

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DIRECCION DE INVESTIGACIÓN

I. NOMBRE DE LA INVESTIGACION

CÓDIGO: PI-1601

Incorporación de bacterias ácido lácticas nativas como probióticos en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) en la camaronera Las Animas, El Salvador.

II. DATOS DE LOS RESPONSABLES.

TÍTULO A OBTENER: INGENIERO AGRÓNOMO.

DATOS DE LOS ESTUDIANTES.

Nombre, apellido y formación académica	Dirección	Teléfono y correo electrónico	Firma
Br. Luís Miguel Delgado Díaz	Col. Anabella 1, polígono A, casa # 15, Zacatecoluca, La Paz	75002993 luismiguel4123@hotmail.com	

DATOS DE LOS DOCENTES DIRECTORES.

Nombre, apellido y formación académica	Lugar de trabajo	Teléfono y correo electrónico	Firma
Ing. Agr. M. Sc. Napoleón Edgardo Paz Quevedo	Universidad de El Salvador (UES), Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia	71534464 napoleonepaz21@hotmail.com	
Lic. M. Sc. Norma Esthela Molina Velásquez	Universidad de El Salvador (UES), Facultad de Química y Farmacia	77422608 noresthela@gmail.com	
Lic. Armando Navarrete Soriano	Laboratorio de microbiología del MEGATEC, La Unión	79566081 armando_microalgas@yahoo.com	

VISTO BUENO

Coordinador General de Procesos de Graduación del Departamento: Firma:

Ing. Agr. Enrique Alonso Alas García

Director General de Procesos de Graduación de la Facultad: Firma:

Ing. Agr. M. Sc. Elmer Edgardo Corea Guillén

Jefe del Departamento de Zootecnia: Firma:

Ing. Agr. Ludwing Vladimir Leyton Barrientos

Sello:

Lugar y fecha: Ciudad Universitaria, Julio de 2019

NOMBRE DE LA INVESTIGACION

“Incorporación de bacterias ácido lácticas nativas como probióticos en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) en la camaronera Las Animas, El Salvador”.

AUTORES

Delgado-Díaz, LM¹, Paz Quevedo, NE², Molina Velásquez, NE³, Navarrete Soriano, A⁴

RESUMEN

La investigación se realizó en la camaronera Las Animas ubicada en cantón Animas Abajo, Zacatecoluca, La Paz, en el periodo de agosto de 2016 a septiembre de 2017. El objetivo fundamental fue la búsqueda de alternativas que generen una reducción de costos en la producción de camarón, así como el mejoramiento de las condiciones del medio ambiente en la zona del estudio de manera eficiente. Se realizó en dos fases, la primera fase de laboratorio, comenzó con la recolección de muestras de camarones de cuatro estanques de dicha granja, con el propósito de aislar cepas nativas de *Lactobacillus*, obteniéndose 40 cepas, de estas se seleccionaron cuatro, realizándoles pruebas de factibilidad probiótica, logrando al final dos cepas que cumplieron todos los requisitos como probióticos, siendo estas las bacterias ácido lácticas *Lactobacillus paracasei* (E91) y *Lactococcus lactis* (E33). La segunda fue una fase de campo, donde se evaluó el probiótico a base de las bacterias ácido lácticas nativas aisladas contra un probiótico comercial EPICIN® G2. Se configuraron cuatro tratamientos, de los cuales dos contenían las bacterias nativas más el biorremediador EPICIN® PST y dos con el probiótico comercial más el EPICIN® PST, los resultados de los tratamientos conformados por bacterias ácido lácticas más EPICIN® PST presentaron un menor deterioro de los parámetros del agua, Aunque las aguas se clasificaron como pobres según el ICA (Índice de Calidad del Agua), los probióticos nativos presentaron poca variabilidad entre sus constantes, este dato fué concordante con el análisis del Índice de Estado Trófico (TRIX por sus siglas en ingles), que las aguas del estero según este índice se clasifican como Hipertróficas. En los parámetros productivos los tratamientos con bacterias ácido lácticas generaron mayor eficiencia, ya que la sobrevivencia para los tratamientos T3 y T4 es de 47.56% y 45.68%, superando a los tratamientos control T1 y T2 con 44.57% y 38.97%, al igual que en la sobrevivencia de los estanques con bacterias nativas, se tuvo mayor eficiencia en cuanto al rendimiento en la producción, ya que los T3 y T4 presentaron un rendimiento de 6,806.36 kg y 5,414.55 kg, mientras que T1 y T2 registraron un rendimiento de 5,544.09 kg y 5,387.27 kg. Al mismo tiempo se realizó un análisis de beneficio costo el cual demostró que al utilizar las bacterias ácido lácticas como probióticos se produce una reducción en costos operativos, ya que los T3 y T4 producen un egreso de \$62,614.63 y \$55,481.78 contra los egresos de los T1 y T2 que fue de \$94,105.33 y \$74,456.95; indicando que para los T3 y T4 se realizó un retorno de \$1.39 y \$1.25 por cada dólar invertido, mientras que los T1 y T2 se realizó un retronó de \$1.10 y \$1.15 por cada dólar invertido. Por lo anterior se concluye que *Lactococcus lactis* y el *Lactobacillus paracasei* aisladas del tubo digestivo de los camarones cultivados en la granja, están dentro de la lista de bacterias que se pueden utilizar como probióticas en el cultivo de camarones en estanques y se recomienda la presente metodología para mejorar la producción de granjas camaroneras en armonía con el medio ambiente.

Palabras clave: camarón blanco, Bacterias Ácido Lácticas, Probiótico, Biorremediador, Bacterias nativas, Eutrofización, ICA, TRIX, *Lactobacillus paracasei* y *Lactococcus lactis*.

¹ Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia, estudiante tesista.

² Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Zootecnia, docente director.

³ Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, asesor externo.

⁴ Laboratorio de microbiología del MEGATEC La Unión, asesor externo.

ABSTRACT

The research was carried out in the Las Animas shrimp farm located in Canton Animas Abajo, Zacatecoluca, La Paz, from August 2016 to September 2017. The fundamental objective was the search for alternatives that generate a reduction of costs in the production of shrimp, as well as the improvement of environmental conditions in the study area in an efficient manner. It was carried out in two phases, the first laboratory phase, began with the collection of shrimp samples from four ponds of said farm, with the purpose of isolating native strains of *Lactobacillus*, obtaining 40 strains, of these four were selected, performing tests of probiotic feasibility, achieving at the end two strains that fulfilled all the requirements as probiotics, being these the lactic acid bacteria *Lactobacillus paracasei* (E91) and *Lactococcus lactis* (E33). The second was a field phase, where the probiotic was evaluated based on native lactic acid bacteria isolated against a commercial probiotic EPICIN® G2. Four treatments were configured, of which two contained the native bacteria plus the EPICIN® PST bioremediator and two with the commercial probiotic plus the EPICIN® PST, the results of the treatments formed by lactic acid bacteria plus EPICIN® PST presented a lower deterioration of water parameters, Although the waters were classified as poor according to the ICA (Water Quality Index), the native probiotics showed little variability between their constants, this data was concordant with the analysis of the Trophic Status Index (TRIX for its acronym in English), that the waters of the estuary according to this index are classified as Hypertrophic. In the productive parameters the treatments with lactic acid bacteria generated greater efficiency, since the survival for the treatments T3 and T4 is of 47.56% and 45.68%, surpassing the control treatments T1 and T2 with 44.57% and 38.97%, as well as In the survival of the ponds with native bacteria, there was greater efficiency in terms of production yield, since the T3 and T4 showed a yield of 6,806.36 kg and 5,414.55 kg, while T1 and T2 recorded a yield of 5,544.09 kg and 5,387.27 kg. At the same time, a cost benefit analysis was carried out which showed that when using the lactic acid bacteria as probiotics, a reduction in operating costs is produced, since the T3 and T4 produce an outflow of \$ 62,614.63 and \$ 55,481.78 against the outflows of the T1 and T2 which was \$ 94,105.33 and \$ 74,456.95; indicating that for T3 and T4 a return of \$ 1.39 was made and \$ 1.25 for each dollar invested, while the T1 and T2 were made a rebound of \$ 1.10 and \$ 1.15 for each dollar invested. Therefore, it is concluded that *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus paracasei* isolated from the digestive tract of farmed shrimps are among the list of bacteria that can be used as probiotics in shrimp culture in ponds and this methodology is recommended to improve the production of shrimp farms in harmony with the environment.

