

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS



“Determinación de minerales en el hábitat del camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) y su relación con la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB), en el Noroeste de México”.

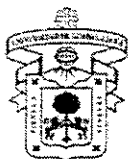
**TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE TESIS QUE PARA
OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A:**

Jesús Ramírez Jiménez

DIRIGIDA POR:

DR. RAFAEL DE LEON SÁNCHEZ

Las Agujas, Zapopan, Jalisco Julio de 2013.



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología

COORD-BIO-122/2012

C. JESÚS RAMÍREZ JIMÉNEZ
PRESENTE

Manifiestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción: Tesis, con el título "Determinación de minerales en el hábitat del camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) y su relación con la enfermedad de las manchas blancas (EMB), en el noreste de México", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como director(a) de dicho trabajo al Dr. Rafael León Sánchez y como asesor/a(s) a: Dr. Juan Manuel Moreno Martínez y al Dr. Juan Jesús Roa Vidat..

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 02 de julio. del 2012.



DRA. TERESA DE JESÚS AGEVES ESQUIVIAS
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Verónica Palomera Cto
M.C. VERÓNICA PALOMERA AVALOS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dra. Georgina Quiroz Rocha.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología.
 CUCBA.
 Presente

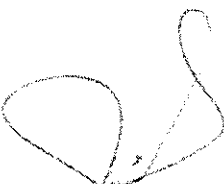
Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad TESIS EINFORME, opción: Tesis con el título: "Determinación de minerales en el hábitat del camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931)" y su relación con las manchas blancas (EMB), en el noreste de México que realizó el/la pasante Jesús Ramírez Jiménez con número de código 300388114 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.


Atentamente
 Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 17 de Junio, del 2013.



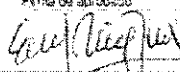

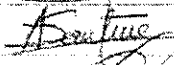
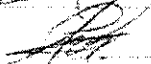
 Dr. Rafael León Sánchez.
 Director del Trabajo



 Dr. Juan Moreno Martínez
 Asesor



 Dr. Juan Jesús Roa Vidal
 Asesor

Nombre completo de los Sñodes/as asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobación	Fecha de aprobación
Dr. Eduardo Ríos Jara		21/06/2013
Mc. Eduardo Juárez Carrillo		18/06/2013
Dra. Anne Marguerite Helene Santerre		18/06/2013
Supl. Mc. Martín Pérez Peña		21/06/2013



Índice

Contenido.

	Página
Índice de Figuras.....	i
Índice de Graficas.....	ii
Índice de Tablas.....	iii
Índice de Anexos.....	iv
Índice de Cuadros.....	v
Índice de Tablas.....	vi
Agradecimientos.....	vii
I. Resumen.....	1
II. Antecedentes.....	2
III. Planteamiento del Problema.....	11
IV. Objetivos.....	11
4.1. Objetivos específicos.....	11
V. Hipótesis.....	11
VI. Material y Métodos.....	16
6.5. Toma de Muestras.....	13
6.5.1. Agua de Superficie.....	17
6.5.2. Agua de Fondo.....	18
6.5.3. De Sedimento.....	18
6.5.4. De Alimento.....	18
6.5.5. Análisis Bromatológico.....	18
6.5.6. De Organismos.....	18
6.6. Manejo de las Muestras.....	20
6.7. Análisis de Laboratorio.....	20
6.8. Análisis Estadístico.....	20
VII. Resultados y Discusión.....	21
7.1. Agua de Superficie.....	22
7.2. Agua de Fondo.....	24
7.3. Sedimento.....	30
7.4. Organismos.....	40
7.5. Alimento.....	43

7.6. Análisis de Resultados PCR.....	49
7.7. Análisis de Resultados Estudio Histopatológico	51
7.8. Relación de hallazgos con la Enfermedad de las Manchas Blancas.....	52
VIII. Conclusiones.....	57
IX. Recomendaciones.....	58
X. Anexos.....	59
XI. Referencia Bibliográfica.....	71

Índice de Figuras

Página

Figura 1. Microscopía electrónica del virus de la mancha blanca (WSSV). Tomado de <i>Diagnosis of Shrimp Diseases</i> , FAO y Multimedia Asia Co. 1999.....	6
Figura 2. Signos clínicos de la presencia de la EMB en camarón blanco <i>L. vannamei</i> : (a) enrojecimiento por expansión de cromatóforos; (b) acumulaciones de carbonato de calcio en la parte interna del exoesqueleto de la región cefalotoraxica, y (c) organismo con signos clínicos avanzados de la enfermedad en la que se observa enrojecimiento por expansión de cromatóforos y las acumulaciones de carbonato de calcio en la parte interna del exoesqueleto. Tomadas de: (a) Morales-Covarrubias (2004), (b) y (c) Morales y Cuéllar-Anjel (2008).....	7
Figura 3. Características externas de la especie camarón blanco <i>L. vannamei</i> .	
Figura 4. Material de muestreo: (a) Recipientes de plástico con capacidad de 3.75 litros para las muestras y calador para sacos de alimento; (b) Reactivos para la fijación de las muestras (alcohol etílico al 96° y formol al 10%) y bomba de succión para toma de muestras de agua de fondo, y (c) GPS.....	13
Figura 5. Ubicación del área de estudio.....	14
Figuras 6 y 7. Cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina, y la tinción para polisacáridos de Azul Alcían PAS, en donde: (a) Se observa un corte transversal a nivel medio de un camarón que estuvo consumiendo alimento con balance negativo de Mg, en él se aprecian nódulos de calcio teñidos de color purpura, y (b) corte transversal a nivel medio de un camarón que estuvo consumiendo alimento con balance positivo de Mg, donde no se aprecian nódulos de Calcio.	49

Índice de Graficas

	Página
Gráfica 1. Comportamiento de la producción nacional de camarón por acuicultura y valor de la producción.....	2
Gráfica 2. Análisis de resultados de PCR con mortalidad.....	17
Gráfica 3. Comparación de los requerimientos de K y Mg contra los niveles encontrados en los alimentos muestreados (% en Base Seca).....	20

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Tabla 1. Clasificación de los Minerales en las Dietas para Organismos Acuáticos	21
Tabla 2. Requerimiento de minerales en la dieta de camarones (Tacón, 1987).....	44

Índice de Anexos

	Página
Anexo 1.1. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales en Organismos.....	60
Anexo 1.2. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales en Alimento.....	61
Anexo 1.3. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales en Alimento.....	62
Anexo 1.4. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales Sedimento en el Estanque.....	63
Anexo 2. Técnica de Tinción Histológica de Azul Alcian de PAS Utilizada para teñir nódulos de calcio en tejidos de camarón.....	64
Anexo 3. Técnica molecular recomendada por la Organización Internacional de Epizootias (OIE) para realizada la determinación de la enfermedad de las Manchas Blancas.....	65

Índice de Cuadros

	Página
Cuadro 1. Relación de muestras colectadas.....	15
Cuadro 2. Relación de número y distribución de las muestras tomadas.....	19
Cuadro 3. Relación de análisis de concentración de minerales realizado.	20
Cuadro 4. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el agua de superficie.....	22
Cuadro 4.1 Análisis de minerales encontrados en el agua de superficie.....	23
Cuadro 5.1. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el agua de Agua de Fondo.....	24
Cuadro 5.1.2. Análisis de minerales encontrados en el agua de Fondo.....	25
Cuadro 5.2. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el agua de Agua de Fondo.....	26
Cuadro 5.2.1. Análisis de minerales encontrados en el agua de Fondo.....	27
Cuadro 5.3. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el agua de Agua de Fondo.....	28
Cuadro 5.3.1. Análisis de minerales encontrados en el agua de Fondo.....	29
Cuadro 6.1. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el Sedimento	30
Cuadro 6.1.1. Análisis de minerales encontrados en el Sedimento.....	31
Cuadro 6.2. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el Sedimento	32
Cuadro 6.2.1. Análisis de minerales encontrados en el Sedimento.....	33
Cuadro 6.3. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el Sedimento	34
Cuadro 6.3.1. Análisis de <i>minerales</i> encontrados en el Sedimento.....	35

Cuadro 7. Resultados de Análisis de Correlación entre contenido de minerales en agua de superficie y agua de fondo.....	39
Cuadro 8 Análisis de regresión lineal de micro-minerales en los diferentes sustratos del habitat, con algunos signos observados de la EMB.....	40
Cuadro 9.1. Resultados de la concentración de minerales encontrados en Organismos.....	41
Cuadro 9.1.1. Análisis de minerales encontrados en Organismos.....	42
Cuadro 10.1. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el Alimento	43
Cuadro 10.1.1 Análisis de minerales encontrados en el Alimento.....	44
Cuadro 10.2. Resultados de la concentración de minerales encontrados en el Alimento	45
Cuadro 10.2.1 Análisis de minerales encontrados en el Alimento.....	46
Cuadro 11. Resultados de laboratorio para PCR.....	48
Cuadro 12. Resultados de Histopatología para nódulos de calcio.....	49
Cuadro 13. Análisis estadístico para la correlación de la mortalidad con los macro-minerales encontrados.....	52
Cuadro 14. Evaluación estadística entre el excedente de potasio encontrado en los alimentos y la relación Calcio-magnesio del mismo, contra algunos síntomas de la EMB.....	54
Cuadro 15. Correlación del Balance de Magnesio y PCR con signos de la EBM.....	54
Cuadro 16. Análisis estadístico para demostrar la relación entre los alimento y los signos y síntomas observados en la EMB.....	55
Cuadro 17. Análisis estadístico que relaciona el índice de mortalidad observado en las granjas con las marcas comerciales de alimentos balanceados muestreados en éste estudio.....	55

Agradecimientos.

