suelo, se usó ANOVA y test de Tukey para establecer diferencias entre cada área muestreada. En la metagenómica se realizó la construcción de secuencias consensus de cada una de las unidades taxonómica operacional (OTU de sus siglas en inglés), para la identificación de especies bacterianas mediante comparación entre alineaciones de secuencias usando BLASTn en la base de datos GenBank.

Para evaluar los índices de Riqueza de especies, Chao 1, Índice de Margalef, Shannon Wiener, Índice de dominancia de Simpson y Equitatividad de Pielou se tomó la descripción del número de OTU observado en la metagenómica para evaluar en el paquete informativo Diversity 4.0 y para el análisis de componentes principales, se procedió a generar grupos bacterianos que fueron evaluados por Sitio (Guayas-Manabí-El Oro), nutrientes e iones presentes en el agua residual de los cultivos de camarones.

RESULTADOS

Parámetros físico-químicos

Se evaluaron los parámetros físico-químicos de tres camaroneras pertenecientes a las provincias de Manabí, Guayas y El Oro. Los valores de salinidad se presentaron de la

siguiente manera: 34 ppm para Manabí, 23 ppm Guayas y 15 ppm para El Oro; la temperatura mantuvo valores de 26,3 °C para Manabí, Guayas con temperatura de 25,01°C y El Oro 23,85°C. Tanto en Manabí como para Guayas el Oxígeno disuelto se mantuvo entre 5,0 - 4,04 mg/L mientras para El Oro 0,74 mg/L; la turbidez se mantuvo entre 35,0 – 30,0 cm en los sitios de muestreo (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros físico-químicos en agua residual de las zonas muestreadas.

Parámetros/Sitios	Manabí	Guayas	El Oro
Salinidad (ppm)	34,0	23,00	15,00
Temperatura (°C)	26,3	25,01	23,85
Oxígeno (mg/L)	5,0	4,04	0,74
Turbidez (cm)	35,0	34,23	30,00

Suelo

Nitrato y Fosfato - Compuerta

Las muestras de suelo de la *compuerta* presentan los siguientes valores para los nutrientes analizados. El nitrato no presentó variaciones significativas ($p>0.05$) en las tres localidades de muestreo encontrando 5,70 mg/L para El Oro, 5,47 mg/L para Manabí y 5,33 mg/L para El Oro. Por el contrario, si existieron diferencias significativas ($p<0.05$) en las concentraciones del nutriente fosfato en las localidades muestreadas. El Oro mantuvo 0,91 mg/L siendo la concentración más baja en comparación con las otras dos localidades, en Guayas se registró la concentración más elevada con 3,87 mg/L y Manabí 3,37 mg/L (Figura 2).

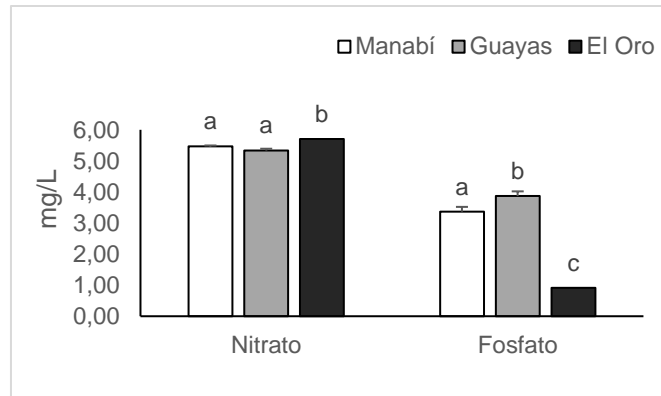


Figura 2. Concentración de nutrientes presentes en las muestras de suelo de compuerta de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.

Nitrato y Fosfato – Préstamo

Las muestras de suelo del préstamo de los sitios muestreados presentan los siguientes valores para los nutrientes Nitrato y Fosfato analizados. Nitrato presentó variaciones en las tres localidades ($p < 0.05$), Guayas mantuvo 5,98 mg/L siendo la concentración más alta, en Manabí se observó 3,47 mg/L y la concentración más baja la presentó El Oro con valores de 2,07 mg/L. Fosfato muestra que Guayas y El Oro las concentraciones no variaron significativamente ($p > 0.05$) de tal manera que Guayas presentó 9,0 mg/L y El Oro 8,47 mg/L (Figura 3). Mientras que en Manabí se obtuvo niveles bajos con 2,93 mg/L ($p > 0.05$).

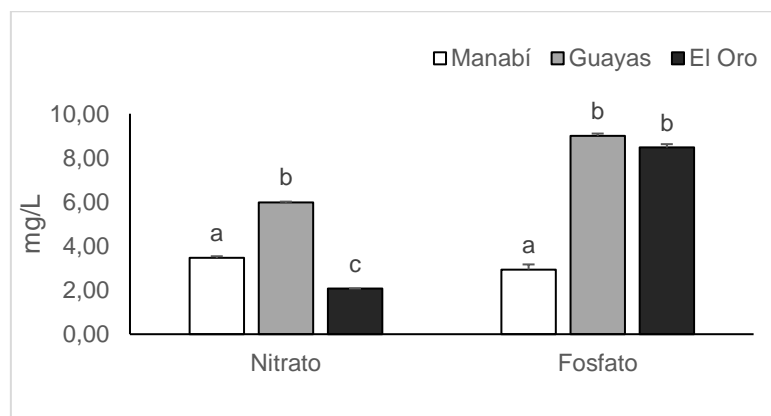


Figura 3. Concentración de nutrientes presentes en las muestras de suelo del préstamo de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.

Potasio y Magnesio - Compuerta

Las muestras de suelo de compuerta presentan los siguientes valores para el análisis de iones de los nutrientes potasio y magnesio. El Potasio refleja concentraciones similares ($p>0.05$) entre Manabí (73, 67 mg/L) y Guayas (74,0 mg/L), mientras que para la provincia de El Oro es ligeramente mayor ($p<0.05$) siendo 86, 67 mg/L. Las muestras de magnesio si presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre localidades siendo 46,67 mg/L para Guayas la concentración más baja, 66,67 mg/L para Manabí y 160 mg/L la concentración más elevada, presente en El Oro (Figura 4).

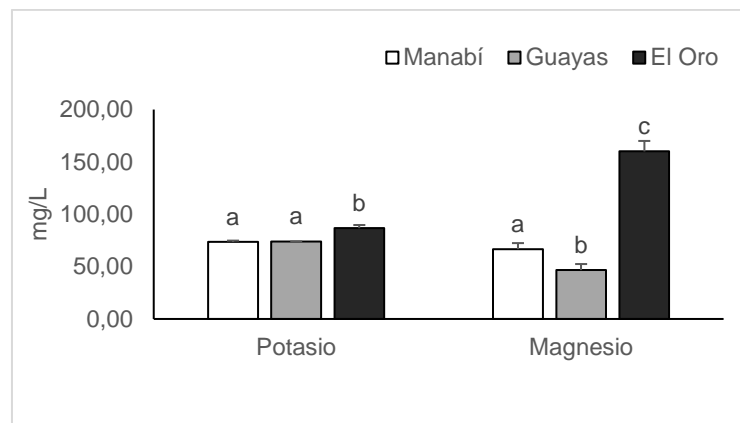


Figura 4. Análisis de Potasio (mg/L) y Magnesio (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.

Potasio y Magnesio – Préstamo

Las muestras del *préstamo*, el potasio presentó leves diferencias ($p<0.05$) entre las localidades muestreadas. El Oro (118,33 mg/L) y Manabí (116,67 mg/L) fueron similares, mientras que Guayas fue ligeramente menor (111, 67 mg/L) ($p<0.05$). Las muestras de magnesio presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre localidades analizadas siendo 13,33 mg/L para Manabí, 106,67 mg/L para Guayas y 196,67 mg/L en El Oro, esta última represento la concentración más elevada (Figura 5).