Key words: White shrimp, Bacteria Lactic acid, Probiotic, Bioremediator, Native bacteria, Eutrophication, ICA, TRIX, *Lactobacillus paracasei* and *Lactococcus lactis*.

1. INTRODUCCION

En camaronicultura no existen productos químicos o medicamentos para tratar las infecciones una vez que los estanques han sido invadidos por virus, pero un buen manejo del estanque, agua, alimentos y las condiciones de salud de la población, pueden reducir su virulencia. En algunos casos, se han empleado antibióticos y otros fármacos para el tratamiento (FAO 2006). Una alternativa utilizada con éxito para el control de enfermedades del camarón son los probióticos que son un conjunto de microorganismos y/o sustancias que contribuyen al balance de la flora benéfica del individuo y que contribuyen al bienestar

y salud de los organismos. Tienen la capacidad de competir contra bacterias patógenas tanto en el medio, como en el interior y exterior del individuo y de degradar metabolitos tóxicos y materia orgánica⁵. Dentro de los probióticos se encuentran las bacterias ácido lácticas que es uno de los grupos más estudiados por sus beneficios en los tratamientos causados por los trastornos de la microflora intestinal. Estas bacterias están clasificadas dentro del grupo de las bacterias Gram positiva, generalmente tienen movilidad y no son formadoras de endoesporas, producen ácido láctico, algunos miembros de este grupo contienen bastones como los *Lactobacillus*, que junto con *Streptococcus*, *Carnobacter*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus* y *Vagococcus*, están adaptadas a crecer bajo diferentes condiciones ambientales (Chávez 2008).

En la acuicultura, la aplicación de bacterias beneficiosas utilizadas como probióticos, no solo está asociada con la salud del intestino, sino también con la **biorremediación** (que es un proceso que utiliza las habilidades catalíticas de microorganismos vivos para un aumento de la velocidad en la extensión de la destrucción de contaminantes. Las comunidades naturales pueden no ser capaces de llevar a cabo los procesos de biodegradación a la velocidad deseada debido a factores físicos o nutricionales limitantes. (Salazar 2013)), la cual mejora el medio ambiente (agua y suelo) en el que se crían los animales. Los efectos de las cepas de biodegradación (como las *Bacillus* spp., *Paracoccus* spp., *Thiobacillus* spp.) que se añaden directamente al agua, implican la modulación del perfil microbiológico de los estanques, la degradación de los residuos indeseables (amoníaco, nitrito, sulfuro de hidrógeno), mejora la mineralización de la materia orgánica, disminuye las condiciones anaeróbicas en el suelo del estanque y reduce la acumulación de lodos (Aquafeed 2013).

La importancia de la investigación fue la búsqueda de métodos más amigables con el medio ambiente, como la aplicación de probióticos, un procedimiento de gran versatilidad y de grandes beneficios ampliamente aceptado en la producción de camarón a nivel mundial. Los probióticos son capaces de controlar patógenos por múltiples mecanismos, promover el crecimiento del hospedero, mejorar la calidad del agua y reducir los contaminantes producidos por el cultivo de camarón. Adicionalmente pueden ser administrados por el alimento y el agua en combinación con otras sustancias beneficiosas.

El estudio comprendió varias etapas, desde la colecta y caracterización de las bacterias ácido lácticas nativas de un ciclo productivo anterior al estudio, las mediciones de los parámetros físicos, químicos, biológico, microbiológicos y productivos resultantes de la posterior aplicación de los probióticos, lo cual se registró con muestreos semanales y mensuales, realizando las comparaciones para medir la eficiencia tanto en la producción, como en la mejora de los parámetros del agua, utilizando los parámetros propuestos por el Índice de Calidad de Agua (ICA) y el Índice de Estado Trófico (TRIX); para lo cual se identifica que el ICA es el índice utilizado para la clasificación de las aguas que se utilizan en el consumo humano; mientras que el TRIX evalúa las condiciones de eutrofización de un cuerpo de agua y las aplicaciones productivas que este puede cubrir.

La investigación provee una actualización sobre la aplicación de probióticos a base de bacterias ácido lácticas nativas, con énfasis en la influencia en el incremento de la productividad y los beneficios ambientales con la mejora de la calidad del agua.

⁵ XII Jornada de actualización científica en acuicultura.12, 2015. Choluteca.2015.Probioticos: mecanismos de acción y uso en cultivo de camarón. Choluteca, HN.43.p.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Ubicación, Duración, Unidades Experimentales.

El presente estudio se desarrolló de agosto del 2016 a septiembre del 2017 en la camaronera Las Animas ubicada en el cantón Animas Abajo, jurisdicción de Zacatecoluca, departamento de La Paz, a 5 msnm cuyas coordenadas son latitud norte 13°21'38.26'', longitud oeste 88°51'11.57''. Las características del terreno donde están construidos los estanques tienen una topografía plana, la textura del suelo está compuesta de arcilla, arena fina y en menor grado materia orgánica, suelos del tipo Grumosoles (Vertisoles) que son aquellos de arcillas negras, con un alto poder de contracción y dilatación, en la época seca, se rajan y se cuarteán. En estos suelos los minerales están en sus primeros 18 cm, por lo general mezclados, de este límite a un metro de profundidad, tienen un contenido de arcilla superior a 30%. (Rico 1974) (MAG 2012). El área de los estanques es: # 10: 32,377 m² o 3.24 ha, #11: 25,567 m² o 2.56 ha, # 12: 21,116 m² o 2.11 ha y #13: 23,442 m² o 2.34 ha haciendo un área total de 102,502 m² o 10.25 ha y cuentan con una profundidad de 1.5 m.

2.2. Metodología de campo.

Previo a la preparación de los estanques para la siembra, se realizó una aplicación de 300 gr de EPICIN®PST por cada estanque.

2.2.1. Preparación de los estanques para la siembra.

Se utilizó una densidad de siembra de 55 postlarvas/m² para cada uno de los cuatro estanques, haciendo un total de 5,637,610 postlarvas. Se realizó el proceso de aclimatación, el cual consistió en la medición de las constantes de temperatura y salinidad para no afectar a las postlarvas. Seguidamente se realizó la siembra a los estanques por medio del método de la manguera. A partir de la siembra se realizó un muestreo de sobrevivencia, el cual consistió en realizar un conteo de postlarvas en cajas de muestreo, sobrevivientes después de un período de dos días de sembradas, a partir de una muestra determinada. Obteniendo los valores de 88.33% para el T1, 93.33% para el T2, 83.33% para T3 y 90% para el T4.

2.2.2. Preparación y Aplicación de EPICIN G2.

La preparación del EPICIN G2 consistió en la incorporación de 100 gr del probiótico comercial a 45.45 kg del concentrado de la marca MOR al 35% de contenido proteico, mezclándolo homogéneamente en una tolva. Su aplicación se realizó al voleo, con una frecuencia de aplicación de 5 días, mediante una lancha con motor fuera de borda de 5 caballos de fuerza.