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial al MVZ. Gerardo Villanueva y al Dr. Rafael León Sánchez mi director de esta investigación, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continua de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años.

Especial reconocimiento merece el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas del profesor y amigo MC. Eduardo Juárez Carrillo, con quien me encuentro en deuda por el ánimo infundido y la confianza en mí depositada. También me gustaría agradecer a mis sinodales por la ayuda recibida, la Dra. Anne Marguerite Helene Santerre y el Dr. Eduardo Ríos Jara.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros de trabajo del Comité de Sanidad Acuicola de Jalisco, especialmente al presidente de este organismo el MVZ. Gabriel Mora Gutiérrez, y a una gran amiga la Biól. Guadalupe Morales Cervantes, por su paciencia y apoyo en las dificultades presentadas en el camino.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de mis padres, quienes me apoyaron en todo momento y a quienes dedico el presente trabajo.

A todos ellos, muchas gracias.

I. Resumen

La acuicultura, en especial la camaronicultura por su demanda en los mercados nacionales e internacionales, ha tenido un creciente desarrollo, a la par de esto la especie cultivada *Litopenaeus vannamei* se enfrenta a una serie de problemas patológicos que se atribuyen generalmente a virus, bacterias, hongos, protozoarios y enfermedades causadas generalmente por una deficiente alimentación. Una de las más impactantes es la llamada Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB) atribuible a un agente viral. En observaciones clínicas esta patología denota una similitud en sintomatologías causadas por enfermedades metabólicas como la hipomagnesemia.

Para la realización de este estudio se recolectaron muestras en 30 granjas distribuidas en cuatro estados del Noroeste de México, con un total de 2,310 pruebas de laboratorio: se analizaron los macro y micro-minerales de los diferentes sustratos del hábitat del camarón (agua superficial, agua de fondo y sedimento), así como alimento comercial y organismos (camarones), donde a estos últimos se les realizó estudios de Histopatología y de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR punto final).

Los resultados obtenidos demuestran que los "Alimentos Balanceados" presentan una relación altamente significativa en todos los signos relacionados con la EMB. Por lo que se establece que existe un desbalance de minerales en el hábitat del camarón de cultivo específicamente una deficiencia de magnesio (Mg) por exceso de potasio (K) en el alimento, y esto es un factor predisponente para la manifestación de patologías de diversa índole, incluyendo la EMB. Por el gran número de variables que resultaron involucradas, es necesario ampliar el número de observaciones durante todo el proceso de cultivo.

Palabras clave: *L. vannamei*, desbalance de minerales, hábitat del camarón, EMB

“Determinación de minerales en el hábitat del camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) y su relación con la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB), en el Noroeste de México”.

II. Antecedentes

La acuicultura es el sector de alimentos con mayor crecimiento en las últimas dos décadas y se espera que esta tendencia continúe en el futuro, (Shamshak y Anderson, 2011).

A nivel mundial, el sector productivo que más ha crecido en las últimas décadas es la industria del cultivo de camarones peneidos. A partir de 1980 este tipo de cultivo ha presentado un desarrollo expansivo, pasando de alrededor de 50,000 toneladas en ese año hasta 3.46 millones de toneladas en el 2007 (Sabatini y O’Sullivan, 2004, Rosenberry, 2008; FAO, 2010).

Dentro de los principales productores destaca Asia, con un aporte de alrededor del 80 % de la producción mundial por cultivo. En el 2007, China, India, Vietnam, Indonesia y Tailandia se ubicaron dentro de los primeros lugares en producción; mientras que en el continente Americano, Ecuador, Brasil y México ocupan los sitios más destacados, dichas posiciones se han mantenido sin mayores cambios en los últimos años (FAO, 2010).

Sin embargo, a nivel mundial esta actividad pasa por serios problemas causados por la transmisión de enfermedades provocadas por diversos patógenos. Dentro de los patógenos más devastadores se encuentran los virus. A nivel mundial, se han descrito alrededor de 15 virus como agentes infecciosos para los cultivos de camarón. De éstos, ocho han provocado las epizootias más devastadoras: el Virus de la Necrosis Infecciosa Hematopoyética e Hipodérmica (IHHNV), el Virus Hepatopancreático (HPV), el Virus de la Nucleosis Poliédrica de *Litopenaeus vannamei* (PySNPV o Virus tipo BP), el Virus de la Nucleosis Poliédrica de *Penaeus monodon* (PmSNPV o Virus tipo MBV), el Virus de la Necrosis de Glándulas Digestivas (BMN), el Virus del Síndrome de Taura (TSV), el Virus de la Cabeza Amarilla (YHV) y el Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) (Bonami, 1997, Lightner y Redman, 1998).

De manera particular la camaronicultura en México representa una de las áreas de la acuicultura más recientes y de alto desarrollo tecnológico, debido a la demanda y los altos

precios del camarón en el mercado internacional, el cual ha sido considerado uno de los recursos marinos de mayor importancia económica (Lucien-Brun, 1997) y con mayor expansión a nivel mundial (Lem y Shehadeh, 2000).

En diversas investigaciones se ha determinado que las epizootias virales son las que causan mayores pérdidas económicas debido a las altas mortalidades que provocan en los cultivos, ya que hasta la fecha no se ha desarrollado ningún tratamiento que permita controlarlos. Aunado a esto, el hecho que los crustáceos al igual que otras especies acuáticas, no poseen mecanismos inmunológicos de respuesta antígeno-anticuerpo (Bonami, 1997).

Una de las enfermedades virales que ha causado mayor impacto a la camaronicultura nacional es la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB), detectada por primera vez en 1992 en Taiwán, en cultivos de *Penaeus monodon* (Chou *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 1995). Un año después se reportó en China (Kasornchandra y Boonyaratpalin, 1994; Jie *et al.*, 1995) y desde entonces ha sido identificada en la mayoría de los países asiáticos en los cuales la industria camaronícola está mayormente intensificada, como Japón, Indonesia, Tailandia, Malasia, India y otros países, en los cuales ha causado fuertes pérdidas económicas debido a las altas mortalidades que por lo regular han alcanzado entre el 80 y 100% de las poblaciones infectadas.

El virus de la EMB se reportó por primera vez en Japón durante 1992 y 1993, en granjas de camarón *Penaeus japonicus* (Nakano *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1998), pero se piensa que fue importado con postlarvas infectadas provenientes de China (Briggs *et al.*, 2005). Alrededor de esas fechas fue detectado en cultivos de *P. monodon*, *P. japonicus* y *P. penicillatus* en Taiwán, China y, luego en *P. monodon* al sur de Tailandia (Lightner y Redman, 1998; Lo y Kou, 1998). Posteriormente, el virus de la EMB se diseminó rápidamente a todas las áreas de cultivo de la región asiática (Flegel y Fegan, 2002; Briggs *et al.*, 2005; Lo *et al.*, 2005).

En 1995 fue detectado por primera vez en Texas en cultivos de *P. setiferus*, mostrando también ser infectivo experimentalmente en *L. vannamei* y *L. stylirostris* (Tapay *et al.*, 1997). Después, en 1999 el virus WSSV empezó a afectar las granjas de cultivo de camarón *L.*

vannamei y *L. stilyrostris* de Latinoamérica desde Honduras, Guatemala y Nicaragua hasta Panamá en Centro América y, hacia Ecuador, Perú y Colombia en América del Sur.

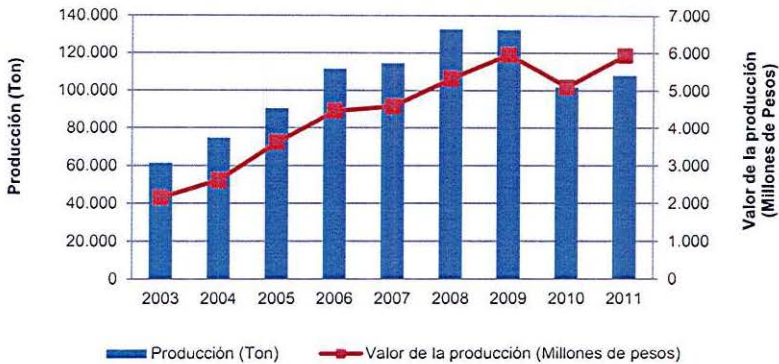
En México, se reportó por primera vez el virus de la EMB en junio de 1999 y pronto causo mortalidades masivas en las granjas camaroneras del Norte de Sinaloa, principalmente en los cultivos de camarón azul *L. stilyrostris* (Mejía-Ruiz et al., 1999; Peinado-Guevara y López-Meyer, 2006). Para el año 2000, causó serias pérdidas en las granjas de camarón en Sinaloa, al grado de considerarse como el riesgo más importante en los cultivos de la costa del noroeste de México (Juárez, 2008). Posteriormente éste virus se dispersó rápidamente a la mayoría de las granjas camaronícolas del Noroeste de México (Sonora, Sinaloa y Nayarit) causando las mayores pérdidas económicas en los cultivos de camarón blanco *L. vannamei*.

Hasta el año 2005 se detectó el virus de la EMB en granjas de Brasil (Bayot, 2006). Actualmente, se sabe que éste virus esta presente en todas las regiones dónde se cultiva camarón, excepto en Australia dónde aun no se ha detectado (East et al., 2004; Diggles, 2007).