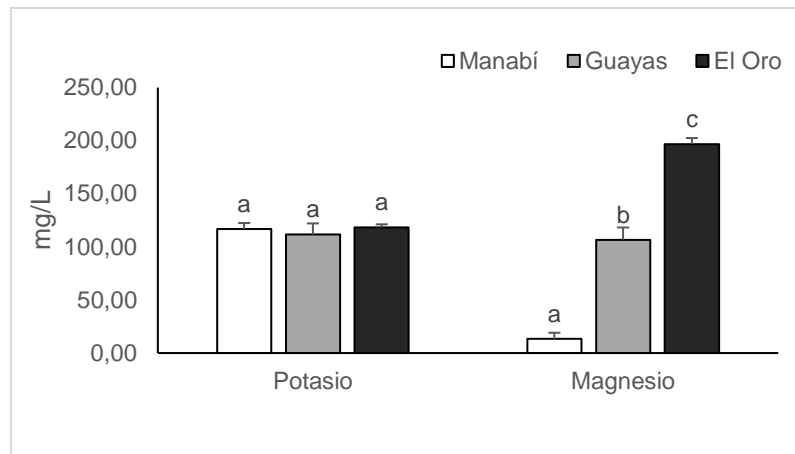


Figura 5. Análisis de Potasio (mg/L) y Magnesio (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.

MO- Compuerta

Las muestras de la *compuerta* de pesca en relación a la concentración de materia orgánica presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sitios analizados. En este sentido, la concentración más elevada estuvo reflejada con 13,66 % para Guayas, 10,38 % para El Oro y 4,56 % Manabí cuya concentración del sitio es la más baja en relación con las otras dos localidades (Figura 6).

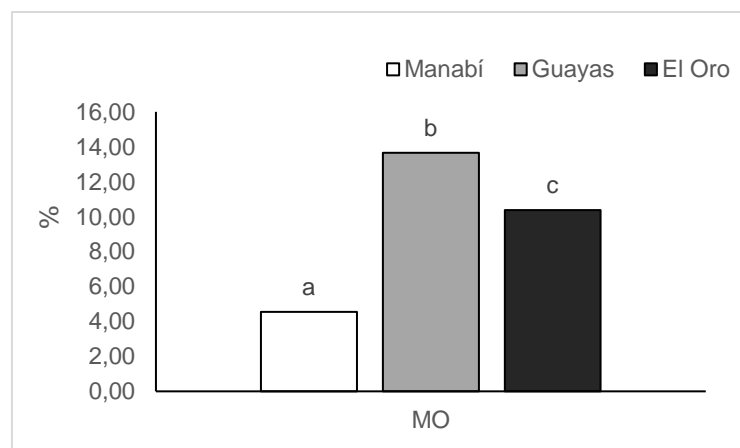


Figura 6. Concentración de materia orgánica presentes en las compuertas de pesca.

MO- Préstamo

Las muestras del préstamo mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0.05$) entre las localidades. La concentración más elevada estuvo reflejada con valores de 21,65 % para Guayas, 8,64 % para El Oro y 7,83 % Manabí, entre estas dos últimas (Guayas y

Manabí) la diferencia fue ligeramente baja en relación con la localidad de El Oro (Figura 7).

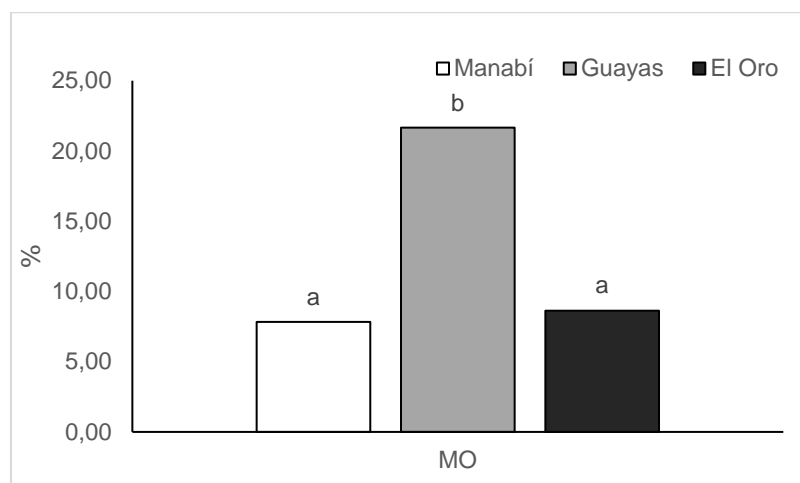


Figura 7. Concentración de materia orgánica presentes en los préstamos de las piscinas.

Agua residual

Nitrato y Fosfato

Las muestras de agua residual de las localidades muestreadas presentaron los siguientes valores para los nutrientes Nitrato y Fosfato. El Nitrato presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) en las tres localidades, 25,67 mg/L para El Oro siendo la concentración más elevada, 17,53 mg/L en Guayas y la concentración más baja la presentó Manabí con valores de 3,97 mg/L. El Fosfato también presentó variaciones entre Manabí respecto a las otras dos localidades. Manabí evidenció 2,73 mg/L siendo el lugar con la concentración más baja. Por el contrario, para Guayas y El Oro los valores tuvieron una ligera variación en el cual Guayas presentó 18,17 mg/L y El Oro 15,30 mg/L (Figura 8).

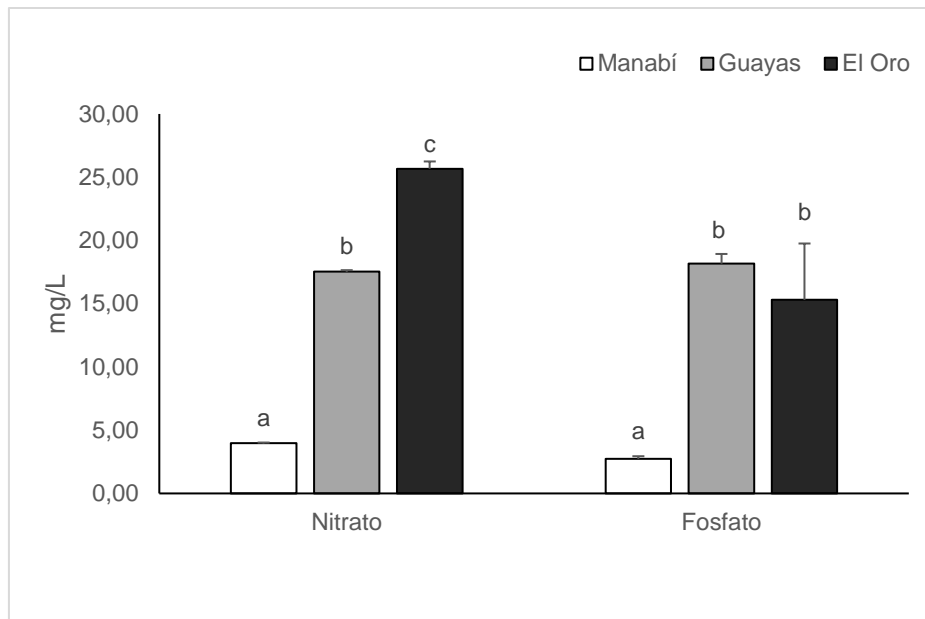


Figura 8. Concentración de nutrientes presentes en el agua residual de las camaroneras de Nitrato (mg/L) y Fosfato (mg/L) para Manabí, Guayas y El Oro.

Potasio y Magnesio

Las muestras de agua residual presentan los siguientes valores para el análisis del Potasio y Magnesio. Guayas presentó concentraciones de 115, 0 mg/L siendo la concentración más alta en comparación con El Oro y Manabí, aunque estas últimas no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellas, Manabí presentó 91,13 g/L mientras que El Oro 93,33 mg/L. El nutriente magnesio si presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) en las concentraciones presente en las tres localidades. Manabí mantuvo 93,33 mg/L siendo la concentración más elevada seguida de El Oro con 83,33mg/L y finalmente Guayas 45,33 mg/L siendo la concentración más baja (Figura 9).