Aplicación del EPICIN PST y el probiótico a base de bacterias ácido lácticas nativas.

EPICIN PST: volumen del masivo: 1,000 litros por estanque, tiempo de incubación: 16 horas, modo de aplicación: al voleo, recursos: Lancha con motor fuera de borda de 5 hp y frecuencia de aplicación: cada 2 días

Probiótico a base de bacterias ácido lácticas nativas.

En el agua: volumen del masivo: 2 tinacos de 750 litros (1,500 litros por estanque), tiempo de incubación: 16 horas, modo de aplicación: al voleo, recursos: Lancha con motor fuera de borda de 5 hp y frecuencia de aplicación: cada 5 días.

En el alimento: adicionalmente se utilizó 2.5 litros de inóculo de cepa de bacterias ácido lácticas por separado (según el tratamiento designado) por 1.0 quintal del concentrado de la marca MOR® al 35% de contenido proteico, mezclándolo homogéneamente y aplicándolo al voleo por todo el estanque y la frecuencia de aplicación para cada uno de los estanques utilizados en el estudio fue cada 5 días.

2.2.3. Metodología para la cuantificación de los parámetros productivos.

Para la determinación de peso se utilizó el cuadro general de datos, el cual es utilizado en la camaronera Las Animas para el muestreo de peso: partiendo de que se conoce la cantidad de camarones sembrados en cada estanque, se extrajeron muestras “al azar” utilizando atarrayas de 1.0 m² de diámetro, se realizó cada siete días, los resultados se presentan en gramos.

Densidad de siembra: el presente estudio se utilizó 55 camarones por metro cuadrado.

Pesaje: se utilizó una báscula portátil, recipiente para colocar los camarones en báscula, cubeta y una atarraya. Luego se procedió a anotar el número de estanque y la cantidad de postlarva sembrada, la fecha de siembra, la fecha de muestreo y los días de cultivo, calculados de la diferencia entre la fecha de muestreo y la fecha de siembra, sin contar el día de siembra de la larva. Se colocó agua del estanque en la cubeta, con la atarraya se capturó los camarones, fueron depositados en la cubeta con agua, luego se colocaron los camarones en el recipiente y se pesaron en la báscula, anotando el registro observado: peso bruto (PB), después se contó los camarones y se anotó, se pesó el recipiente con agua: Tara (T), la resta del peso bruto (PB) y la tara (T) es el peso neto (PN). El peso neto (PN) se dividió entre el número de camarones para obtener el peso de camarón (PC), se realizaron cuatro repeticiones por estanques.

Población y porcentaje de sobrevivencia: se realizaron utilizando la técnica del transepto que consiste en trazar una línea transversal en el estanque realizando diez lances con una atarraya de 2.0 m² de diámetro. En cada lance se contabilizan los camarones, al finalizar el muestreo se suman todos los camarones de los lances.

Biomasa: se determinó utilizando la fórmula: $(P \times PS / 454 \text{ g} / 2.2 \text{ lb})$ donde P: población, PS: peso semanal en gramos entre 454 gramos para obtenerlo en libras y entre 2.2 libras para obtenerlo en kilogramos.

Factor de conversión: formula: $(PC \times A)$ donde PC: peso de camarón y A: alimento abastecido. El rango que se utilizó esta entre 1.1 a 1.3 para el estudio.

Rendimiento: formula: $(c \times UA)$ donde c: cantidad de camarón producido y UA: unidad de área.

2.3. Metodología de laboratorio.

2.3.1. Aislamiento de bacterias ácido lácticas.

La muestras de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) utilizadas fueron recolectadas en la camaronera “Las Animas”, la cual posee 13 estanques de cultivo de camarón, seleccionando cuatro de ellos: Estanque tres (E3), Estanque siete (E7), Estanque nueve (E9) y Estanque diez (E10), puesto que, estos estanques cumplen con el criterio de alta producción lo que genera mayor probabilidad de encontrar bacterias ácido lácticas; al mismo tiempo estos estanques contaban con una alta presencia del pez Sambo (*Dormitator latifrons*), el cual es una especie detritívora, la cual, constituyen una parte importante de los ecosistemas porque contribuyen a la descomposición y reciclado de los nutrientes en los ecosistemas acuáticos y las bacterias ácido lácticas resisten al paso por su tracto digestivo.

Se recolectaron 60 camarones en total, 15 camarones de cada uno de los cuatro estanques seleccionados, en muestras debidamente identificadas con el número de estanque, fecha de recolección, persona que los recolecto y la hora de recolección, luego se almacenaron en hielera para trasladarlos al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Para el aislamiento de los Lactobacilos, se utilizaron 10 camarones de la muestra de cada estanque, se pesaron en una balanza semianalítica aún con vida, luego se desinfecto con alcohol isopropílico, se extrajo el tubo digestivo con ayuda de tijeras y pinzas estériles, se colocó en tubo cónico de 1 ml estéril, debidamente tarado, seguidamente se pesó. Se le agregó 1.0 ml de solución salina y se maceraron. El proceso se repitió para cada uno de las muestras, comenzando con E3 y así sucesivamente para el E7, E9 y E10. Se pipeteo 0.1 ml del macerado y se colocó en el centro de una Placa de Petri que contenía 20 ml de Agar RMS solidificado y luego se procedió a extenderlo con una asa de Digiralsky estéril, finalmente se incubo a temperatura de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

2.3.2. Morfología macroscópica de los lactobacilos.

Después del periodo de incubación se observaron las colonias formadas en el medio de Agar RMS, comparándolas con las establecidas en el Manual de Merck. (The MERCK group s.f.)

2.3.3. Morfología microscópica y pruebas para confirmar presencia de lactobacilos.

Tinción de Gram: De las colonias puntiformes color azul en medio de RMS, se tomó con una asa estéril una porción de la colonia y se suspendió en una gota de solución salina en una lámina portaobjeto, se fijó al calor y se dejó secar, luego se realizó la tinción de Gram, se enfocó en el microscopio hasta llegar al 100X con ayuda de aceite de inmersión. Prueba de catalasa y oxidasa: De las colonias puntiformes se sembraron en Agar Tripticasa Soya y se incubaron a temperatura de $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Prueba de catalasa: Después del periodo de incubación se coloraron dos gotas de peróxido de hidrogeno H_2O_2 en una lámina portaobjeto limpia y luego con un palillo de madera estéril se recolecto una porción de una colonia y se emulsiono en las gotas de H_2O_2 , la ausencia de burbujeo confirma la presencia del Lactobacilo. Prueba de oxidasa: Después del periodo de incubación se seleccionó una colonia y se impregno la tira que contiene el reactivo de Kovac en la colonia, la ausencia de coloración purpura en la tira confirma la presencia del Lactobacilo.

2.3.4. Parámetros químicos.

Para los análisis químicos se utilizó la metodología establecida en aguas y aguas de desechos APHA (1992), se realizaron en el laboratorio Físicoquímico de aguas de la facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Las pruebas realizadas se denotan a continuación: 4500- P Fosforo total: 4500- P C. Método colorímetro del ácido vanadomolibdofosforico, determinación de fosfatos en aguas por espectrofotometría-, 4500 Norg Nitrógeno total: 4500 Norg B. Método macro Kjeldahl, 4500 NH₃ Amonio: 4500 NH₃ F Método Fenato, 4500 NO₃⁻ Nitrato: 4500 NO₃⁻ B. Método espectrometrico ultravioleta selectivo, 2340 DUREZA: 2340 C. Método título métrico de EDTA, 4500- Si SILICE: 4500 –Si D. Método colorímetro del complejo azul, 4500 NO₂⁻ Nitrógeno (nitrito): 4500 NO₂⁻ B. Método Colorimétrico y 2320 Alcalinidad: 2320 B. Método de titulación.