La EMB es uno de los principales problemas para la industria camaronícola de México y, hasta la actualidad no existen tratamientos disponibles para controlarla e impedir la mortalidad de los camarones. La única alternativa para reducir el riesgo de entrada del virus WSSV a los sistemas de producción de las granjas comerciales e impedir que los organismos se infecten y enfermen, es la implementación de medidas de bioseguridad o exclusión, tales como la desinfección y filtración (Clifford, 1999; Lightner, 2005).

Con base en información proporcionada por los Comités de Sanidad Acuicola de Baja California, Baja California Sur, Campeche, Colima, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, la producción nacional de camarón por acuicultura aumentó de 61,499 toneladas en 2003 a 132,788 en 2008, manteniéndose muy similar en 2009 (132,371 toneladas), sin embargo, en 2010 se registró una disminución de 30,543 toneladas con respecto al año anterior, lo cual se atribuyó principalmente a eventos de mortalidades por presencia de la EMB, estimando tan solo para ese año pérdidas económicas por el orden de los 1,527 millones de pesos (Gráfica 1).

Producción nacional de camarón por acuicultura
&
Valor de la producción.



Gráfica 1. Comportamiento de la producción nacional de camarón por acuicultura y valor de la producción. (Tomado de base de datos del Comité de Sanidad Acuicola de Sinaloa).

Entre los últimos reportes en el año (2009 – 2011) sobre esta enfermedad, los Comités de Sanidad Acuícola de Sinaloa (CESASIN) y Sonora (COESAES) y en éste último en 2011, estimaron que causo pérdidas económicas de alrededor de 1,200 y 1,500 millones de pesos respectivamente y un impacto social severo por la pérdida de 7,500 empleos directos y 15,000 indirectos (Panorama Acuícola, noviembre - diciembre 2011).

Desde el primer reporte de la EMB, se ha desarrollado un gran número de investigaciones con el objeto de caracterizar el agente causal, definir los signos clínicos, así como los factores biológicos, socioeconómicos y medioambientales asociados a la enfermedad.

La literatura actual dice que la EMB es causada por un virus de ADN de doble cadena, cuya molécula supera los 306 kpb; los viriones son fusiformes de un tamaño que varía entre 70 y 150 nm en su eje transversal y de 250 a 380 en el longitudinal (Figura 1). Una de las características principales del virus es un accesorio, tipo flagelo al final o extremo del virón (Wongteerasupaya *et al.*, 1995; Durand *et al.*, 1997 y Van Hulten *et al.*, 2001). Basándose en sus características morfológicas y en su estructura genómica, Yang *et al.* (2001) lo clasificaron como un miembro de la familia Nimaviridae.

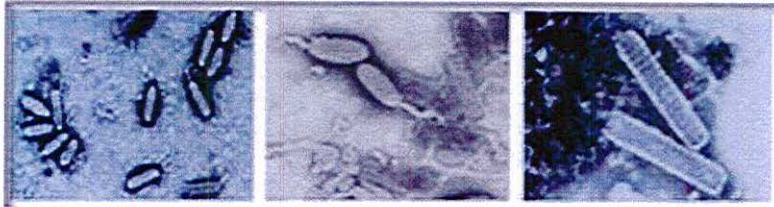


Figura 1. Microscopía electrónica del virus de la mancha blanca (WSSV). Tomado de *Diagnosis of Shrimp Diseases*, FAO y Multimedia Asia Co. 1999.

Los organismos infectados por la EMB muestran como signos clínicos manchas o parches blancos de 0.3 a 0.5 mm de diámetro en la superficie interna del exoesqueleto, apéndices y en menor grado en el abdomen, letargia, anorexia, enrojecimiento por la expansión de los cromatóforos (Figura 2) y mortalidades que pueden alcanzar hasta un 100% de 3 a 10 días después de haber aparecido los primeros signos de la enfermedad (Momoyama *et al.*, 1994; Nakano *et al.*, 1994; Takahashi *et al.*, 1994; Lightner, 1996a).

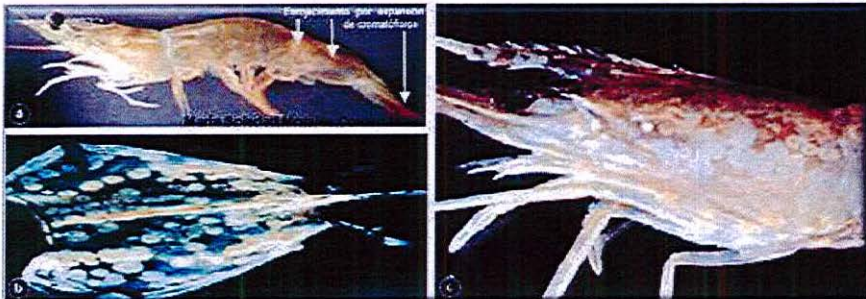


Figura 2. Signos clínicos de la presencia de la EMB en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. (a) enrojecimiento por expansión de cromatóforos; (b) acumulaciones de carbonato de calcio en la parte interna del exoesqueleto de la región cefalotorácica y (c) organismo con signos clínicos avanzados de la enfermedad en la que se observa enrojecimiento por expansión de cromatóforos y las acumulaciones de carbonato de calcio en la parte interna del exoesqueleto. Tomadas de Morales-Covarrubias (2004) (a) y Morales y Cuéllar-Anjel (2008) (b y c).

Se ha determinado que entre las especies hospedadoras susceptibles a la EMB se encuentran todos los crustáceos decápodos (orden *Decapoda*, Figura 2) procedentes de fuentes marinas, salobres o de agua dulce (Lo *et al.*, 1996a; Maeda *et al.*, 1998a; Wang *et al.*, 1998.; Hossain *et*

al., 2001; Jiravanichpaisal *et al.*, 2001 y Chakraborty *et al.*, 2002), sin embargo, se ha observado que en algunas especies la enfermedad no es letal (Cai *et al.*, 1995; Lightner, 1996b; Van Hulten *et al.*, 2000; Sahu Hameed *et al.*, 2000, 2001; Just *et al.*, 2002). La EMB afecta a todos los estadios de vida del camarón, desde huevos hasta reproductores (Lo *et al.*, 1997; Lo y Kou, 1998 y Venegas *et al.*, 1999), sin embargo, las etapas de mayor susceptibilidad son las últimas fases de poslarvas, juveniles y adultos, sobre todo en la etapa de premuda tardía, al igual que el virus del síndrome de Taura (Hasson *et al.*, 1999) ya que las mortalidades están asociadas a la posmuda (Echeverría *et al.*, 2002).

La susceptibilidad de los crustáceos a la EMB está asociada de manera directa a condiciones de estrés ocasionadas por factores demográficos y medioambientales como: especie, densidad poblacional, variaciones bruscas de salinidad, temperatura, pH y concentración de oxígeno disuelto. Tal es el caso del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* que muestra mayor susceptibilidad a bajas temperaturas (inferiores a 29°C), observándose en estanques comerciales mayores pérdidas en el invierno seco comparado con el verano lluvioso (Rodríguez *et al.*, 2003)

Por otro lado, la inadecuada dosificación del alimento balanceado y los fertilizantes en los cultivos de camarones peneidos generan una acumulación de materia orgánica en el fondo de los estanques (Boyd y Tucker 1998) y como consecuencia una disminución de los niveles de oxígeno disuelto (Boyd y Walter 1989), propiciando condiciones de estrés en los organismos, lo cual favorece la infección por la EMB.

Observaciones clínicas realizadas en otras especies de interés zootécnico denotan la similitud de sintomatologías con enfermedades de índole nutricional, específicamente con la Hipomagnesemia relacionada con un exceso de potasio en la dieta (National Academy of Sciences, 1980; Shimada, 1983).

El concepto de balance iónico se menciona desde 1992, en los estudios desarrollados en Harbor Branch, muy poco difundidos, considerando el calambre muscular en los camarones como patologías atribuibles al desbalance entre calcio, magnesio y potasio (Chávez, 2011).

Se comprobó que el exceso de potasio en el alimento eleva la concentración de éste elemento en su organismo y lo forza a excretar el excedente; y al eliminar el exceso de potasio también se elimina magnesio, en el camarón *M. japonicus* (Davis *et al.* 1992).

En otras especies, al bajar el nivel de magnesio en sangre este se absorbe de los depósitos del organismo hasta restablecer los niveles normales; en el caso de los mamíferos se obtiene del hueso (De Luca, 2000).

Cuando el exceso de potasio está en su medio ambiente y/o en el alimento, se convierte en un problema crónico al forzar su excreción en forma constante, se agota la reserva de magnesio en el organismo y provoca los signos de su deficiencia, también se elimina calcio y fósforo de la reserva junto con el magnesio, provocando niveles altos de calcio en la sangre y por consecuencia, calcificación de tejidos blandos, a la vez que el exoesqueleto se desmineraliza (Morales Covarrubias, 2004).

Se considera que este fenómeno metabólico probablemente no es el agente etiológico de la EMB, pero es muy factible que sea una condición predisponente; otra posibilidad es que ésta sea la causa principal y el virus al que se le atribuye sea solo un ente oportunista.

También se puede considerar como factor de la EMB, el hecho que México en los últimos 10 años ha estado importando cantidades crecientes de “cloruro de potasio” (compuesto altamente soluble en agua), para utilizarlo como fertilizante en un sin número de cultivos de granos básicos (producidos principalmente en Sonora y Sinaloa) y en otros como caña de azúcar (FIRA, citar 2008). En virtud de que el agricultor fertiliza, y con el riego o durante el tiempo de lluvias el agua arrastra los excedentes de estos fertilizantes, llevándolos por arroyos y ríos hasta los esteros donde se encuentran las fuentes de agua de los camarones de granja.