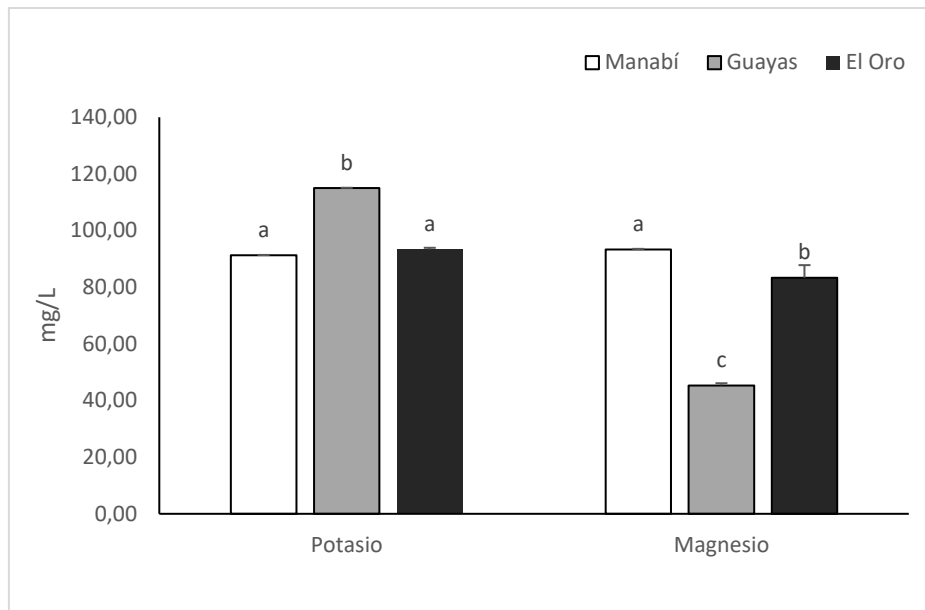


Figura 9. Análisis de potasio (mg/L) y magnesio(mg/L) tomados del agua residual de las piscinas camaroneras de Manabí, Guayas y El Oro.

Alcalinidad

Los valores en relación con el análisis de la alcalinidad de agua residual de los sitios muestreados mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$). La alcalinidad más elevada se reflejó en Manabí con 380 mg/L mientras El Oro tuvo 339 mg/L y Guayas presentó 190 mg/L siendo el lugar con concentraciones más bajas (Figura 10).

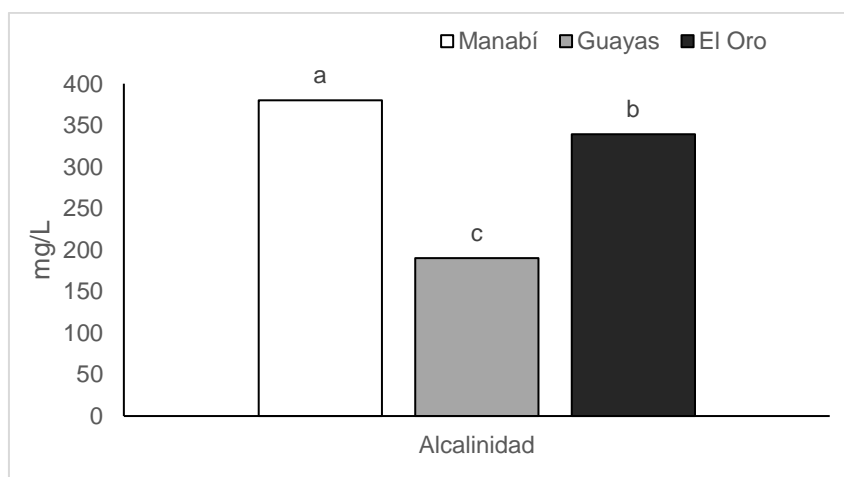


Figura 10. Alcalinidad del agua residual.

Composición microbiana – Manabí

La biodiversidad bacteriana en la zona de Manabí presentó una totalidad de 12192 especies de bacterias correspondiente el 72% a la especie *Pseudoalteromonas issachenkonii*. De la familia Rhodobacteraceae se encontró 2% de la especie *Ruegeria profunda*, 0,5% de la especie *A. porphyridii*, 0,1% de la especie *Boseongicola aestuarii*, 0,2% de la especie *Celeribacter neptunis*, 0,1% de la especie *Labrenzia marina*, 0,1% de la especie *Limibaculum halophilum*, 0,2% de la especie *Limimaricola hongkongensis*, 0,1% de la especie *Litorisediminivivens gilvus*, 0,1% de la especie *Mameliella alva*, 0,1% de la especie *Maritimibacter lacisalsi*, 0,1% de la especie *Roseibium hamelinense*, 0,5% de la especie *Roseivivax halodurans*, 0,1% de la especie *Roseobacter sp. MED 193*, 0,2% de la especie *Sagittula stellata*, 0,6% de la especie *Sulfitobacter faviae* y 0,1% de la especie *Thalassobius mediterraneus* (Figura 11).

La familia Synechococcaceae estuvo representada por el 2% de la especie *Cyanobium sp.*, y el 1% de la especie *Synechococcus sp.* La familia Flavobacteriaceae estuvo representada por el 3% de la especie *Actibacter sediminis*, 2% de la especie *Winogradskyella aquimaris*, 1% de la especie *Robiginitalea sediminis*, 0,4% de la especie *Tenacibaculum*, 0,1% de la bacteria *Maribacter*, 0,7% de la especie *Muricauda*, 0,2% de la especie *Croceivirga lutea*, 0,5% de la especie *Gilvibacter sediminis*, 0,1% de la especie *Mesoflavibacter* y 1% de la especie *Zhouia amylolytica*. La familia Alteromonadaceae representó el 1%. Finalmente, la familia Vibrionaceae estuvo representada por el 3% del grupo *V. harveyi* (Figura 11).

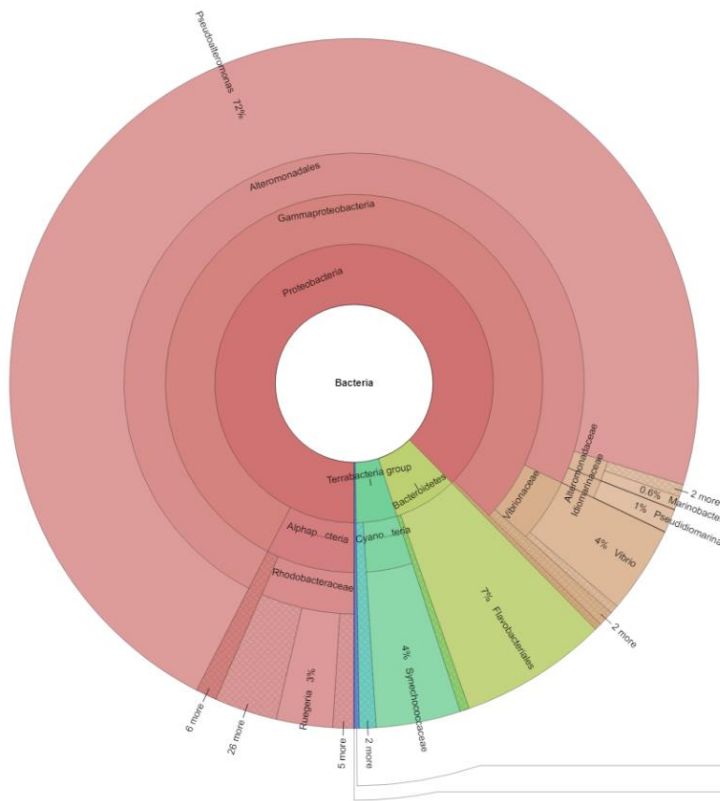


Figura 11. Composición taxonómica microbiana presentes en Manabí.

Vibrio

En la familia Vibrionaceae las especies correspondientes al grupo *Vibrio herveyi* refieren el 42% de la especie *V. parahaemolyticus*, 24% de *V. alginolyticus*, 17% de *V. mytili* y 2% de *V. diabolicus*. El restante de las especies del género *Vibrio* corresponden al 3% de *V. neresis*, 2% de *V. xuii*, 0,6% de *V. proteolyticus*, 0,2% de *V. neptunis*, 0,2% de *V. tubiashii*, 0,4% de *V. atypicus* y 0,2% de *V. panuliri* (Figura 12).