2.3.5. Parámetros Microbiológicos.

Para los análisis microbiológicos de las muestras de camarón y agua recolectadas en el lugar del estudio, se utilizó la metodología establecida APHA (1992), se realizaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador y en el Laboratorio de Microbiología del MEGATEC – La Unión, las pruebas de identificación de Vibrios realizando el análisis en fresco (Morales 2010). Para el estudio se usó el 20% de prevalencia (es el número de individuos de una especie de huésped infectada con una especie particular de parásito/número de huéspedes examinados (Margolis, *et al.* (1982), citado por Morales 2010)). Se realizó identificación y cuantificación de *Vibrio spp* en la hemolinfa y del hepatopáncreas de los camarones blancos vivos. Los resultados obtenidos de las placas bacterianas en agar TCBS provenientes del hemolinfa (UFC/ml) y el hepatopáncreas (UFC/g) de cada uno de los camarones se interpretó haciendo uso de la tabla de referencia para el mismo propósito que establece (Gómez, citado por Cuellar *et al.* (2010)) los resultados obtenidos de la bacteriología se sometieron a interpretación auxiliándose de los datos obtenidos del análisis en fresco, ya que con esta técnica se puede evaluar y cuantificar el posible daño estructural que el organismo pueda presentar y más específicamente en cuanto al daño tubular hepático. Se utilizó la tabla de evaluación cualitativa del grado de severidad de daño tubular hepático (Morales 2013). El análisis en fresco se realizó dos veces durante el transcurso de la investigación.

Las pruebas realizadas se denotan a continuación: 9260. H. *Vibrio cholerae*, 9213. Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*, 9213. F. Técnica de tubos múltiples para *Pseudomonas aeruginosa*, 9215, recuento heterótrofo de placa: 9215 B. Método de placa fluida, metodología de bacteriología para el análisis de sensibilidad antimicrobiana de bacterias del género *Vibrio spp.* sometidas a los antibióticos: prueba de Kirby-Bauer y la metodología de bacteriología para el aislamiento, identificación y cuantificación de bacterias del género *Vibrio spp.*

2.3.6. Parámetros Biológicos.

Para medir la clorofila a se utilizó la metodología de Strinckland y Parson (1972) la cual fue citada y modificada de Navarrete (2015), en la cual se utilizó un equipo de filtración, y es necesario trabajar sin luz solar para proteger la muestra, conservar la muestra con hielo, filtrar con ayuda de bomba de vacío, homogenizar cada vez que

se agregue al filtro, la cantidad depende de la capacidad de saturación del filtro, la membrana doblada se colocó en papel aluminio debidamente etiquetada, el doblado no debe tocar el centro de la membrana, medir el volumen de agua filtrado, colocar en bolsa tipo Ziploc® y poner en congelador por 18-24 horas. Este se realizó en el laboratorio de microbiología del MEGATEC- La Unión. Al mismo tiempo se utilizó la Metodología para el análisis cualitativo y cuantitativo del fitoplancton presente en los estanques de camarón cultivado.

2.4. Metodología Estadística.

Para los parámetros físicos, químicos, biológicos, microbiológicos y productivos se utilizó la estadística descriptiva que trata con datos numéricos concretos que sirven de base al proceso estadístico de descripción; para esto se vale de la recolección, presentación, tabulación y análisis de resultados (Bonilla 1986). Para la interpretación de los resultados obtenidos se utilizó el índice del Estado Trófico (TRIX) y el Índice de Calidad de Agua (ICA), aplicando su fórmula y comparándolo con su cuadro de interpretación. Para la recopilación de datos se utilizó el programa de Microsoft Excel 2010®, para el análisis estadístico descriptivo de los resultados se utilizó el programa estadístico llamado InfoStat® y para medir la diferencia significativa entre los tratamientos se utilizó la prueba de T Student.

2.4.1. Prueba Estadística.

La prueba para el análisis de resultados fue la prueba estadística de “t” de Student, donde se comparan las medias y las desviaciones estándar de grupo de datos y se determina si entre esos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas o si sólo son diferencias aleatorias (Ramos 1999). La fórmula es:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma_p \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

Dónde:

t = valor estadístico de la prueba t de Student.

\bar{X}_1 = valor promedio del grupo 1.

\bar{X}_2 = valor promedio del grupo 2.

σ_p = desviación estándar ponderada de ambos grupos.

N_1 = tamaño de la muestra del grupo 1.

N_2 = tamaño de la muestra del grupo 2.

Ecuación para obtener la desviación estándar ponderada:

$$\sigma_p = \sqrt{\frac{SC_1 + SC_2}{N_1 + N_2 - 2}}$$

Dónde:

σ_p = desviación estándar ponderada.

SC = suma de cuadrados de cada grupo.

N = tamaño de la muestra 1 y 2.

2.4.2. Configuración de tratamientos y comparaciones.

Cuadro 1. Configuración de cada tratamiento.

Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
Estanque 10	Estanque 11	Estanque 12	Estanque 13
EPICIN PST + EPICIN G2	EPICIN PST + EPICIN G2	EPICIN PST + E9 [†]	EPICIN PST + E33 ⁺⁺

E91: Estanque 9, muestra 1 ++E33: Estanque 3, Muestra 3.

El cuadro 1 muestra la forma en que se configuraron los tratamientos que se evaluaron durante la investigación realizando las comparaciones en grupos de dos, para cual, se decidió comparar los resultados entre los tratamientos 1 – 4 y tratamientos 2 -3. Ya que, el objetivo de la investigación es medir la eficiencia de los probióticos a base de bacterias ácido lácticas nativas contra los estanques con probiotico comercial.

Las variables a las cuales se les aplicó la prueba de T Student se detallan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Variables de la investigación.

Variables	Unidad
Oxígeno disuelto	mg/l
Porcentaje de Saturación de oxígeno	%
Temperatura del agua	°C
pH	Log I H
Fosforo total	mg/l
Fosfatos	mg/l
Nitrógeno Total	mg/l
Nitratos	mg/l
Nitritos	mg/l
Sílice	mg/l
Clorofila a	mg/m ³
Turbidez	cm
Salinidad	mg/l
Alcalinidad	mg/l
Dureza	mg/l
Porcentaje de sobrevivencia	%
Población	Número de individuos
Biomasa	kg
Peso promedio del camarón	gr
Incremento de peso	gr
Factor de conversión alimenticia	adimensional

2.5. Estadística Económica.

Se efectuó una relación beneficio-costo que es el cociente de dividir el valor actualizado de los beneficios del proyecto (ingresos) entre el valor actualizado de los costos (egresos) (Pérez 2009). La fórmula es: $R B/C$: valor presente de los ingresos/ valor presente de los egresos. Para el proyecto se utilizó el costo de la larva, costo de la cosecha, costo de alimentación, pago de planilla, pago de combustible y los ingresos obtenidos de la venta de camarón blanco comparando dos estanque testigo con respecto a dos estanques que tenían similares condiciones, pero aplicando las bacterias ácido lácticas nativas para determinar si es rentable o no su utilización en la camaronicultura.

2.5.1. Análisis de dominancia.

Se realizó un análisis de dominancia, para determinar el tratamiento con los mejores resultados en cuanto al análisis de la relación beneficio costo, este propuso cuál de los tratamientos es dominado por la mejor rentabilidad al final de la investigación.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Caracterización e identificación de bacterias ácido lácticas y *Vibrio spp.* a partir de intestino y hepatopáncreas (HP).