III. Planteamiento del Problema.

Con los precedentes referidos en los párrafos anteriores, se planteo el presente trabajo: "Determinación de minerales en el hábitat del camarón de cultivo (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) y su relación con la presencia de la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB), en el Noroeste de México", mismo que pretende comprobar lo siguiente:

IV. Objetivo general

Realizar un estudio del perfil de minerales en el hábitat del camarón de cultivo en los estados de Baja California, Baja California Sur, Colima, Nayarit, Sinaloa y Sonora, para determinar su relación causal con la presencia de la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB).

4.1. Objetivos específicos

- **4.1.1.-** Determinar minerales en agua superficial, de fondo y sedimento de los estanques, así como en alimento balanceado y organismos (camarones).
- **4.1.2.-** Detectar la presencia de la EMB en los camarones de cultivo, mediante técnicas moleculares (PCR punto final).
- **4.1.3.-** Detectar mediante histopatología, depósitos de minerales en los camarones de cultivo.
- **4.1.4.-** Determinar la relación de la EMB en camarones de cultivo, con un desbalance de minerales en su hábitat.

V. Hipótesis

El desbalance de minerales en el hábitat de camarones de cultivo, es un factor que predispone la manifestación de la Enfermedad de las Manchas Blancas (EMB).

VI. Material y Métodos

6.1. Características de la especie en estudio

En este trabajo se analizaron unidades de producción del noreste mexicano que cultivan la especie *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), o también conocido como camarón blanco. Este organismo es una especie de crustáceo decápodo de la familia Penaeidae, nativo del oriente del Océano Pacífico, desde el estado de Sonora, México, hasta el noroeste del Perú. Esta especie se caracteriza por presentar Rostrum moderadamente largo con 7–10 dientes dorsales y 2–4 dientes ventrales. En los machos maduros petasma simétrico y semi abierto. Espermatóforos complejos, consistentes de masa espermática encapsulada por la vaina. Las hembras maduras tienen el télico abierto. Su fase de desarrollo larval comprende de seis nauplios, tres proto-zoeas, y tres etapas de mysis. Su coloración es normalmente blanca translúcida, pero puede cambiar dependiendo del sustrato, la alimentación y la turbidez del agua. La talla máxima es de 23 cm. Comúnmente las hembras de esta especie crecen más rápidamente y adquieren mayor talla que los machos.



Figura 3. Imagen que muestra las características morfológicas de la especie. *Litopenaeus vannamei*

6.2. Hábitat y biología

El camarón blanco habita en aguas cuya temperatura es normalmente superior a 20 °C durante todo el año. *Litopenaeus vannamei* se encuentra en hábitats marinos tropicales. Los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que la postlarva migra a las costas a pasar la etapa juvenil, la etapa adolescente y pre adulta en estuarios, lagunas costeras y manglares. Los machos maduran a partir de los 20 g y las hembras a partir de los 28 g en una edad de entre 6 y 7 meses. Cuando *L. vannamei* pesa entre 30 y 45 g libera entre 100 000 y 250 000 huevos de aproximadamente 0,22 mm de diámetro. La incubación ocurre aproximadamente 16 horas después del desove y la fertilización.

En la primera etapa, la larva, denominada nauplio, tiene un nado intermitentemente y presenta fototropismo positivo. Los nauplios no requieren alimentación, sino que se nutren de su reserva embrionaria. Las siguientes etapas larvarias (protozoa, mysis y postlarva temprana respectivamente) continúan siendo planctónicas por algún tiempo, se alimentan del fitoplancton y del zooplancton, y son transportados a la costa por las corrientes mareales. Las postlarvas (PL) cambian sus hábitos planctónicos en 5 días después de su metamorfosis a PL, se trasladan a la costa y empiezan a alimentarse de detritos bénticos, gusanos, bivalvos y crustáceos.

6.3. Materiales utilizados

Se utilizaron los siguientes materiales y equipos: Frascos de plástico 3.75 litros de capacidad, recipientes de plástico de 1 litro, cinta para empaque de varios tipos, bolsas de plástico, cajas de cartón de varias dimensiones, tijeras, equipo de corte (cúter), franelas, tubos, llaves de paso, coplees, tapones de ½" de pvc hidráulico, pegamentos para pvc, bomba de succión para uso domestico, tablas para la toma de datos, lápices, ligas, etiquetas, pinzas de plástico, cuchillos desechables, guantes de látex, jeringas, pistola de empaque para cinta canela, flejes para empaque, cangureras, hieleras El equipo que se utilizó, fue: GPS, Potenciómetro, Refractómetro, Báscula digital y Oxímetro (Figura 4).



Figura 4. Parte de material y equipo utilizado. Material de muestreo: (a) Recipientes de plástico con capacidad de 3.75 litros para las muestras y calador para sacos de alimento; (b) Reactivos para la fijación de las muestras (alcohol etílico al 96° y formol al 10%) y bomba de succión para toma de muestras de agua de fondo, y (c) GPS.

6.4. Metodología

Con colaboración de 18 Juntas Locales de Sanidad Acuícola (JLSA) y personal de las granjas seleccionadas se realizó la toma de muestras de 30 granjas, seleccionadas por su alta incidencia de EMB, o ausencia de ella a manera de control negativo.

En la figura 5; se observan los sitios en los cuales se obtuvieron las muestras. En el cuadro 1; se advierten los datos que se registraron al realizar el muestreo, (la latitud y longitud están medidas en grados decimales).



Figura 5. Mapa de ubicación del área de estudio.

Cuadro I. Relación de muestras colectadas.

Clave	Entidad	JLSA	Nombre de la granja	Fecha de Muestreo	Latitud N	Longitud O
1A	COL	Chococo	Aqua Frutas	20/09/2011	18.8007	103.7843
1B	COL	Chococo	Agro Industrias Rafet	20/09/2011	18.7103	103.7530
1C	NAY	San Blas	Franco Shrimp Internacional	09/11/2011	21.6046	105.3085
2A	SON	Lobos	Hermanos Álvarez	26/09/2011	27.3111	110.4214
2B	SON	Lobos	Acuícola La Atarraya	26/09/2011	27.2757	110.3920
2C	SON	Mélagos	Cuchi	27/09/2011	27.1981	110.2462
3A	SON	Mélagos	Acuícola Santa Magda	27/09/2011	27.2050	110.3140
3B	SON	Cruz de Piedra	Cerro Yasicuri	28/09/2011	27.8991	110.6163
3C	SON	Tastiota	A. M. P. Acuícola	28/09/2011	28.3992	111.4131
4A	SON	El Cardonal	Camarón Dorado	29/09/2011	28.5576	111.7156
4B	SON	El Cardonal	Camarón Dorado	29/09/2011	28.5576	111.7156
4C	SON	Bahia Kino	Santa Rosalía	29/09/2011	28.7090	111.8691
5A	SON	Aquiropo	Grupos Unidos de Cajeme	30/09/2011	26.8207	109.8217
5B	SIN	Navolato Sur	Grupo Ojai (Acuícola Fincamar)	12/10/2011	24.6584	107.8732
5C	SIN	Navolato Sur	Ahome Village (Aguamitas)	12/10/2011	24.6001	107.8045
6A	SIN	Navolato Sur	Muritru Acuacultores	12/10/2011	24.5939	107.7724
6B	SIN	El Dorado	Biocultivos Acuáticos	27/10/2011	24.4516	107.4837
6C	SIN	El Dorado	Acuícola Santa Julieta	27/10/2011	24.2520	107.3327
7A	SIN	Guasave Norte	Acuícola Yogui	13/10/2011	25.4054	108.6337
7B	SIN	Guasave Norte	Acuícola Prisamar	13/10/2011	25.3666	108.6186
7C	SIN	Guasave Norte	Francisco Vargas Sánchez	14/10/2011	25.3579	108.5824
8A	SIN	Angostura	Acuícola El Paraje	28/10/2011	25.2118	108.2091
8B	BC	Zona 1 (Mexicali)	Granja Vizsomar (Vipsa)	06/10/2011	31.2041	114.8978
8C	BC	Zona 1 (Mexicali)	Acuícola Paca	07/10/2011	32.2149	115.2129
9A	SIN	Ahome	Acua Shrimp	28/10/2011	25.8675	109.3814
9B	SIN	Ahome	Acuacultores del Quinto Día	29/10/2011	25.9388	109.3891
9C	SIN	Escuinapa	Compañía Pesquera Mzt (Los Cuervos)	31/10/2011	22.9203	106.0035
10A	BCS	La Paz	Camarón Orgánico	25/10/2011	23.6734	110.5072
10B	BCS	La Paz	Acuacultores De La Paz	25/10/2011	24.2426	110.3075
10C	NAY	Tuxpan	Sec. Esp. Acuícola Ejidal (Bicha)	09/11/2011	22.0030	105.4397

BC: Baja California; BCS: Baja California Sur; COL: Colima; NAY: Nayarit; SIN: Sinaloa; SON: Sonora.