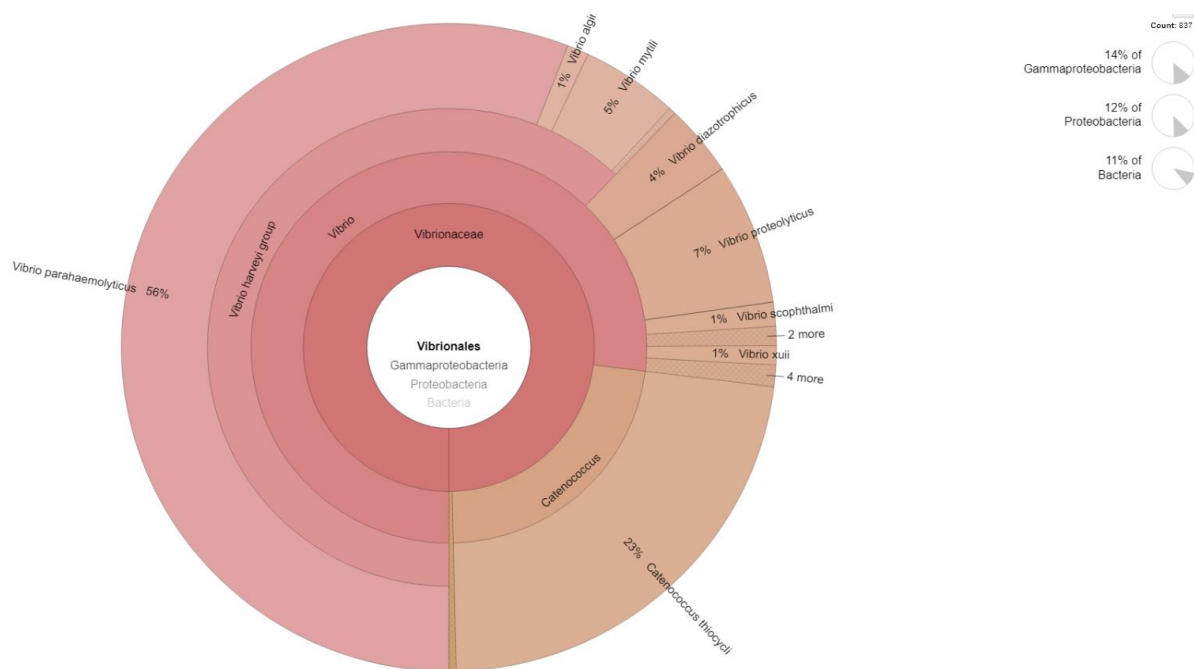


Figura 15. Composición taxonómica microbiana de *Vibrio* presentes en Guayas.

Bacillos

Los Bacillus al contrario que los Vibrios favorecen al desarrollo y la producción de los camarones, son organismos biorremediadores tanto del agua como del suelo de las piscinas. Las especies de la clase Bacilli perteneciente al orden Bacillales que engloba la familia Bacillaceae del género Halobacillus reporta el 21% a la especie *H. mangrovi* y 5% a la especie *H. alcaliphilus*, 11% para la especie *H. hwajinpoensis*. El orden Lactobacilales reporta 5% para la especie *Lactobacillus rogosae* y 5% para la especie *Weissella paramesenteroides*. En la familia Planococcaceae se encontró 5% de la especie *Exiguobacterium sp.*, y 5% de la especie *Planococcus rifietoensis* y finalmente el 42% de la especie *Halolactibacillus halophilus* (Figura 16).



Figura 16. Composición taxonómica microbiana de Bacilos presentes en Guayas.

Composición microbiana – El Oro

La biodiversidad bacteriana en El Oro mostró una totalidad de 4259 especies de bacterias pertenecientes a las familias Rhodobacteraceae, la especie *Aquicoccus porphyridii* presentó el 5%, 4% la especie *Candidatus pelagibacter*, las demás especies correspondientes a esta familia dentro del género *Marivita* con el 13% *M. hallyeonensis* y 26% *M. litorea*. La familia Fusobacteriaceae presentó el 0,05%. La familia Microbacteriaceae representada con el 1% de la especie *Chryseoglobus frigidaquae*. La familia Synechococcaceae presentó de la especie *Synechococcus sp.*, el 8% y de la especie *Cyanobium sp.*, el 3%. La familia Flabobacteriaceae estuvo representada por el 10% de la especie *Flabobacterium luticocti* y el 1% de la especie *Aurantibacter aestuarii*. Finalmente, la familia Vibrionaceae estuvo representada por el 7% de la especie *Pseudoalteromonas issachenkonii*, 4% de la especie *V. parahaemolyticus* y 3% de la especie *V. diazotrophicus* (Figura 17).

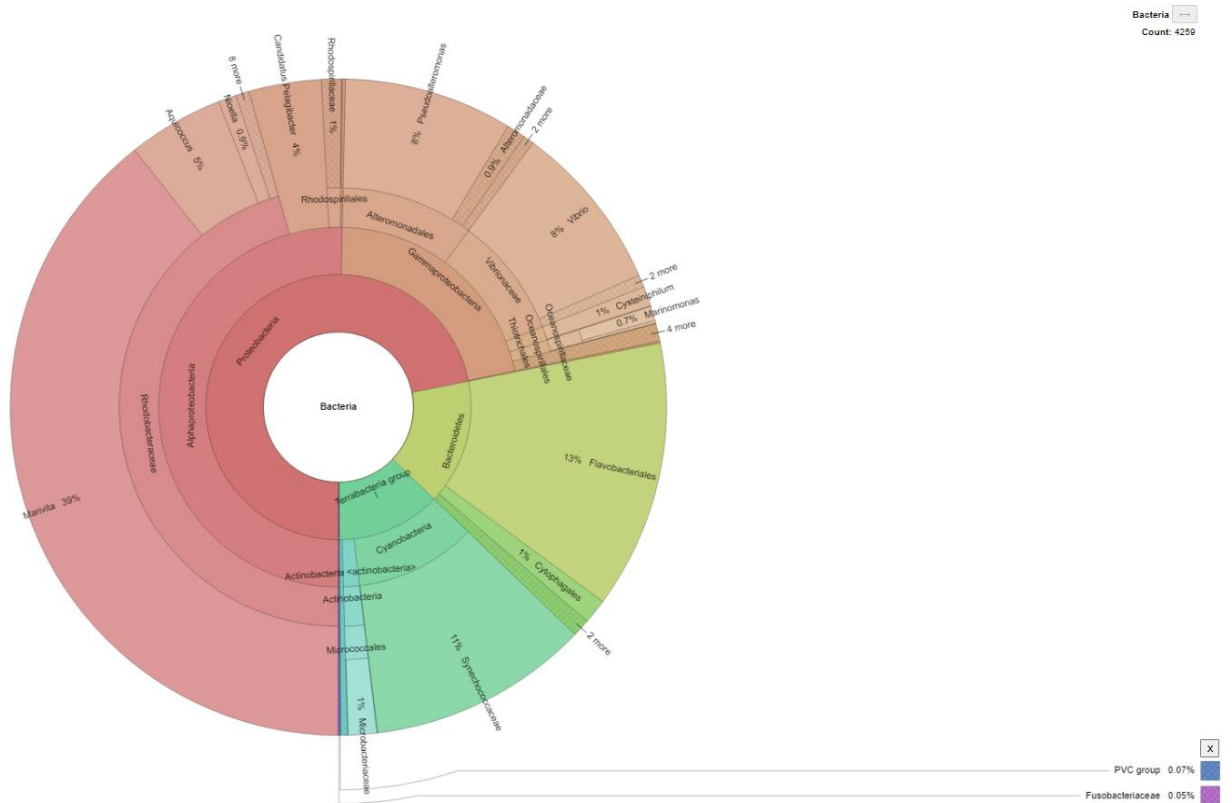


Figura 17. Composición taxonómica microbiana presentes en El Oro.

Vibrio

En la familia Vibrionaceae las especies correspondientes al grupo *Vibrio herveyi* refieren el 44% para la especie *V. parahaemolyticus* y 7% *V. alginolyticus*. El restante de las especies de este género corresponden al 31% para *V. diazotrophicus*, 3% para *V. proteolyticus*, 6% para *V. vulnificus*, 6% a la especie *Catenococcus thiocycli* y finalmente 1% para *Grimontia celer* (Figura 18).