Resumen de la caracterización probiótica.

Las cepas *Lactococcus lactis* (E33) y *Lactobacillus paracasei* (E91) fueron sometidas a prueba en agar sangre y el resultado fue positivo con hemólisis gamma en ambas, esto garantiza la inocuidad en ambas cepas y garantiza que no poseen potencial nocivo tanto para los camarones como para el ser humano. Además, estuvieron sometidas a diversas pruebas de laboratorio arrojando las siguientes propiedades: 1) amplia tolerancia a pH desde 4.0 hasta 10.0, 2) amplia tolerancia a la salinidad desde 0% a 10%, 3) no presentaron actividad proteolítica ni lipolítica extracelular, 4) alta capacidad de adhesión en pruebas *in vitro*, 5) alta actividad antimicrobiana contra *Vibrio parahaemolyticus* y aislado de hepatopáncreas de camarones de los estanques 3, 7,9 y 10. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados de las pruebas *in vitro* para determinar la factibilidad probiótica de las bacterias ácido lácticas nativas sometidas a evaluación.

PRUEBAS		MUESTRAS			
		E33	E72	E91	E107
Tinción Gram		+	+	+	+
Hemolisis		γ	γ	γ	γ
Conteo UFC/ml		6.00E+08	1.00E+06	5.00E+08	6.50E+08
Tolerancia a pH		4 - 10	5 - 10	4 - 10	4- 10
Tolerancia a Salinidad		0% - 10%	0% - 6%	0% - 10%	0% - 7%
Actividad enzimática	Degradación de la caseína	NDS	NDS	NDS	NDS
	Degradación de la gelatina	NDS	NDS	NDS	NDS
	Degradación del Tween 80	NDS	NDS	NDS	NDS
Adhesión a solventes	% de adhesión a cloroformo	60.91	57.82	82.11	57.37
	% de adhesión a tolueno	70.32	52.12	65.47	59.02
	% de adhesión a xileno	55.24	35.52	54.64	45.20
Actividad antibacteriana (mm)		14.0	7.0	15.0	7.0
Identificación según API HCL50		<i>Lactococcus lactis</i> ssp	<i>Lactococcus lactis</i> ssp	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp

Fuente: Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador 2016.

3.2. Índice de Estado Tráfico (TRIX, por sus siglas en ingles)

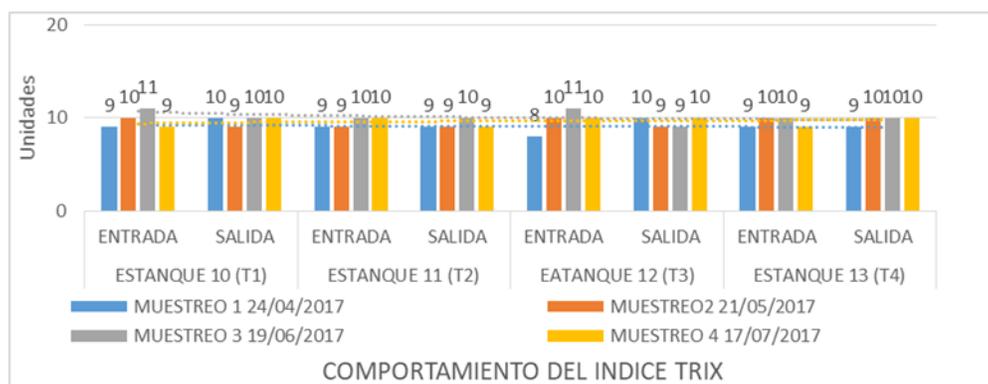


Figura 1. Comportamiento del Índice de Estado Tráfico para los muestreos de entrada y salida en los diferentes estanques.

Como se observa en la figura 1, el comportamiento del índice de estado tráfico muestra un comportamiento homogéneo en sus valores oscilado entre los valores de 9 a 10, mostrando algunos registros donde se advierten valores de 8 y 11 para el primer y tercer muestreo de entrada para el estanque 12; así como para el estanque 10 en el tercer muestreo con un valor de 11, siendo este su mayor registro.

Discusión de resultados del Índice de Estado Tráfico (TRIX) para los comparativos T1-T4 y T2-T3.

Los promedios del índice TRIX para los estanques se encuentran con valores de T1=9.75, T2= 9.3, T3= 9.6 y T4=9.6, lo cual nos indica que las aguas son Hipertróficas, es decir que el agua es altamente productiva con calidad pobre para el consumo humano. Estos datos altamente superiores a los registrados por Escobedo (2010), para el sistema lagunar de costero (San Ignacio- Navachiste – Macupule) en México con un valor de 5.43, mientras su análisis de los registros del Golfo de California en 2003 indican un valor de 6.2. Por otra parte lo registrado por Murrillo *et al* (2008), presentan un Sistema lagunar costero en Chile con valores <3.0 para el TRIX, valor ampliamente inferior a lo registrado por la investigación; al igual que lo registrado por Barraza – Guardado *et al* (2014), con promedios en distintas granjas con valor de 4.2, 3.3 y 3.6 de índice TRIX. Al mismo tiempo Castillo (2013) Reporta un rango de oscilación que desde 1 a 2.5 y Niola (2017), con un promedio de 4.2.

La diferencia del tipo de agua que el índice TRIX manifiesta en las investigaciones citadas, puede deberse a que la camaronera que se utilizó en el presente estudio se encuentra al final de la zona manglar y ahí es donde se dirigen todas las aguas residuales provenientes de las parcelas agrícolas de la zona, revelando el pobre estado del agua para el consumo humano.

3.3. Índice de la Calidad de Agua (ICA)

El estero de Jaltepeque posee un área extensa como cuerpo de agua, y puesto que la “Camaronera Las Ánimas” se encuentra ubicada dentro de este, se tomaron cuatro puntos de muestreo para determinar la calidad del agua, siendo estos los estanques en estudio. Para el cálculo del ICA se muestrearon las compuertas de entrada y salida de los estanques en estudio, determinando la calidad de agua que entra y sale. Este ICA permitirá reflejar las condiciones reales en que se encuentran las aguas que se utilizan para la crianza de camarones en dicha zona.

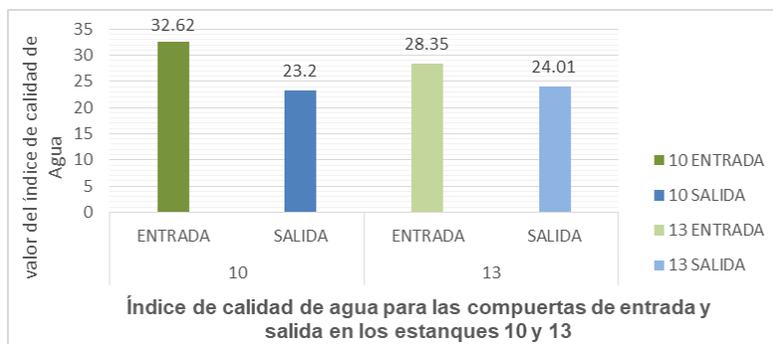


Figura 2. Comparación del valor ICA para entrada y salida en los T1 y T4.

La figura 2 muestra el comportamiento de los valores ICA para los T1 y T4, mostrando que la calidad del agua para el T1 posee mayor variación entre el agua que entra y se desaloja al estero, generando mayor deterioro a las condiciones del agua del estero, mientras que la variación del T4 es mínima con respecto al agua que entra y se desaloja al estero.