6.5. Toma de muestras en campo:

En este trabajo los análisis de laboratorio no fueron realizados por el equipo de investigación debido a que no se cuenta con el equipo necesario para realizar mencionado trabajo, el análisis fue realizado por tres laboratorios de los cuales se hace mención a continuación: Los análisis y la determinación de la cantidad de minerales en agua de superficie, agua de fondo, lodo, alimento y fue realizada por el Laboratorio de Análisis de agua S.A. de C.V. (ANASA), Acreditado por la Entidad Mexicana de Acreditación, A.C. (EMA), Los análisis de PCR fueron realizados por el Laboratorio de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C, Unidad Mazatlán, en Acuicultura y Manejo Ambiental, y los análisis histológicos fueron realizados por el Centro de Patología Veterinaria, todos los laboratorios fueron designados por previa evaluación. Se tomaron muestras dirigidas a las unidades de producción que mostraron una mayor incidencia con la EMB, con el criterio de encontrar con mayores posibilidades, cantidades anormales de iones en los tanques de cultivo; en agua superficial, agua de fondo, sedimento y alimento suministrado, y de organismos (completos), para constatar si existe estratificación de algunos de ellos en los estanques, todas las muestras se tomaron por duplicado, con el propósito de enviar un juego a los laboratorios para su análisis y el otro mantenerlo en resguardo en los Comités de Sanidad Acuícola.

6.5.1. Agua de superficie

Se tomaron muestras del estanque seleccionado a 15 cm de profundidad máxima de la superficie en la compuerta de salida, utilizando un recipiente de plástico con capacidad de 1 litro el cual se lleno varias veces, hasta completar 3.75 litros en un segundo recipiente, estos se colocaron en contenedores para su transporte.

6.5.2 Agua del fondo

Estas muestras fueron tomadas frente a la compuerta de salida, a 5 cm del fondo, utilizando un dispositivo de succión de agua “*bomba sifón*” con extensiones de PVC de ½’ con 0.5 m de longitud, el cual se podían añadir al sifón (mediante una conexión de rosca), según la profundidad del estanque, éste artefacto contaba con una llave de paso en el extremo superior para evitar que el agua de la columna se mezclara con el agua de fondo y en el extremo inferior se colocó un tapón para evitar que entrara parte del sedimento y se hicieron 4 perforaciones de ½ cm a 5 cm de altura, para tomar la muestra con “cero turbulencia”.

6.5.3. De sedimento

El sedimento se extrajo de los estanques a 10 cm máximo de profundidad, utilizando un sistema de extracción manual (nucleador) con ayuda de un recipiente de plástico con capacidad de un litro, en diferentes puntos en un radio de 4 a 8 metros frente a la compuerta de salida del estanque, hasta completar 3.75 litros.

6.5.4. De alimento

Se tomaron muestras del alimento utilizado en cada granja, mediante un “calador de sacos” de PVC de 1/2’ con 45 cm de longitud y un corte a 45° en uno de los extremos, se muestrearon 10 diferentes sacos de alimento por granja, hasta completar aproximadamente 2 kilos, los cuales se colocaron en el recipiente asignado para ello.

6.5.5. De organismos

Los muestreos de organismos fueron realizados de acuerdo a las recomendaciones establecidas en el Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos, publicado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) 2010, como se menciona a continuación.

Se colectaron 72 organismos vivos de cada unidad de producción por medio de una atarraya atómica de 1.8 m de diámetro; 12 de los camarones se conservaron en formol (para análisis

histológico), 12 en etanol al 90–95% (para análisis de PCR) y 12 se refrigeraron dentro de una bolsa de plástico doble, en hielo y posteriormente se congelaron, para determinar su contenido integro de electrolitos, los 32 camarones restantes se resguardaron en cada uno de los Comités de Sanidad Acuícola (CSA) de cada estado, con la intención de asegurar la disponibilidad de material biológico poder repetir alguna prueba en caso de que fuese necesario.

Se ubicó la localización exacta, vía satélite, de los lugares donde se tomaron las muestras, por medio de un equipo GPS (ver cuadro I), para relacionar los hallazgos con la conformación geográfica del lugar vía satélite, o para cualquier aclaración posterior.

6.6. Manejo de muestras.

Los utensilios para la toma de muestras se elaboraron con tubo PVC para facilitar su traslado y asegurar su resistencia a golpes durante el viaje, se utilizó un juego nuevo para cada granja con el propósito de evitar contaminaciones en las muestras y/o llevar microorganismos entre granjas, estos implementos se enviaron por tierra o aire a los Comités de Sanidad Acuícola de los Estados participantes, y de allí se distribuyeron a las JLSA donde se localizaron las granjas muestreadas.

Los recipientes destinados a contener las muestras fueron identificados con anticipación mediante etiquetas, con la información necesaria impresa (identificación individual, tipo de muestra, lista de determinaciones a realizar, y adonde reportarla en caso de extravío), con diferentes colores según el tipo de muestra, para disminuir la posibilidad de confusiones.

Las 420 muestras (cuadro 2) que se colectaron, y se empaquetaron para prevenir pérdidas de los materiales contenidos durante su traslado a los laboratorios y JLSA.

Una vez tomadas la muestras; la tapa del recipiente fue sellada para evitar las posibles fugas de material, y asegurar que la tapad se mantenga en su lugar a pesar de golpes al recipiente que pudieran suceder durante su transporte, adicionalmente a esa medida cada muestra se metió en una bolsa plástica cerrada con una liga, para posteriormente según su destino, se empaquetaron los frascos en diferentes cajas de cartón según su destino y membretadas con el

nombre del proyecto, la razón social de CESASIN y el número de teléfono donde se podía reportar su localización en caso de una pérdida eventual, posteriormente se reunieron y se llevaron personalmente a los laboratorios para su análisis, dejando un juego de muestras en cada Comité de Sanidad Acuícola para su resguardo y su posterior utilización por alguna aclaración.

Cuadro N° 2. Relación de número y distribución de las muestras tomadas.

Distribución de las Muestras			
	Muestras enviadas al laboratorio	Muestras testigo enviadas al JLS Comité de Sanidad	Laboratorio de Diagnóstico
Agua de Superficie	30	30	ANASA
Agua de Fondo	30	30	ANASA
Lodo	30	30	ANASA
Alimento Balanceado	30	30	ANASA
Químico Camarón	30	30	ANASA
Histológico Camarón	30*	30	CENTRO DE PATOLOGÍA VETERINARIA
PCR Camarón	30	30	CIAD
TOTAL DE MUESTRAS:	210	210	420

*Solo se procesaron 11 muestras de histopatología por falta de recurso.

6.7. Pruebas de laboratorio

En el cuadro 3; se observa la relación de minerales analizados en el laboratorio de Análisis de Agua SA de CV, ubicado en Zapopan Jalisco, de acuerdo al tipo de muestra las técnicas utilizadas para determinar la concentración de minerales en cada uno de los casos, la metodología utilizada para la determinación de cada mineral se puede consultar en el anexo 1.1 a 1.4.

Cuadro 3. Relación de análisis de concentración de minerales realizado.

Muestra	Ca	P	Na	Cl	K	Mg	S	Mn	Fe	Cu	Co	I	Se	Zn	Al	Cd	F	Mo	Pb	Si
Agua de superficie	X	X	X	X	X	X	X													
Agua de fondo	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sedimento	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Alimento para camarón	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Camarones	X	X	X	X	X	X	X													

Se realizaron análisis químicos como se muestra la relación del cuadro 3. A los organismos además de los análisis químicos se les practico estudios histopatológicos teñidos con "Hematoxilina Eosina" (Anexo 2), para detectar nódulos de calcio, realizados en el Laboratorio de Patología Veterinaria, así mismo se realizo el estudio molecular que a 9 organismos, de cada granja, en grupos de 3, para la detección del virus de la Mancha Blanca por medio de la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) realizado por el Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentación CIAD. (Anexo 3 PCR).

6.8. Análisis Estadístico.

Se aplicó un Modelo Lineal General (MLG) mediante el Sistema de Análisis Estadístico (SAS) del conjunto de datos obtenidos de las muestras problema y así como el análisis de su correlación con los signos causados por la enfermedad de la Mancha Blanca objeto del presente estudio. Por otra parte se analizo la interrelación de perfil de minerales en los sustratos y muestras, de manera particular entre el potasio y magnesio con su posible relación con la EMB por medio del programa Excel©.

VII. Resultados y Discusión.

Según Boyd (1998), los camarones requieren de una concentración adecuada de iones para satisfacer sus necesidades de ósmosis, pero no tienen estrictos requerimientos de iones individuales. La concentración de oxígeno disuelto en el agua es para el camarón un factor crítico en su crecimiento, reproducción, supervivencia y tolerancia a las enfermedades. Con excepción del hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno hay aproximadamente 20 elementos minerales que son considerados como esenciales para la vida animal, incluyendo a los camarones. Los elementos minerales esenciales, son clasificados en dos principales grupos, acorde a su concentración en el cuerpo animal; los macroelementos y los microelementos, de acuerdo como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación de los Minerales en las Dietas para Organismos Acuáticos

Macroelementos		Microelementos			
Principales cationes	Principales aniones				
Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Cobalto (Co)	Hierro (Fe)	Manganeso (Mn)	Cromo (Cr)
Magnesio (Mg)	Cloro (Cl)	Niquel (Ni)	Vanadio (V)	Molibdeno (Mo)	Yodo (I)
Sodio (Na)	Azufre (S)	Estaño (Sn)	Cobre (Cu)	Silicio (Si)	
Potasio (K)		Selenio (Se)	Flúor (F)	Zinc (Zn)	

¹ Underwood (1971); Reinhold (1975).

7.1. Contenido de Minerales en Agua de Superficie.

En el cuadro 4 se presentan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del agua de superficie de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos están expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 4.