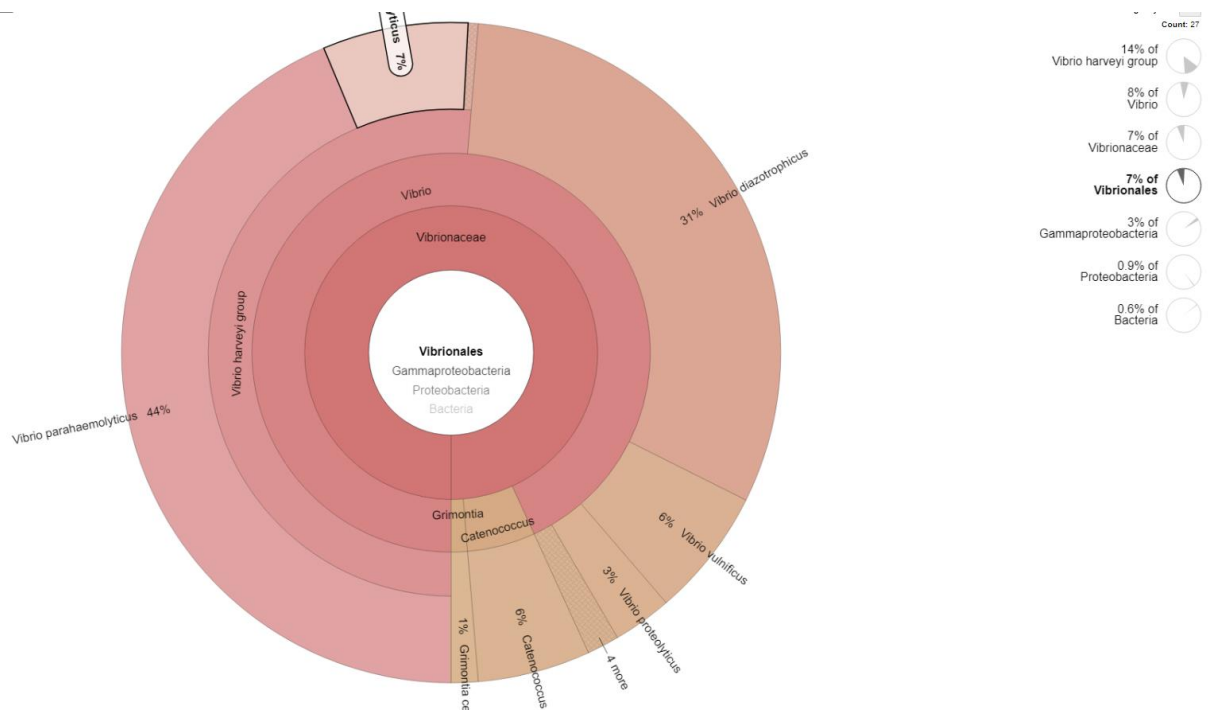


Figura 18. Composición taxonómica microbiana de Vibrio presentes en El Oro.

Bacillos

Las especies de la clase Bacilli perteneciente al orden Bacillales que engloba la familia Bacillaceae presentó 25% de la especie *Alcalihalobacillus hwajinpoensis*, 8% de la especie *H. salinus* y 8% de la especie *Bacillus marinisedimentorum*. En la familia Planococcaceae se encontró 8% de la especie *P. rifietoensis* y 8% de la especie *Chryseomicrobium palamuruenses*. Finalmente el 17% pertenecía a la especie *Exiguobacterium mexicanum* y 8% de la especie *Gemella morbillorum* (Figura 19).



Figura 19. Composición taxonómica microbiana de Bacilos presentes en El Oro.

Relación Ecología microbiana/Riqueza de especies

La riqueza de especies estuvo representada de la siguiente manera: Manabí mantuvo 204 bits demostrando elevada concentración de especies, destacándose como la localidad con el valor más elevado a diferencia de las otras dos zonas. Entre Guayas y El Oro no se mostraron diferencias significativas ($\text{Chi}^2 p > 0.05$), Guayas mantuvo 122 bits y El Oro 121 bits estando por debajo de Manabí, con un margen de error de 59,67 bits (Figura 20).

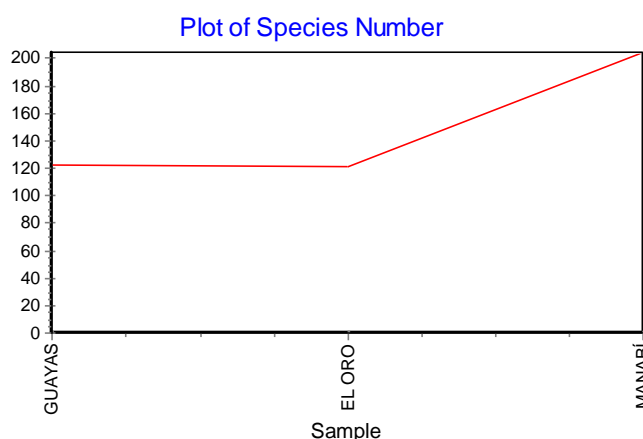


Figura 20. Riqueza de especies Guayas, El Oro y Manabí.

Índice de Chao 1.

Al evaluar la diversidad mediante el estimador Chao 1, se estableció que en El Oro (Sample 1: 150 bits) fue la estimación más baja, mientras que en El Guayas se registró 249 bits (Sample 2), aunque el sitio con mayor riqueza de especie fue Manabí con 335 bits (Sample 3) (Figura 21).

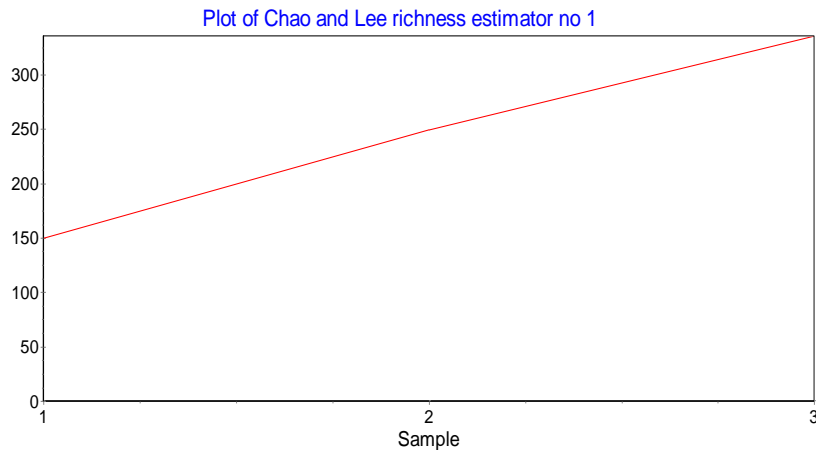


Figura 21. Riqueza de especies Guayas (Sample 2), El Oro (Sample 1) y Manabí (Sample 3).

Índice de diversidad Margalef

El índice de diversidad de especies estuvo representado de la siguiente manera: Manabí mantuvo 21,58 bits mostrando elevado índice de diversidad, destacándose como la localidad con el valor más elevado a diferencia de las otras dos zonas. Entre Guayas y El Oro no se mostraron diferencias significativas ($\chi^2 p > 0.05$), Guayas mantuvo 13,51 bits y El Oro 14,36 bits estando por debajo de Manabí, con un margen de error de 5,542 bits (Figura 22).

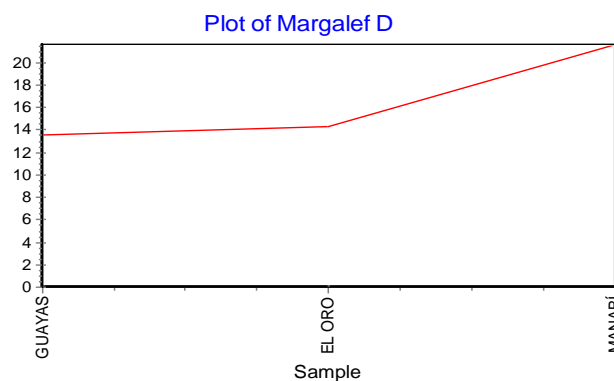


Figura 22. Índice de diversidad de especies Margalef.