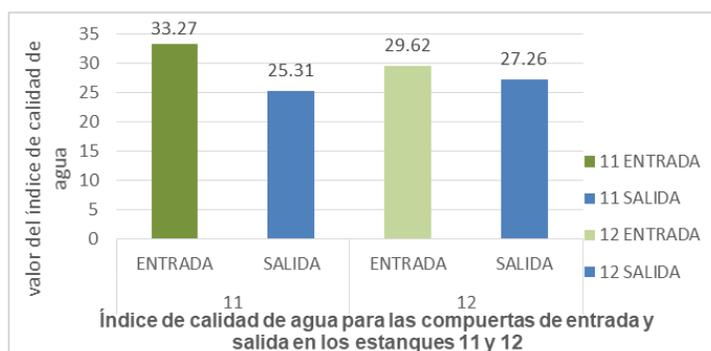


Figura 3. Comparación del valor ICA para entrada y salida en T2 y T3.

La figura 3 muestra la diferencia que se produce en la calidad del agua en los estanques, denotando que existe una mayor diferencia en el ICA de entrada en el T2 con el registro de salida, además se puede observar que el T3 (*Lactobacillus paracasei*) registra una variabilidad baja con respecto a ambos muestreos.

Índice de la calidad del agua general.

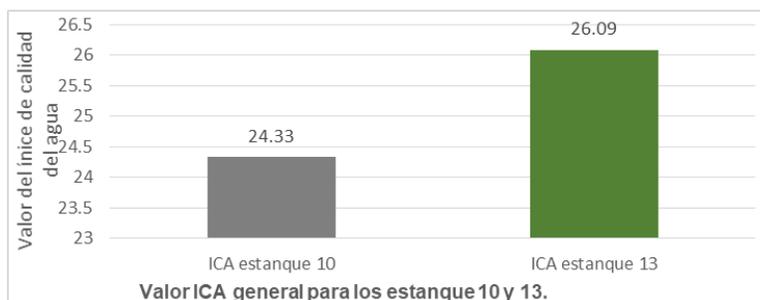


Figura 4. Comparación del valor ICA para los T1 y T4.

La figura 4 muestra que el valor ICA para el T4 es 1.76 unidades del valor ICA mayor por lo registrado por el T1, aunque ambos estanques clasifican sus aguas como pobres el *Lactococcus lactis* genera mejores condiciones en la calidad del agua.

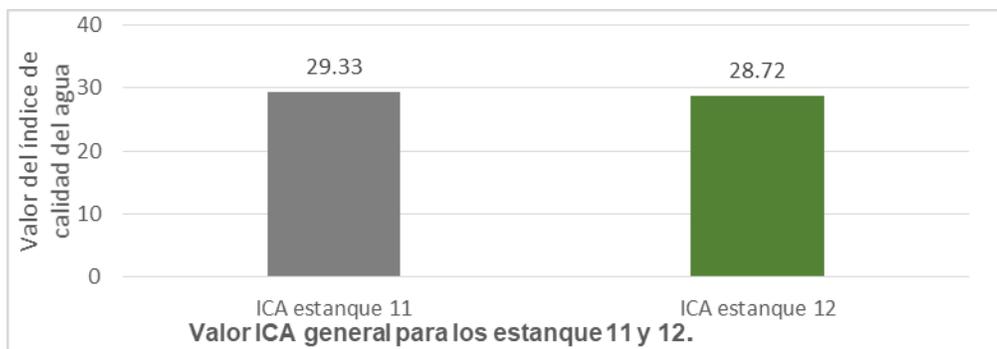


Figura 5. Comparación del valor ICA para los T2 y T3.

La figura 5 muestra el comportamiento general del valor ICA entre los T2 y T3, mostrando que aunque las aguas se clasifican como pobres, el T3 genera condiciones que favorecen los parámetros de la calidad del agua, debido a la utilización de la bacteria *Lactobacillus paracasei*. Mostrando una mínima diferencia.

Discusión de resultados del Índice de Calidad de Aguas (ICA) para los comparativos T1-T4 y T2-T3.

Los valores del ICA obtenidos para los tratamientos testigos (T1 y T2) y los tratamientos con bacteria nativa (T3 y T4) registraron valores de 24.33, 29.33, 26.09 y 28.72 respectivamente, por medio de la fórmula canadiense ICA CCME y la tabla Canadian Council of the Environment, 2001, las cuales clasifican las aguas de los estanques como “Pobres”, esta clasificación varía con la interpretación propuesta por el SNET y MARN, ya que ellos clasifican las aguas según la interpretación de la tabla propuesta por Lobos (2002) citado en el informe del MARN para la clasificación de las aguas de El Salvador (MARN, s.f.).

Obteniendo que para esta interpretación los tratamientos T2, T3 y T4 clasifican sus aguas como “Malas”, lo cual indica que pueden solamente apoyar una diversidad baja de la vida acuática y están experimentando probablemente problemas con la contaminación (MARN, s.f.) y el T1 se clasifica como “Pésima”. Según la información que presenta el MARN (2017), en el puesto de monitoreo del río San Antonio en el límite de San Vicente y la Paz la calidad del agua se encuentra con un valor ICA de 68, la cual clasifica a las aguas como “Regular”. Contrastando con los registros de cada estanque, por otra parte en el mismo estudio el MARN clasifica en general las aguas de la zona del Estero de Jaltepeque con el rango de agua “Mala”, generando concordancia con la información presentada por esta investigación. Por otra parte según MARN- BID (2006) se clasificaron las aguas del Río San Antonio, el cual es el punto de monitoreo más cercano a la granja, con un valor general del ICA para aguas superficiales de 33.35, contrastando con los valores de la investigación los cuales muestran un deterioro de la calidad del agua con el tiempo; esto puede afirmarse con el informe presentado por el MARN (2013), el cual clasifica las aguas para el periodo comprendido entre 2012 – 2013 como agua “Regular”. Se puede agregar que según el informe del MARN (2012), para Zacatecoluca solo el 7% de las localidades de este municipio cuenta con el registro de aguas pésimas, debido a la contaminación de las zonas agrícolas y el mal manejo de los desechos.

3.4. Análisis Económico

El cuadro 4 muestra el costo y los beneficios de campo que se consideraron para la investigación por tratamiento, generando los datos siguientes.

Cuadro 4. Costos por tratamientos en los estanques evaluados en la investigación.