GRANJA	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
10C Nay.	212,70	<0.250	3860,10	6874,00	121,63	470,50	320,77
1C Nay.	194,20	< 0.250	5637,93	9412,00	191,28	629,00	329,61
1A Col.	87,25	< 0.250	625,12	887,00	23,40	79,30	124,05
1B Col.	378,00	< 0.250	2814,41	6258,00	70,93	480,50	219,68
2A Son.	530,00	<0.250	15118,23	25722,00	466,28	1613,00	649,41
2B Son.	474,90	< 0.250	13443,35	22568,00	429,07	1425,00	583,08
2C Son.	620,00	< 0.250	14970,44	26708,00	533,72	1745,00	1167,74
3A Son.	480,40	< 0.250	13394,09	22372,00	401,16	1391,50	1033,83
3B Son.	448,00	< 0.250	12605,91	23850,00	445,35	1399,00	1113,23
3C Son.	468,70	< 0.250	12458,13	21878,00	391,86	1408,50	433,57
4A Son.	895,50	<0.250	11817,73	20104,00	209,88	1204,00	446,17
4B Son.	573,00	< 0.250	15660,10	25918,00	546,51	1628,00	1304,49
4C Son.	582,00	<0.250	14182,27	26116,00	466,28	1579,00	665,32
5A Son.	597,50	< 0.250	15364,53	26510,00	517,44	1626,00	644,53
5B Sin.	473,50	< 0.250	13000,00	22372,00	443,02	1390,50	963,24
5C Sin.	470,60	< 0.250	11817,73	21976,00	391,86	1390,00	513,13
6A Sin.	479,10	< 0.250	12211,82	21090,00	396,51	1296,00	503,21
6B Sin.	442,50	< 0.250	8862,07	15176,00	418,02	1052,00	353,22
6C Sin.	422,00	< 0.250	10586,21	17936,00	306,40	1148,00	479,26
7A Sin.	696,00	< 0.250	15660,10	29072,00	574,42	1887,50	1333,16
7B Sin.	653,00	< 0.250	14133,01	25328,00	523,26	1644,00	979,01
7C Sin.	535,00	< 0.250	13000,00	24638,00	468,61	1539,50	1217,53
8A Sin.	990,50	< 0.250	16251,23	30058,00	433,72	1967,00	734,49
9A Sin.	391,60	< 0.250	9896,55	17740,00	310,47	1081,00	647,30
9B Sin.	529,00	< 0.250	11522,17	20696,00	415,12	1325,50	729,44
9C Sin.	325,60	< 0.250	7928,57	15472,00	275,00	1005,50	465,08
8B B.C.N.	450,90	< 0.250	11568,18	24834,00	456,40	1408,00	1335,37
8C B.C.N.	182,00	< 0.250	920,45	1231,80	14,44	149,70	389,14
10A B.C.S.	456,20	< 0.250	11423,65	20696,00	366,51	1312,00	1037,29
10B B.C.S.	479,70	< 0.250	13049,26	22076,00	468,61	1470,00	529,20

De manera general y a manera de resumen observamos la concentración de minerales que se encontró en las Muestras de Agua de Superficie Analizadas. El Calcio presento un mínimo de 87.25 ppm en la granja 1A-Col y un máximo de 990.5 de la granja 8A-Sin, en cuanto al contenido de Fosforo se encontró por debajo de los límites mínimos de medición de la técnica utilizada por el laboratorio (anexo 1.1), el contenido mínimo de Sodio fue de 625.12 ppm detectado en la granja 1A-Col y el máximo fue de 16 251.23 ppm determinado en la granja 8A-Sin, el contenido de Cloruros mínimo se encontró en 887 ppm en la granja 1A-Col y el máximo en 30 058 en la granja 8A-Sin, a su vez la concentración mínima de Potasio se detecto en 14.44 ppm en la granja 8C- B.C.N y el nivel máximo detectado fue de 574.42 ppm en la granja 7A-Sin, los niveles mínimos de Magnesio se encontraron en 79.30 ppm en la granja 1A-Col y los niveles máximos fueron de 1967 ppm en la granja 8A-Sin, los niveles mínimos de Azufre fueron de 124 ppm en le granja 1A-Col y los niveles máximos de 1335.37 ppm en la granja 8B-B.C.N. En los resultados anteriormente descritos (Agua de Superficie) podemos observar que presentan un comportamiento variable, debido a que las muestras fueron tomadas en diferentes ambientes de cultivo incluyendo granjas que trabajan con agua dulce, salada y salobre, este resumen se puede observar en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1. Análisis de Minerales contenidos en el Agua de Superficie.

CONCENTRACION DE MINERALES EN AGUA SUPERFICIE en ppm							
	Calcio (Ca)	Fósforo (p)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
MAXIMO	990,50	< 0.250	16.251,23	30.058,00	574,42	1.967,00	1.335,37
MINIMO	87,25	< 0.250	625,12	887,00	14,44	79,30	124,05

7.2. Contenido de Minerales en Agua de Fondo.

En el cuadro 5.1 se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnóstico ANASA de las 30 muestras provenientes del agua de fondo obtenida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 5.1

GRANJA	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
10C Nay.	221,70	< 0.250	4.195,07	6.898,50	234,88	483,10	316,04
1C Nay.	217,10	< 0.250	5.022,73	10.742,00	208,72	682,50	418,76
1A Col.	102,10	< 0.250	748,28	882,00	26,19	98,50	135,49
1B Col.	384,80	< 0.250	3.368,47	5.990,00	67,21	488,40	263,42
2A Son.	571,00	< 0.250	14.871,92	26.214,00	487,21	1.698,00	1.148,52
2B Son.	496,70	< 0.250	13.394,09	23.850,00	540,70	1.515,00	1.054,62
2C Son.	656,00	< 0.250	16.940,89	26.314,00	529,07	1.905,00	1.675,67
3A Son.	485,10	< 0.250	13.098,52	23.030,00	473,26	1.399,60	1.078,57
3B Son.	488,80	< 0.250	13.689,66	24.046,00	397,09	1.455,50	1.123,91
3C Son.	488,30	< 0.250	12.605,91	21.336,00	396,51	1.469,00	1.014,29
4A Son.	957,00	< 0.250	12.113,30	20.892,00	211,05	1.337,00	1.036,35
4B Son.	605,20	< 0.250	15.463,05	26.018,00	533,72	1.741,00	1.272,98
4C Son.	600,50	< 0.250	15.709,36	24.638,00	498,84	1.702,00	1.307,33
5A Son.	603,50	< 0.250	15.364,53	25.918,00	545,35	1.691,00	1.264,16
5B Sin.	483,20	< 0.250	12.852,22	22.076,00	396,51	1.429,00	1.036,35
5C Sin.	485,10	< 0.250	12.852,22	21.976,00	352,33	1.408,20	1.071,95
6A Sin.	493,50	< 0.250	12.704,43	21.090,00	373,26	1.398,00	1.000,43
6B Sin.	513,50	< 0.250	9.206,90	15.176,00	329,07	1.280,00	704,55
6C Sin.	444,30	< 0.250	10.389,16	17.640,00	295,93	1.181,00	880,53
7A Sin.	723,50	< 0.250	17.679,80	29.368,00	659,30	1.969,00	1.605,09
7B Sin.	658,50	< 0.250	15.266,01	25.524,00	512,79	1.733,50	1.214,06
7C Sin.	560,10	< 0.250	13.886,70	24.046,00	443,02	1.570,00	1.076,84
8A Sin.	1.034,00	< 0.250	16.022,73	29.958,00	461,63	2.058,00	1.540,81
9A Sin.	399,30	< 0.250	9.995,07	16.754,00	351,74	1.099,00	700,46
9B Sin.	564,50	< 0.250	12.753,70	20.794,00	431,40	1.439,00	951,59
9C Sin.	350,10	< 0.250	9.453,20	15.276,00	261,05	1.044,00	489,81
8B B.C.N.	467,20	< 0.250	13.886,70	23.652,00	438,37	1.450,00	1.198,30
8C B.C.N.	221,40	< 0.250	989,66	1.222,00	16,21	150,70	425,06
10A B.C.S.	460,40	< 0.250	12.507,39	20.696,00	436,05	1.362,00	944,02
10B B.C.S.	489,20	< 0.250	13.394,09	22.076,00	522,09	1.494,00	1.025,95

En el cuadro anterior observamos que la concentración de minerales detectada fue de un mínimo de Calcio de 102.10 ppm en la granja 1A-Col y un máximo de 1034 de la granja 8A-Sin, el contenido de Fosforo se detecto por debajo de los limites mínimos de medición de la técnica utilizada por el laboratorio (anexo 1.1), el contenido mínimo de Sodio fue de 748.28 ppm detectado en la granja 1A-Col y el máximo fue de 17679.80 ppm determinado en la granja 8A-Sin, El contenido de Cloruros mínimo se encontró en 882 ppm en la granja 1A-Col y el máximo en 29958 en la granja 8A-Sin, a su vez la concentración mínima de Potasio se detecto en 16.2 ppm en la granja 8C- B.C.N y el nivel máximo detectado fue de 659.3 ppm en la granja 7A-Sin, los niveles mínimos de Magnesio se encontraron en 98.5 ppm en la granja 1A-Col y los niveles máximos fueron de 2058 ppm en la granja 8A-Sin, los niveles mínimos de Azufre fueron de 135,49 ppm en le granja 1A-Col y los niveles máximos de 1675.67 ppm en la granja 2C-Son.