Índice de Shannon Wiener

El índice de diversidad de Shannon Wiener, los resultados observados fueron Guayas 1.73 bits, El Oro 2.80 bits y en Manabí 1.73 bits. Destacándose mayor diversidad bacteriana en el agua residual de El Oro respecto a las dos provincias estudiadas (Figura 23)

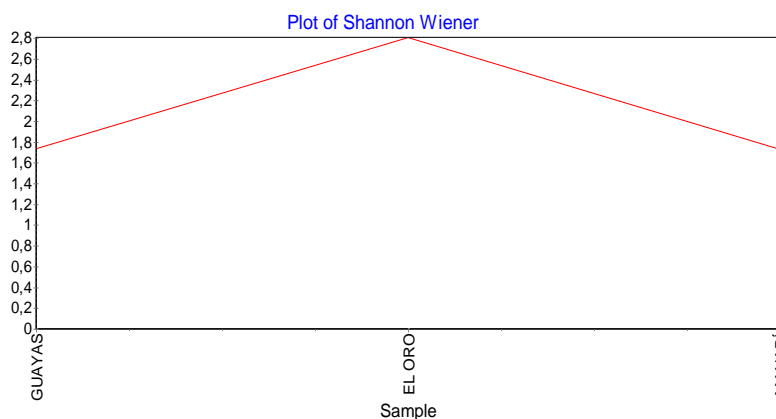


Figura 23. Índice de diversidad de Shannon Wiener.

Índice de dominancia de Simpson

El índice de dominancia de Simpson estuvo representado de la siguiente manera: El Oro mantuvo 8,761 bits mostrando elevado valor ($\chi^2 p > 0.05$), destacándose como la localidad con el valor más elevado a diferencia de las otras dos zonas. Guayas es más diverso que Manabí al 5%. Guayas mantuvo 2,429 bits y Manabí 1,984 bits estando por debajo de El Oro, con un margen de error de 1,391 bits (Figura 24).

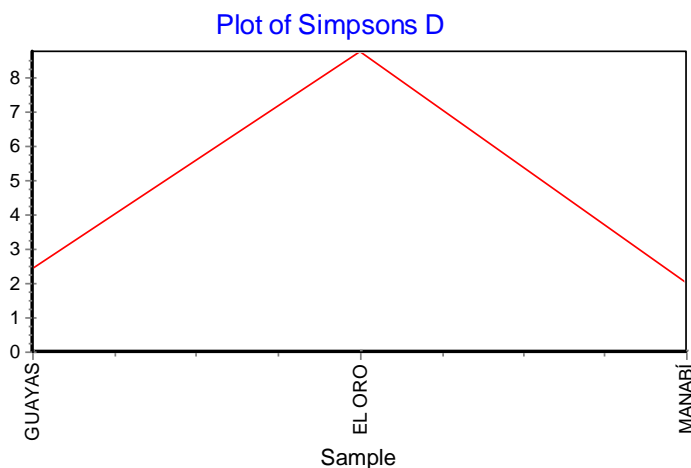


Figura 24. Índice de dominancia de Simpson.

Equitatividad de Pielou

La Equitatividad de Pielou estuvo representado de la siguiente manera: El Oro mantuvo 0,5855 bits destacándose como la localidad con el valor más elevado a diferencia de las otras dos zonas. Guayas mantuvo 0,3616 bits y Manabí 0,3257 bits estando por debajo de El Oro, con un margen de error de 0,07882 bits.

Análisis de componentes principales

Para identificar como se agrupó la composición microbiana y los factores por cada sector. De acuerdo con ello establecemos que los sitios monitoreados (Manabí, Guayas y El Oro) presentan composición microbiana la cual posee relación directa con la presencia de potasio y vibrionales en Guayas. Mientras que Alcalinidad y Magnesio se relaciona con Manabí principalmente con el grupo Bacillus, mientras que Nitrato y Fosfato no están relacionados con poblaciones microbianas (Figura 25).

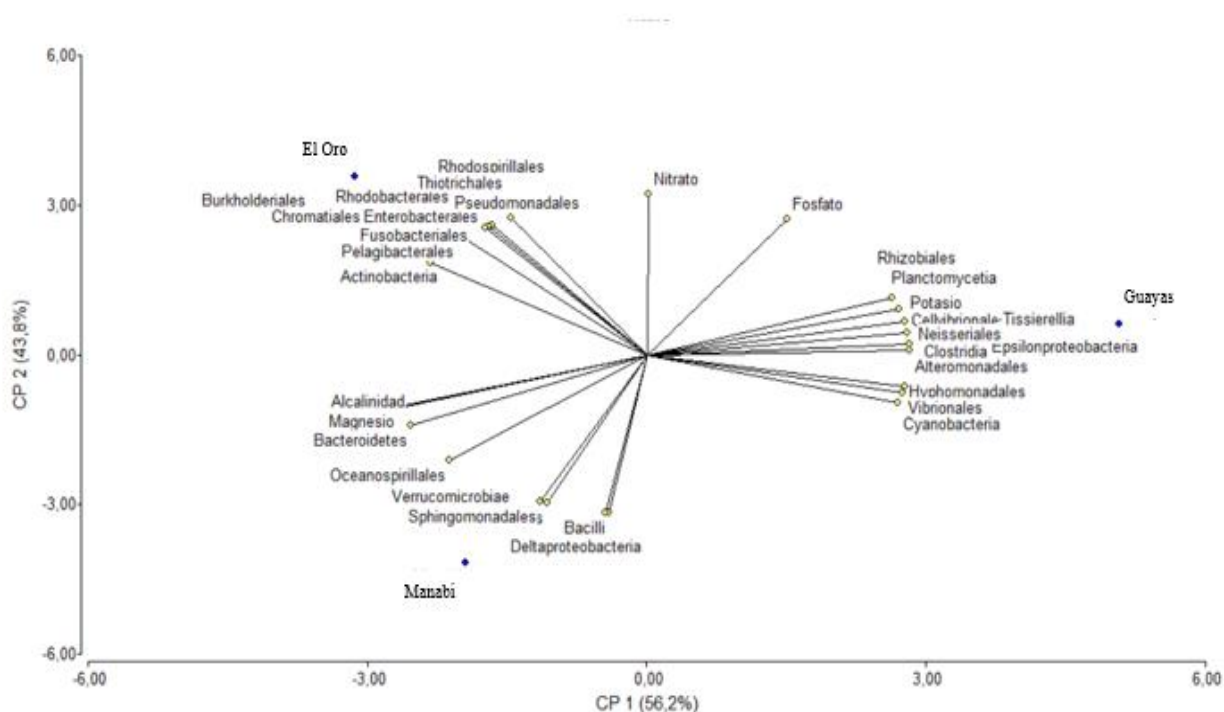


Figura 25. Análisis de componentes principales para identificar la composición microbiana en Manabí, Guayas y El Oro.

DISCUSIÓN

La calidad de agua en cultivos acuícolas es importante ya que define la calidad del ambiente en el que vive el organismo en cultivo, una de las cosas importantes para establecer la calidad del suelo y la materia Orgánica, se debe a que la concentración de nutrientes en el agua es relativo a la carga de nutrientes mineralizados en el suelo, que a variaciones del pH del fondo de la piscina termina movilizándolo al agua. Mientras que, la materia orgánica MO es un parámetro que contribuye al transporte de minerales al suelo. En el presente estudio los sitios estudiados presentaron valores superiores a 5% de MO, incluso en la piscina de la camaroneras en El Oro llegó a 20% de MO, valores considerados por la literatura como riesgoso para los cultivos acuícolas (Sonnenholzner, 2000), así se propone que niveles de MO > 4% en piscinas con un periodo de tiempo prolongado conllevan a alteraciones fisiológicas en los camarones cultivados (Ramos et al., 2010).

Particularmente en la producción de *Litopenaeus vannamei* se estima que los niveles de materia orgánica favorables para el cultivo oscilan entre 1,5 y 4% (Brito et al., 2007; Krebs, 2003; Vinatea et al., 2006), por lo que se evidencia que los suelos en los sistemas de cultivo evaluados tienen una sobrecarga orgánica y una acumulación de nutrientes dentro de la piscina. Esta materia orgánica afecta también en la reducción de la concentración de oxígeno [(entre 4 y 9 ppm) FAO, (2018)] e incremento de amonio, nitrito, hierro ferroso (C. Boyd, 2009), nitrato, fosfato, potasio del magnesio (presente estudio).