Presupuesto	Estanque 10 (T1)	Estanque 11 (T2)	Estanque 12 (T3)	Estanque 13 (T4)
Camarón producido(Kg)	17,962.72	13,794.09	14,361.36	12,670.00
BENEFICIO BRUTO DE CAMPO	\$103,537.16	\$85,275.07	\$86,886.25	\$69,127.52
COSTOS QUE VARIAN				
EPICIN G2	\$27,240.00	\$21,720.00		
EPICIN PST	\$769.11	\$769.11	\$769.11	\$769.11
NUPRO®	\$36.53	\$36.53	\$456.92	\$456.92
FOSFATO DI BASICO	\$1.65	\$1.65	\$55.00	\$46.09
AZÚCAR	\$23.21	\$23.21	\$284.99	\$284.99
TINACOS	\$384.00	\$384.00	\$528.00	\$528.00
AGUA DESTILADA			\$18.65	\$18.65
CALDO RMS			\$197.75	\$197.75
SAL DE ACUARIO			\$68.75	\$68.75
PEPTONA BUFERADA			\$13.50	\$13.50
SULFATO DE MAGNECIO			\$3.28	\$3.28
COLORO			\$3.05	\$3.05
TIOSULFATO DE SODIO			\$11.91	\$11.91
HARINA DE SOYA			\$158.90	\$158.90
GARRAFONES			\$46.80	\$45.80
GUACALES GRANDES			\$39.00	\$39.00
OLLA DE PRESIÓN			\$37.20	\$37.20
KIT PROBADOR DE AGUA			\$3.90	\$3.90
ALCOHOL			\$88.14	\$88.14
AGITADOR DE VIDRIO			\$6.00	\$6.00
CRITALERIA			\$512.24	\$512.24
ESPATULAS, COLADORES EMBUDOS Y OTROS			\$265.30	\$265.30
BOLSAS, CUCHARAS Y GUANTES			\$53.06	\$53.06
BOMBA DE OXIGENO COMPLETA			\$39.24	\$39.24
CILINDRO DE OXIGENO Y RECARGA			\$114.30	\$114.30
SET CAJAS PETRI (500 UNIDADES)			\$93.85	\$93.85
TARJETAS TOMA DE MUESTRA			\$45.20	\$45.20
HIELERA Y BOTELLAS DE HIELO			\$107.60	\$107.60
OBTENICION DE BACTERIAS NATIVAS (LABORATORIO)			\$50.00	\$50.00
Preparación de los estanques	\$ 601.28	\$ 434.26	\$ 475.08	\$ 391.57
Costo de la Larva	\$ 8,048.92	\$ 5,827.68	\$ 6,355.96	\$ 5,249.44
Alimentación (Quintales de concentrado)	\$32,901.71	\$27,108.03	\$32,908.64	\$29,206.42
Antibiótico (OxiBlen®)	\$ 1,563.56	\$ 1,129.24	\$ 1,235.40	\$ 1,018.24
Combustible utilizado	\$ 9,023.82	\$ 6,517.20	\$ 7,129.93	\$ 5,876.62
Mantenimientos de maquinarias, equipos y vehículos	\$ 4,699.40	\$ 3,394.00	\$ 3,713.11	\$ 2,960.42
Mantenimiento de la infraestructura	\$ 2,459.19	\$ 1,776.09	\$ 1,943.06	\$ 1,701.51
Equipos de laboratorio y oficina	\$ 472.26	\$ 341.08	\$ 373.15	\$ 307.55
<i>Salarios, comisiones, vacaciones y Aguinaldos</i>	\$ 4,220.69	\$ 3,334.87	\$ 2,748.66	\$ 3,048.28
TOTAL DE LOS COSTOS QUE VARIAN	\$92,445.33	\$72,796.95	\$60,954.63	\$53,821.78
RELACION BENEFICIO COSTO				
GANANCIA O INGRESOS ADICIONALES	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
DISMINUCIÓN DE COSTOS	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
TOTAL DE INGRESOS ADICIONALES	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
COSTOS ADICIONALES				
COSTOS ADICIONALES (PRUEBAS DE LABORATORIO PARA CALIDAD DE AGUA)	\$1,660.00	\$1,660.00	\$1,660.00	\$1,660.00
DISMINUCIÓN DE LOS INGRESOS	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
TOTAL DE LOS COSTOS ADICIONALES	\$1,660.00	\$1,660.00	\$1,660.00	\$1,660.00
TOTAL DE BENEFICIO DE CAMPO - INGRESOS ADICIONALES	\$103,537.16	\$85,275.07	\$86,886.25	\$69,127.52
TOTAL COSTOS QUE VARIAN - COSTOS ADICIONALES	\$94,105.33	\$74,456.95	\$62,614.63	\$55,481.78
BENEFICIO NETO	\$9,431.83	\$10,818.12	\$24,271.62	\$13,645.74

De acuerdo a la información del cuadro anterior los costos que generó los tratamientos, se denota que el T1 generó \$94, 105.33 de gasto, siendo este el mayor valor, y un valor de venta por kilogramo de \$5.764, generando \$103, 537.16; para el T2 el valor de gasto de \$74, 456.95 y un valor de venta kilogramo de \$6.182, generando \$85, 275.07; el T3 generó un costo de \$62, 614.63, con un valor de venta por kilogramo de \$6.05, generando \$86, 886.25 y el T4 mostro un gasto de \$55,481.78, un valor de venta por kilogramo de \$5.456, generando \$69,127.52.

Análisis de Dominancia

T1= \$9, 431.83 }
 T4= \$13, 645.74 } \$4, 213.91 a favor de T4

T2= \$10, 818.12 }
 T3= \$24, 271.62 } \$13, 453.50 a favor de T3

Como muestra el análisis de dominancia entre T1 y T4 la mejor rentabilidad se muestra a favor de T4 con \$4,213.91 más que el T1; mientras para los T2 y T3 muestra una rentabilidad a favor del T3 con \$13,453.50 más que el T2.

Relación Beneficio – Costo

Cuadro 5. Relación Beneficio-Costo.

TRATAMIENTOS	Costo de los tratamientos	Beneficio de campo	Beneficio costo
Estanque 10 (T1)	\$94,105.33	\$103,537.16	1.10
Estanque 11 (T2)	\$74,456.95	\$85,275.07	1.15
Estanque 12 (T3)	\$62,614.63	\$86,886.28	1.39
Estanque 13 (T4)	\$55,481.78	\$69,127.52	1.25

El cuadro 5 muestra que la relación de retorno con respecto al costo y precio de venta, denotando que por cada dólar invertido para el T1 se retorna \$1.10, para el T2 por cada dólar invertido habrá un retorno \$1.1, para el T3 por cada dólar invertido habrá un retorno de \$1.39 y para el T4 al invertir un dólar retornara \$1.25; mostrando que los tratamientos de *Lactobacillus paracasei* y *Lactococcus lactis*, muestran el mayor retorno con respecto a los tratamientos con EPICIN G2.

4. CONCLUSIONES

El *Lactococcus lactis* y el *Lactobacillus paracasei* aisladas del tubo digestivo de los camarones cultivados en el estanque 3 y estanque 9 están dentro de la lista de bacterias que se pueden utilizar como probióticas en el cultivo de camarones en estanques.

El *Lactococcus lactis* y el *Lactobacillus paracasei* utilizadas como probióticos, se comportaron inocuos. Además es importante resaltar que su aplicación en el alimento no altero el sabor de este, y no se dio una interacción con las bacterias utilizadas como biorremediador en el agua.

El estudio comprendió el análisis del Índice del Estado Trófico (TRIX) con muestras tomadas, en el periodo seco y dos meses de la época lluviosa; en ambos periodos de muestreos se puede concluir que las aguas de los adyacentes a la camaronera Las Animas

están en estado permanente de eutrofización, muy alto en productividad primaria y agua de calidad pobre.

El análisis de Calidad de Agua (ICA), determinó que la calidad del agua de los adyacentes a la camaronera Las Animas (compuerta de entrada) es de calidad pobre; mientras las aguas que se desalojan (compuerta de salida) a los canales del complejo de Jaltepeque no varían en la clasificación de calidad con respecto a las aguas de entrada.

Al realizar la sustitución de tratamientos con probióticos comerciales (EPICIN G2) por tratamientos con bacterias ácido lácticas nativas (*Lactobacillus paracasei* y *Lactococcus lactis*) se produjo un ahorro de \$50,465.87 en gastos de producción. Al utilizar bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus paracasei* y *Lactococcus lactis*) se obtuvo una ganancia de \$17,667.41, sobre lo generado por los tratamientos control (EPICIN G2).

5. RECOMENDACIONES.

Continuar con la aplicación de los probióticos derivados de las bacterias ácido lácticas nativas (*Lactobacillus paracasei* y *Lactococcus lactis*) en la camaronera “Las Ánimas” y que se analicen los beneficios ambientales que esto constituye a largo plazo, en la zona de influencia y en la productividad de la granja.