Cuadro 5.1.2. Resumen de Minerales contenidos en el Agua de Fondo

Al igual que en el cuadro anterior se puede observar la gran variabilidad de los datos debido a que las granjas en las que se tomaron las muestras corresponden a diferentes zonas geográficas las cuales tienen características particulares en el contenido de minerales.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN AGUA FONDO en ppm							
	Calcio (Ca)	Fósforo (p)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
MAXIMO	1.034,00	0,00	17.679,80	29.958,00	659,30	2.058,00	1.675,67
MINIMO	102,10	0,000	748,27	882,00	16,20	98,50	135,49

7.2. Contenido de Minerales en Agua de Fondo.

En el cuadro 5.2. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del agua de fondo obtenida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 5.2.

GRANJA	Manganeso (Mn)	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
10C Nay.	1,2800	2,0350	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
1C Nay.	1,0720	8,9310	< 0.050	< 0.100	0,0029	< 0.0100	< 0.100
1A Col.	0,0890	2,3810	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
1B Col.	0,1430	1,9840	< 0.050	< 0.100	0,0049	< 0.0100	< 0.100
2A Son.	0,2510	9,9410	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
2B Son.	0,2380	178,6140	< 0.050	< 0.100	0,0041	< 0.0100	< 0.100
2C Son.	1,6310	73,4650	0,0640	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	0,2090
3A Son.	0,2710	6,5540	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
3B Son.	0,0770	0,5580	< 0.050	< 0.100	0,0025	< 0.0100	< 0.100
3C Son.	0,0770	0,2200	< 0.050	< 0.100	0,0035	< 0.0100	< 0.100
4A Son.	0,0720	0,4860	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
4B Son.	0,0970	0,2290	< 0.050	< 0.100	0,0047	< 0.0100	< 0.100
4C Son.	0,4870	6,7520	< 0.50	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
5A Son.	0,1970	4,3760	< 0.050	< 0.100	0,0035	< 0.0100	< 0.100
5B Sin.	0,3660	0,8750	< 0.050	< 0.100	0,0028	< 0.0100	< 0.100
5C Sin.	0,2590	1,2320	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
6A Sin.	0,1800	1,1920	< 0.500	< 0.100	0,0033	< 0.0100	0,1040
6B Sin.	2,1840	139,0100	0,0970	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	0,4360
6C Sin.	0,0770	< 0.100	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
7A Sin.	0,0560	< 0.100	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
7B Sin.	0,1300	< 0.100	< 0.050	< 0.100	0,0037	< 0.0100	< 0.100
7C Sin.	0,0930	0,4760	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
8A Sin.	1,8940	97,2280	0,1210	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	0,4740
9A Sin.	0,1100	2,9800	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
9B Sin.	0,1350	1,7470	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
9C Sin.	0,3620	0,3970	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
8B B.C.N.	0,0850	0,4790	< 0.050	< 0.100	0,0032	< 0.0100	< 0.100
8C B.C.N.	0,1680	4,2670	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100
10A O.P.	0,0930	2,1340	< 0.050	< 0.100	< 0.021	< 0.0100	< 0.100
10B B.C.S.	0,1010	1,5090	< 0.050	< 0.100	< 0.0021	< 0.0100	< 0.100

De manera general y a manera de resumen observamos un mínimo de Magnesio de 0.056 ppm en la granja 7A-Sin y un máximo de 2.18 de la granja 6B-Sin, en cuanto al contenido de Hierro se encontró un contenido mínimo de 0.22 en la granja 3C-Son y el máximo se encontró en 178.61 ppm , el contenido mínimo de Cobre fue menor de 0.05 ppm detectado en la granja 1A-Col y el máximo fue de 0.12 ppm determinado en la granja 8A-Sin, El contenido de Cobalto se encontró por debajo de los límites medibles por la técnica (anexo 1.4), a su vez la concentración mínima de Yodo se detectó en menos de 0.0021 ppm en la mayoría de las granjas y el nivel máximo detectado fue de 0,0049 ppm en la granja 1B-Col, los niveles de Selenio se encontraron por debajo de los medibles por la técnica utilizada por el laboratorio, los niveles mínimos de Zinc se encontraron en menos de 0,10 ppm en un gran número de granjas y los niveles máximos de 0,47 ppm en la granja 2C-Son.

Cuadro 5.2.1. Resumen de Minerales contenidos en el Agua de Fondo.

Al igual que en el cuadro anterior se puede observar la gran variabilidad de los datos debido a que las granjas en las que se tomaron las muestras corresponden a diferentes zonas geográficas las cuales tienen características particulares en el contenido de minerales.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN AGUA FONDO en ppm							
	Manganeso (Mn)	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
MAXIMO	2,18	178,61	0,12	< 0.100	0,0049	< 0.0100	0,47
MINIMO	0,056	0,220	<0,064	< 0.100	< 0.0021	<0.0100	<0,10

7.2. Contenido de Minerales en Agua de Fondo.

En el cuadro 5.3. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico de las 30 muestras provenientes del agua de fondo obtenida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 5.3.

GRANJA	Aluminio (Al)	Cadmio (Cd)	Flúor (F)	Molibdeno (Mo)	Plomo (Pb)	Silicio (Si)
10C Nay.	2,1940	< 0.020	2,8710	< 0.100	0,1260	10,5020
1C Nay.	14,0800	< 0.020	3,2490	< 0.100	< 0.100	8,1090
1A Col.	3,1270	< 0.020	0,7370	< 0.100	< 0.100	32,2140
1B Col.	1,7170	< 0.020	0,8360	< 0.100	< 0.0100	2,4720
2A Son.	13,0700	< 0.020	5,0700	< 0.100	< 0.100	2,4880
2B Son.	8,1130	0,0500	4,2950	< 0.100	0,3320	1,2860
2C Son.	55,7200	< 0.020	5,1360	< 0.100	0,1560	4,5210
3A Son.	7,2380	0,0400	4,7900	< 0.100	0,3030	1,6190
3B Son.	1,8360	< 0.020	4,8520	< 0.100	0,3160	1,6650
3C Son.	0,4590	0,0390	4,3760	< 0.100	0,2370	< 1.000
4A Son.	0,7260	0,0320	6,3380	< 0.100	0,3290	24,7110
4B Son.	1,2930	< 0.020	4,7940	< 0.100	< 0.100	1,1380
4C Son.	10,7600	< 0.020	4,6850	< 0.100	0,1260	2,4480
5A Son.	6,2980	< 0.020	5,1130	< 0.100	< 0.100	2,5080
5B Sin.	1,0620	0,0290	4,3780	< 0.100	0,2740	2,5690
5C Sin.	2,1430	< 0.020	4,0980	< 0.100	0,2760	1,5440
6A Sin.	1,7520	0,0430	4,3620	< 0.100	0,2500	< 0.0100
6B Sin.	108,0000	< 0.020	6,0470	< 0.100	0,3470	6,3260
6C Sin.	0,4370	< 0.020	3,6810	< 0.100	0,2150	6,0940
7A Sin.	0,6660	< 0.020	4,9450	< 0.100	0,1560	2,7720
7B Sin.	0,8560	< 0.020	4,9850	< 0.100	< 0.100	3,7590
7C Sin.	0,6150	< 0.020	5,1120	< 0.100	< 0.100	2,0560
8A Sin.	90,2800	< 0.020	4,5620	< 0.100	0,2500	2,7590
9A Sin.	3,9920	< 0.020	6,8400	< 0.100	0,2000	7,0670
9B Sin.	1,9960	< 0.020	4,6150	< 0.100	0,2880	6,1900
9C Sin.	1,3070	< 0.020	6,2550	< 0.100	0,1710	4,8930
8B B.C.N.	1,2580	0,0340	5,0450	< 0.100	0,2740	1,0490
8C B.C.N.	4,1230	< 0.020	2,5610	< 0.100	< 0.100	4,8530
10A O.P.	4,1790	0,0260	6,6730	< 0.100	0,2740	< 1.000
10B B.C.S.	2,5650	0,0450	4,0980	< 0.100	0,3320	1,6120

En los resultados de minerales anteriormente descritos observamos una concentración mínima de Aluminio de 0.43 ppm en la granja 6C-Sin y un máximo de 108 de la granja 6B-Sin, en cuanto al contenido mínimo de Cadmio se encontró por debajo de los límites detectables por el laboratorio de diagnóstico en una gran parte de las granjas y el máximo se encontró en 0.05 ppm en la granja 2B-Son, el contenido mínimo de Flúor fue menor de 0.73 ppm detectado en la granja 1A-Col y el máximo fue de 6.84 ppm determinado en la granja 9A-Sin, El contenido de Molibdeno se encontró por debajo de los límites medibles por la técnica utilizada por el laboratorio (Anexo 1.4), a su vez la concentración mínima de Plomo se detectó en 0.126 ppm en la granja 10C-Nay y el nivel máximo detectado fue de 0.35 ppm en la granja 6B-Sin, los niveles mínimos de Silicio se encontraron en 1.04 ppm en la granja 8B-B.C.N. y niveles máximos de 32.21 ppm en la granja 1A Col.