En cuanto a la calidad del agua de las piscinas camaroneras, estudios indican que estas aguas residuales deberían poseer las mismas características del agua que posee durante el cultivo (Muñoz, 2017), en muchos casos también va a depender del tipo de sistemas de cultivo, como por ejemplo 0,49 mg/l PO₄ para sistemas semi-intensivos (Casillas-

Hernández et al., 2006). Ante esto, los resultados obtenidos en el estudio sobrepasan lo reportado por trabajos previos, lo cual estaría relacionado con la excesiva alimentación y fertilización (Boyd & Munsiri, 1996). Con respecto a los niveles de nitrato, estos fueron altos, aunque aceptables (máximo 6 ppm), lo cual podría relacionarse con la degradación de materia orgánica, los nitritos son desdoblados por bacterias nitrificantes permitiendo formar biopelículas en capas profundas del agua afectando a las concentraciones de oxígeno.

La presencia de iones en el agua con actividad biológica, se conoce que el magnesio favorece el crecimiento y la supervivencia del organismo (Roy et al., 2010), lo mismo sucede con el potasio (McNevin et al., 2004). Autores demuestran que mantener aguas en condiciones adecuadas de K^+ y Mg^{2+} , durante procesos de aclimatación de post larvas ayuda a soportar el estrés del organismo (W. J. McGraw et al., 2002; William J. McGraw & Scarpa, 2003), fisiológicamente permite que la $ATPase Na^+/K^+$ ayude a captar Mg^{2+} , que permita el desarrollo de funciones fisiológicas como cofactor para determinadas enzimas.

Por otro lado, Boyd, (2003) establece que sodio y potasio (Na/K) en estado iónico ayuda al desarrollo del organismo, también se establece que sodio y cloro intervienen en los procesos de osmorregulación, por lo cual se debe evaluar la concentración de salinidad de cada piscinas de cultivo en busca de definir sus concentraciones iónicas, lo que indica que la proporción de iones fue importante para el crecimiento (Boyd, 2003) del organismo en cultivo.

La alcalinidad es evaluada como otro factor que afecta a la calidad del agua residual, y mostró resultados superiores a 200 mg/L. Según la literatura, valores altos corresponden a sitios con alimentación automática, boleo, comedero, boleo-testigo (C. Boyd, 2009), principalmente en cultivos semi intensivos, posiblemente por las altas concentraciones de

fitoplancton y sobrealimentación, ya que esto podría ser causado por la liberación de iones de carbono de estos componentes (Boyd & Daniels, 1994). Tomando en cuenta que los resultados mostrados en este estudio corresponden a aguas residuales post cosecha, justifica la presencia de concentraciones altas de alcalinidad.

Como ya hemos revisado, la acuicultura da como resultado procesos de eutrofización localizados a partir de la acumulación de nutrientes y otros elementos que van quedando como residuales a lo largo del desarrollo del cultivo de camarón. Esto genera grandes complicaciones ya que podría iniciar problemas graves respecto a brotes de enfermedades microbianas. En el presente estudio se logró identificar una gran riqueza de microorganismos bacterianos en el orden Manabí (12920 OTU), Guayas (7757 OTU) y El Oro (4259 OTU).

Zhang et al., (2019) en el estudio de los factores ambientales que dan forma a la estructura y función de la comunidad microbiana del agua en los ecosistemas de cultivo de camarón reportó 9, 988 unidades taxonómicas operativas (OTU). Además, para el índice de Shannon reportó valores 3,48 y 7,94 (bits); y Chao1 de 702 a 2593 (bits/ind). En el presente estudio los índices de diversidad de Shannon fueron para Manabí 21 (bits/ind) en Guayas 13 bits/ind y El Oro 14 bits/ind. Esto demuestra que nuestros valores son bajos comparado a lo descrito por Zhang et al., (2019), lo que representa a una disminución del reciclaje de nutrientes y carbohidratos, así como los aminoácidos en el agua desde el punto de vista ecológico.

Respecto a la salinidad, la presencia de bacterias del género *Bacillus* y *Lactobacillus* en los tres sitios de estudio permite comprender la productividad que poseen estos sitios de cultivo. Las bacterias son insensibles a las variaciones de salinidad en los cultivos de camarón. Sin embargo, se adaptan a las concentraciones de sales del medio a las que están expuestas. Las bacterias Gram positivas tiende a tener mayor osmotolerancia que las

Gram negativas, generalmente logran este cometido gracias a la pared celular mecánicamente rígida (mantenimiento de la forma y supervivencia) y la composición lipídica de la membrana (Acosta, 2010; Bassantes & Gonzalez, 2012; Lara & Burgos, 2012).

Berlanga Herranz, (2004) menciona que las bacterias del género *Lactobacillus* son mucho más resistentes a las condiciones ácidas que otras bacterias lácticas, siendo capaces de desarrollarse a pH de 4, aun cuando el potencial de hidrógeno haya descendido tanto que otras bacterias lácticas ya no puedan desarrollarse en este medio, coincidiendo con resultados de Acosta, (2010); Bassantes & Gonzalez, (2012); Lara & Burgos, (2012) donde estos autores concuerdan que las cepas bacterianas disfrutan de una cierta capacidad de acondicionarse ante las concentraciones de sales, siendo los rangos de 0,5 %, 3 % y 7% la máxima condición de salinidad tolerada hipertónicamente por estas bacterias, lo que nos da a conocer el potencial efectivo para que las cepas bacterianas adquieran su utilización en los cultivos de camarón de agua dulce donde hay rangos mínimos de salinidad (Berlanga Herranz, 2004).

Esto se debería a que actuarían como bacterias probióticas autóctonas en el agua de cultivo, que entran en contacto con nuevos organismos de cultivo y favorecen el desdoblamiento de proteínas en el aparato digestivo del animal como sucede con el microbiota intestinal en la salud del rodaballo (Zhang et al., 2019). Es probable que el agua residual de cultivo de camarón ayude de forma significativa a la salud del animal y del ecosistema, ya que nutrientes no utilizados podrían especulativamente ayudando a potenciar el metabolismo microbiano para remediar y reciclar el agua a través de procesos cíclicos que permite relacionarse con el análisis preliminar de los niveles de nitrógeno y fósforos presentes en el agua (Chithira et al., 2021) permitiéndonos asociar la

participación bacteriana en la contención de niveles de nutrientes en agua residual postcosecha de camarónicas en tres provincias distintas.

CONCLUSIÓN

Los cultivos en granjas camarónicas son parte de la actividad económica de las provincias de estudio (El Oro, Guayas y Manabí), por lo que siempre se encuentra en producción para mantenerse en el mercado y aportar a las exportaciones del camarón.

- Se determina que los suelos de las piscinas estudiadas presentan altas concentraciones de Fosforo, Nitrato, Potasio y Magnesio, debidas probablemente a los insumos que son aplicados a lo largo de cada ciclo productivo.
- En el caso del agua residual de un ciclo de cultivo de camarón, al evaluar la concentración de nutrientes presentes en el agua de las camarónicas, se notó concentraciones muy altas de varios elementos, entre ellos el Nitrógeno llegando alcanzar hasta 25,67 mg/L en El Oro.
- La composición microbiana se pudo notar que a pesar de que todas las piscinas tienen la presencia de bacterias Vibrios, estas no presentan mayor abundancia y su relación es muy cercana a Potasio.
- La diversidad de las comunidades microbianas fue diferente en cada sector estudiado, presentando Manabí los valores más bajos de diversidad.