Utilizar probióticos a base de bacterias ácido lácticas nativas, que incluyan *Lactobacillus paracasei* (E91) y *Lactococcus lactis* (E33) en granjas de otros productores.

A las Facultades de Química y Farmacia, Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador (UES) y el MEGATEC La Unión, que continúen con la investigación de microorganismos con potencial probiótico y biorremediador.

Al MEGATEC La Unión y a la camaronera Las Ánimas que investigue otras fuentes de proteínas para la replicación de bacterias ácido lácticas nativas para mejorar la eficiencia así como reducir los costos.

A la camaronera Las Anima hacer uso del muestreo transepto para la determinación de la población en los estanques, y al mismo tiempo llevar registros más detallados para los parámetros físico, químicos, microbiológicos y biológicos de la granja.

6. BIBLIOGRAFIA.

APHA (American Public Health Association, United States); AWWA (American Water Works Association, United States); WPCF (Water Pollution Control Federation, United States).1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Cuento de bacterias heterótrofas, Identificación y cuantificación de *Vibrio* sp y *Pseudomonas* sp, fósforo total, nitrógeno total, amonio, nitrato, nitrito, alcalinidad, dureza y sílice. 17 ed. Diorki, Madrid, ES. p. 9-63, 9-64,9-167, 4-187, 4-162,4-140,4-149,4-145,2-38,2-57, 4-204.

Aquafeed. 2013. El papel de la biorremediación en el manejo de la calidad del agua. La biorremediación en la acuicultura. (En línea).AT. Consultado 6 oct 2014. Disponible en: <http://aquafeed.co/el-papel-de-la-biorremediacion-en-el-manejo-de-la-calidad-del-agua/>

- Barraza-Guardado, R.H; Martínez-Córdova, L.R; Enríquez-Ocaña, L.F; Martínez-Porchas, M; Miranda-Baeza, A; Porchas-Cornejo, M.A.** 2014. Effect of shrimp farm effluent on water and sediment quality parameters off the coast of Sonora, México. *Ciencias Marinas*, Universidad Autónoma de Baja California Ensenada, México. Vol. 40, núm. 4, 2014, pp. 221-235
- Bonilla, G.** 1986. *Estadística. Elementos de estadística descriptiva y probabilidades*. UCA editores. Antiguo Cuscatlán, SV. 375 p.
- Castillo Duran, J.** 2013. Aspectos Biológicos y Ecológicos de Almeja Negra *Chione fluctifraga* (Sowerby, 1853). Doctor en Ciencias. Baja California. México. Centro de Investigación Biológicas del Noroeste (CIB). 42-47p.
- Cuellar-Ángel, Lara, C; Morales, V; De Gracia, A; García Suarez, O.** 2010. Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Manejo de enfermedades de camarones. Panamá, PA. OIRSA-OPESCA. p.64.
- Chávez Rigal, J.** 2008. Manual probióticos de tilapia y camarones. 1(1): 32 – 3.
- Escobedo Urias, D; Méndez Lozano, J.** 2009. Impacto de los efluentes Acuícolas sobre la calidad ambiental de una laguna costera del Norte de Sinaloa. Sinaloa. México. Instituto Politécnico Nacional (IPN). 10-19p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia).** 2006. Programa de información de especies acuáticas. *Litopenaeus vannamei*. (En línea). Consultado 6 oct 2014. Disponible en: http://www.fao.org/fishey/culturedspecies/Litopenaeus_vannamei/es
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, El Salvador).** 2012. Clasificación de suelos por división política de El Salvador, C.A. Clasificación de suelos por división política del departamento de La Paz, El Salvador. Dirección General de Ordenamiento Forestal, Cuencas y Riego. Santa Tecla, El Salvador. Pág. 37.
- MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales).** 2012. Informe de labores. San Salvador. El Salvador. MAR. 58-65p.
- MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, El Salvador).** 2013. Informe de labores. San Salvador. El Salvador. MAR. 23-76p.
- MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, El Salvador).** 2017. Informe de Calidad del agua de los ríos de El Salvador. Katan, C; Mena, Z; Amaya Grande, L; Aguirre, J; Péñate, Y. San Salvador. El Salvador. MAR. 36-79p.
- MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, El Salvador).** sf. Índice de calidad de Agua ICA. SNET (Sistema Nacional de estudios Territoriales). San Salvador. El Salvador. 1-4p.
- MARN (Ministerio de Recursos Naturales y Medio Ambiente, El Salvador), BID (Banco Interamericano de Desarrollo, Estados Unidos).** 2006. Informe Final Diagnóstico Nacional de la Calidad Sanitaria de las Aguas Superficiales de El Salvador. San Salvador. El Salvador. Ministerio de Recursos Naturales y Medio Ambiente. 78 – 88p.
- Morales Covarrubias, MS.** 2010. Enfermedades del camarón. Camarón: Análisis en fresco, Herramienta de diagnóstico. Muestreo Aleatorio. México D.F, MX. Trillas. p. 15 – 22; 85.
- Morales, R.** 2013. Características técnicas de los sistemas de producción del camarón del cultivo en El Salvador. Santa Tecla, SV. p. 3.
- Murillo, Haro, V. M; Fábregas, L. F; Paredes Iturrieta, N; González Maier, R; Oyarzún Vera, M.** 2008. Programa y análisis de información biológica y oceánica, obtenida a través del Programa de Sanidad de Moluscos bivalvos. Chile. Instituto de Formación Pesquera. 76 – 100 p.
- Navarrete Soriano, A.** 2015. Protocolo de levantamiento de masivo y reporte de análisis de antibióticos. La Unión, SV. MEGATEC. s.p.

Navarrete Soriano, A. 2017. Manual para el uso de EPICIN PST y EPICIN G2 de la marca EPICORE® con el propósito de Biorremediación validado en el cultivo de camarón marino en El Salvador. La Union. El Salvador. ITCA- FEPADE, MINED (Ministerio de Educación), MEGATEC, La Union.

Navarrete Soriano, A. 14 de octubre. 2017. Elaboración y análisis de tablas para tesis de probióticos. (Mesa Redonda). Santa Tecla. La Libertad. MEGATEC, La Union.

Niola Morocho, A. 2017. Revisión de sistemas combinados de micro y macro organismos como alternativa tecnológica para el tratamiento de efluentes de granjas camaroneras. Ingeniero Acicala. Machala. Ecuador. Universidad Técnica de Machala (UTMACH). 5-8p.

Pérez, L.2009. Formulación y evaluación de proyectos productivos de inversión. Relación Beneficio Costo (R B/C). (En línea). Consultado 5 sept 2015. Disponible en: <http://www.agroproyectos.org/2013/08/relacion-beneficio-costo.html>

Ramos Plaza, ER.1999.Psicología para estudiantes. Prueba t de Student. México D.F., MX.s.p.

Rico, MA.1974.Las nuevas clasificaciones y los suelos de El Salvador. Suelos Grumosoles (Vertisoles).Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. San Salvador, El Salvador. Editorial Universitaria. Pág. 19-20.

Salazar Fiallo, J.2013.Microorganismos para Bioremediacion.1 (10): 29- 33.

The MERCK group.s.f.Microbiology Manual. MRS Agar (*Lactobacillus* Agar acc.To De MAN, ROGOSA and SHARE), Darmstadt, Alemania.pag 354-355.

7. AGRADECIMIENTOS.

A los docentes directores, al personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador (UES), al personal del laboratorio de Microbiología y Fisicoquímico de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador (UES), a los estudiantes del laboratorio de Microbiología del MEGATEC La Unión y al personal de la camaronera Las Animas.