LITERATURA CITADA

- Acosta, P. (2010). *S-layer de Lactobacillus acidophilus : caracterización y análisis funcional Prado Acosta , Mariano “ S layer de.*
- Bassantes, M. M., & Gonzalez, R. R. (2012). *Isolation and Identification of Bacterial Strains native bioremediation Environments and their Application in the Cultivation of Litopenaeus Vannamei White Shrimp.*
- Berlanga Herranz, M. (2004). *Biología de los Microorganismos. International*

- Microbiology: Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 7(1), 79–80.
- Bernabé, L. (2016). Sector Camaronero: Evolución y proyección a corto plazo. *Fcshopina*, 87(0), 1–7.
<http://www.test.revistas.espol.edu.ec/index.php/fenopina/article/view/100/107>
- Boyd, C. (2009). Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camaron. *Métodos Para Mejorar La Camaronicultura En Centroamérica*, 1–30.
<http://www.cesasin.com.mx/CentroAmerica/1Calidad del agua.pdf>
- Boyd, C. E. (2003). Bottom soil and water quality management in shrimp ponds. *Journal of Applied Aquaculture*, 13(1–2), 11–33. https://doi.org/10.1300/J028v13n01_02
- Boyd, C. E., & Daniels, H. V. (1994). Liming and fertilization of brackishwater shrimp ponds. *Journal of Applied Aquaculture*, 2(3–4), 221–234.
https://doi.org/10.1300/J028v02n03_11
- Boyd, C. E., & Munsiri, P. (1996). Phosphorus adsorption capacity and availability of added phosphorus in soils from aquaculture areas in Thailand. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27(2), 160–167. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1996.tb00265.x>
- Brito, L. O., Costa, W. D. M., Antonio, Í. G., & Gálvez, A. O. (2007). Effect of fertilization on organic matter and pH of soil in ponds for *Litopenaeus vannamei* culture Efeito da fertilização sobre a matéria orgânica e o pH do solo de viveiros. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 2(3), 233–237.
- Casillas-Hernández, R., Magallón-Barajas, F., Portillo-Clarck, G., & Páez-Osuna, F. (2006). Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, Mexico using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. *Aquaculture*, 258(1–4), 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.027>

- Castillo, B., & Velásquez, P. (2021). *Manejo estacional de los sistemas de producción de camarón en el Ecuador*. 447–461.
<https://institutojubones.edu.ec/ojs/index.php/societec/article/view/151/439>
- Chithira, M. S., Aishwarya, P. V., Mohan, A. S., & Antony, S. P. (2021). Metagenomic analysis of microbial communities in the sediments of a semi-intensive penaeid shrimp culture system. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 0–3. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00237-9>
- Correa, G., & Montero, A. V. (2013). *Visión general del sector acuícola nacional - México*. 1–10. http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es
- Fang, H., Huang, K., Yu, J., Ding, C., Wang, Z., Zhao, C., Yuan, H., Wang, Z., Wang, S., Hu, J., & Cui, Y. (2019). Metagenomic analysis of bacterial communities and antibiotic resistance genes in the *Eriocheir sinensis* freshwater aquaculture environment. *Chemosphere*, 224, 202–211.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.068>
- FAO. (2018). Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. *Organizacion De Las Naciones Unidas Para La Agricultura Y La Alimentacion*, 136.
www.fao.org/publications
<http://www.fao.org/publications/es>
<http://www.fao.org/3/a-a0822s.pdf>
<http://www.fao.org/publications/es>
<http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1129811/>
<http://www.fao.org/hunger/es/>
<http://www.fao.org/livestock-en>
- Gonzabay Crespín, Á. N., Vite Cevallos, H. A., Garzón Montealegre, V. J., & Quizhpe Cordero, P. F. (2021). Análisis de la producción de camarón en el Ecuador para su exportación a la Unión Europea en el período 2015-2020. *Polo Del Conocimiento*,

6(9), 1040–1058. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3093>

Hernandez Gurrola, J. A. (2016). Caracterización de la calidad de agua en un sistema intensivo de cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones de alta salinidad con recambio de agua limitado. *Centro de Investigaciones Biológicas Del Noreste, S.C.*, 119. file:///C:/Users/USER/Desktop/Documentos tesis/Caracterizacion de la calidad de agua en el CULTIVO DEL CAMARÓN MARINO *Litopenaeus vannamei*.pdf

Javier-Intriago, A. J., Quimi-Mujica, J. G., Risco-Cunayque, J. M., Lopez-Parra, J. J., Yalta-Mera, J. E., Bermudez-Basan, M. E., Lindo-Seminario, E. D., Lajones-Ruano, G. V., Sernaque de la Cruz, V. I., Dominguez-Mendoza, L. F., Martinez-Virnes, Z. E., Motte-Darricau, E., Cedeño-Escobar, V. A., & Mialhe-Matonnier, E. L. (2018). Metagenómica de la microbiota de juveniles del *Litopenaeus vannamei* inoculados con bacterias probióticas y patógenas. *Revista AquaTIC*, 51(1578–4541), 16–29.

Krebs, L. (2003). Respiración del suelo como herramienta para evaluar calidad de fondos en acuicultura. I. Desarrollo de un protocolo estándar para medir dióxido de carbono. *Tesis de Grado*, 67. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/8666>

Lara, C., & Burgos, Á. (2012). Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 14(1), 31–40.

Magnotti, C., Lopes, R., Derner, R., & Vinatea, L. (2016a). Using residual water from a marine shrimp farming BFT system. part I: nutrient removal and marine microalgae biomass production. *Aquaculture Research*, 47(8), 2435–2443. <https://doi.org/10.1111/are.12691>

Magnotti, C., Lopes, R., Derner, R., & Vinatea, L. (2016b). Using residual water from a marine shrimp farming BFT system. Part II: *Artemia franciscana* biomass production fed microalgae grown in reused BFT water. *Aquaculture Research*,

47(9), 2716–2722. <https://doi.org/10.1111/are.12720>

- McGraw, W. J., Davis, D. A., Teichert-Coddington, D., & Rouse, D. B. (2002). Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: Influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(1), 78–84. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00481.x>
- McGraw, William J., & Scarpa, J. (2003). Minimum environmental potassium for survival of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in freshwater. *Journal of Shellfish Research*, 22(1), 263–267.
- McNevin, A. A., Boyd, C. E., Silapajarn, O., & Silapajarn, K. (2004). Ionic supplementation of pond waters for inland culture of marine shrimp. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35(4), 460–467. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00111.x>
- Muñoz, G. (2017). Evaluación De La Calidad Del Agua Y Sedimento De Piscinas Camaroneras Durante Un Ciclo Productivo Del Cultivo Semintensivo En La Parroquia Cojimies, Canton Pedernales, Provincia De Manabí, Ecuador. *Psychology Applied to Work: An Introduction to Industrial and Organizational Psychology, Tenth Edition Paul*, 1–35. file:///C:/Users/USER/Desktop/Documentos tesis/EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA Y SEDIMENTO DE de las piscnas en el ciclo productivo de camaron blanco.pdf
- Novillo Jiménez, C. R. y V. C. (2019). Análisis del pronóstico de las exportaciones del camarón en el Ecuador a partir del año 2019. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4, 55–61. <http://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/348/368>
- Ramos, R., Vinatea, L., Santos, J., & Costa, R. Da. (2010). *Treatments of effluents from Litopenaeus vannamei shrimp cultures through sedimentation , filtration and*

- absorption*. 38(3), 188–200. <https://doi.org/10.3856/vol38-issue2-fulltext-3>
- Roy, L. A., Davis, D. A., Saoud, I. P., Boyd, C. A., Pine, H. J., & Boyd, C. E. (2010). Shrimp culture in inland low salinity waters. *Reviews in Aquaculture*, 2(4), 191–208. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01036.x>
- Sonnenholzner, B. &. (2000). *Propiedades físicas y químicas de los suelos de estanques de camarón*. 31(3), 358–375.
- Summerfelt, R. C. W. quality considerations for aquaculture. (1998). Water quality considerations for aquaculture. *Department of Animal Ecology*, 2–7.
- Vinatea, L., Malpartida, J., & Andreatta, E. R. (2006). CARACTERIZAÇÃO DO pH , CARBONO ORGÂNICO E POTENCIAL REDOX DE SOLOS DE VIVEIROS DE CULTIVO SEMI-INTENSIVO DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 32(1), 25–30.
- Xi, X., Wang, M., Chen, Y., Yu, S., Hong, Y., Ma, J., Wu, Q., Lin, Q., & Xu, X. (2015). Adaption of the microbial community to continuous exposures of multiple residual antibiotics in sediments from a salt-water aquacultural farm. *Journal of Hazardous Materials*, 290, 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.059>
- Yong, L., Yin, C., Mahmoudi, E., Ong, C. B., & Mohammad, A. W. (2018). A review of the management of inflow water, wastewater and water reuse by membrane technology for a sustainable production in shrimp farming. *Journal of Water Process Engineering*, 23(July 2017), 27–44. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.02.020>
- Zhang, M., Pan, L., Huang, F., Gao, S., Su, C., Zhang, M., & He, Z. (2019). Metagenomic analysis of composition, function and cycling processes of microbial community in water, sediment and effluent of *Litopenaeus vannamei* farming environments under different culture modes. *Aquaculture*, 506(December 2018), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.038>