Cuadro 5.3.1 Resumen de Minerales contenidos en el Agua de Fondo.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN AGUA FONDO en ppm						
	Aluminio (Al)	Cadmio (Cd)	Flúor (F)	Molibdeno (Mo)	Plomo (Pb)	Silicio (Si)
MAXIMO	108,00	0,05	6,84	< 0.100	0,35	32,21
MINIMO	0,437	0,026	0,737	< 0.100	0,126	1,049

7.3. Contenido de Minerales en Sedimento.

En el cuadro 6.1. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del Sedimento obtenida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en el caso de Calcio, Fosforo, Sodio, Magnesio, Potasio, Cloruros y Azufre en porcentaje. Esta información esta ordenada de acuerdo a su ubicación geográfica donde se comienza con las granjas ubicadas en el sur y se termina con las del norte.

Cuadro 6.1.

	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
10C Nay.	0,29	0,15	1,20	1,05	0,56	0,75	0,07
1C Nay.	0,55	0,11	1,54	1,93	0,56	0,95	0,05
1A Col.	4,83	0,09	0,37	0,09	0,29	0,92	0,12
1B Col.	1,58	0,17	0,70	0,56	0,46	1,37	0,09
2A Son.	1,15	0,15	2,28	2,77	0,83	2,11	0,25
2B Son.	0,94	0,14	1,43	1,34	0,69	1,26	0,09
2C Son.	0,88	0,11	2,24	2,50	1,41	2,25	0,23
3A Son.	0,87	0,13	1,22	1,65	0,58	1,15	0,10
3B Son.	4,75	0,10	1,93	2,63	1,20	1,65	0,10
3C Son.	1,19	0,09	1,17	1,51	0,73	1,05	0,04
4A Son.*	-	-	-	-	-	-	-
4B Son.	2,19	0,18	2,47	2,82	1,50	2,52	0,19
4C Son.	1,26	0,18	3,14	3,85	1,48	3,69	0,09
5A Son.	1,63	0,10	2,30	2,28	1,09	2,01	0,18
5B Sin.	0,80	0,13	1,88	1,78	0,59	1,37	0,06
5C Sin.	0,72	0,13	1,65	1,83	0,68	2,01	0,05
6A Sin.	0,39	0,08	1,75	1,74	0,86	1,91	0,06
6B Sin.	2,20	0,05	1,56	1,91	0,74	6,06	0,80
6C Sin.	0,76	0,13	2,60	3,89	1,42	2,64	0,03
7A Sin.	0,44	0,03	2,07	2,94	0,59	2,38	0,09
7B Sin.	0,71	0,09	1,43	1,76	0,87	1,65	0,11
7C Sin.	1,97	0,12	2,94	4,30	0,76	3,39	0,17
8A Sin.	1,21	0,09	1,27	4,26	1,20	2,53	0,04
9A Sin.	0,62	0,10	1,92	1,76	0,76	1,36	0,06
9B Sin.	0,29	0,13	1,41	1,39	0,58	0,96	0,12
9C Sin.	0,55	0,08	1,88	2,51	1,05	2,02	0,33
8B B.C.N.	1,11	0,06	1,33	1,60	0,78	2,34	0,15
8C B.C.N.	0,55	0,04	0,21	0,10	0,38	1,25	0,13
10A B.C.S	0,82	0,05	1,44	1,98	0,78	3,08	0,93

10B B.C.S.	3,28	0,35	0,82	2,87	0,76	1,56	0,06
-------------------	------	------	------	------	------	------	------

*En esta granja no se tomo muestra de sedimento por que el tanque estaba recubierto con geomembrana.

En los resultados presentados anteriormente podemos observar que la concentración mínima de Calcio fue de 0.29% en la granja 9B-Sin y un máximo de 4.83% de la granja 1A-Col, en cuanto al contenido de Fosforo se detecto un minimo de 0.03% en la granja 7A-Sin y un máximo de 4.83% en la granja 1A-Col, el contenido mínimo de Sodio fue de 0.21 % detectado en la granja 8C-B.C.N y el máximo fue de 3,14% determinado en la granja 4C Son, el contenido de Cloruros mínimo se encontró en 0.09% en la granja 1A-Col y el máximo en 4.30% en la granja 7C Sin, a su vez la concentración mínima de Potasio mínima se detecto en 0.29% en la granja 1A-Col y el nivel máximo detectado fue de 1.50% en la granja 4B-Son, los niveles mínimos de magnesio se encontraron en 0.75% en la granja 10C-Nay y los niveles máximos fueron de 6,06% en la granja 6B-Sin, los niveles mínimos de Azufre fueron de 0.03% en la granja 6C-Sin y los niveles máximos de 0.93% en la granja 10A B.C.S.

Cuadro 6.1.1. Resumen de Minerales contenidos en Sedimento.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN SEDIMENTO en %							
	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
MAXIMO	4,83	0,35	3,14	4,30	1,50	6,06	0,93
MINIMO	0,29	0,03	0,21	0,09	0,29	0,75	0,03

7.3. Contenido de Minerales en Sedimento.

En el cuadro 6.2. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del sedimento obtenido de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 6.2

GRANJA	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
10C Nay.	21.786,3700	21,1100	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	91,6650
1C Nay.	16.362,9870	35,0740	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	84,9390
1A Col.	21.643,9840	34,8400	< 0.100	< 0.100	< 0.0100	65,4910
1B Col.	32.221,9090	41,5480	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	77,4530
2A Son.	23.958,3620	27,0860	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	86,1840
2B Son.	20.690,3650	18,0510	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	73,4080
2C Son.	32.535,8520	37,5410	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	112,2870
3A Son.	1.688,0000	17,8640	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	60,1700
3B Son.	19.889,6330	30,2800	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	89,6520
3C Son.	11.287,3210	17,6240	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	50,0230
4A Son.						
4B Son.	32.217,8550	53,8130	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	169,6010
4C Son.	29.932,3400	53,6990	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	161,5450
5A Son.	33.740,7330	33,7410	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	111,1500
5B Sin.	22.129,1010	31,0810	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	105,2390
5C Sin.	22.480,0830	34,3450	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	93,2920
6A Sin.	28.614,8750	41,2400	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	86,9850
6B Sin.	24.409,6860	21,9320	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	100,8450
6C Sin.	38.393,9510	41,4940	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	168,8380
7A Sin.	26.417,6530	31,5120	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	88,5990
7B Sin.	26.377,1650	26,5060	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	89,5910
7C Sin.	30.000,0340	41,1430	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	98,8160
8A Sin.	37.327,8660	35,9650	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	109,7530
9A Sin.	24.361,0160	46,5070	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	107,9640
9B Sin.	16.148,3050	21,3550	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	69,3550
9C Sin.	28.501,2220	112,6440	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	134,6790
8B B.C.N.	15.497,5050	16,1670	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	68,4180
8C B.C.N.	9.503,3740	13,5120	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	49,2920
10A B.C.S.	19.725,1630	25,2610	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	47,2220
10B B.C.S.	20.115,6150	43,1630	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	81,2120

*En esta granja no se tomo muestra de sedimento por que el tanque estaba recubierto con geomembrana.

En el cuadro anterior observamos que el contenido mínimo de Hierro se encontró en 1688 ppm en la granja 3A-Son y el máximo se encontró en 38393.95 ppm en la granja 6C-Sin, el contenido mínimo de Cobre fue menor de 13.51 ppm detectado en la granja 8C-B.C.N y el máximo fue de 112.64 ppm determinado en la granja 9C-Sin, El contenido de Cobalto, Yodo y Selenio se encontró por debajo de los límites detectables por la técnica utilizada en el laboratorio (anexo 1.4) en todos los casos, los niveles mínimos de Zinc se encontraron en 47.22 ppm en la granja 10A-B.C.S. y los niveles máximos en 169.60 ppm en la granja 4B Son.

Cuadro 6.2.1. Resumen de Minerales contenidos en Sedimento.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN SEDIMENTO en ppm						
GRANJA	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
MAXIMO	38.393,95	112,64	< 0.100	< 0.100	< 0.100	169,60
MINIMO	1.688,00	13,51	< 0.100	< 0.100	< 0.100	47,22

7.3. Contenido de Minerales en Sedimento

En el cuadro 6.3. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnóstico ANASA de las 30 muestras provenientes del sedimento obtenido de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Se ordenaron de acuerdo a su ubicación geográfica con una orientación de sur a norte, comenzando con Nayarit y terminando con Baja California Sur.

Cuadro 6.3.

GRANJA	Aluminio (Al)	Cadmio (Cd)	Flúor (F)	Molibdeno (Mo)	Plomo (Pb)	Silicio (Si)
10C Nay.	21.101,6820	< 0.020	88,3570	< 0.100	71,6920	185.500,0000
1C Nay.	25.081,7950	< 0.020	184,5860	< 0.100	29,7710	225.600,0000
1A Col.	25.295,5340	2,0950	122,3920	< 0.100	18,9210	217.100,0000
1B Col.	33.046,4490	1,3810	125,5290	< 0.100	19,2130	234.200,0000
2A Son.	27.751,7690	1,5310	156,8960	< 0.100	25,2890	213.100,0000
2B Son.	19.970,4040	1,4570	136,6760	< 0.100	20,2680	211.400,0000
2C Son.	37.486,7350	2,0480	151,1460	< 0.100	32,6270	259.600,0000
3A Son.	18.776,0800	1,1040	201,2020	< 0.100	15,9430	199.800,0000
3B Son.	27.150,8330	1,8410	228,3250	< 0.100	27,6670	179.200,0000
3C Son.	15.068,5400	< 0.020	339,9660	< 0.100	20,8560	277.500,0000
4A Son.						
4B Son.	46.570,0710	2,2860	200,3480	< 0.100	59,2330	223.500,0000
4C Son.	44.684,0700	2,0550	113,6680	< 0.100	89,7970	206.000,0000
5A Son.	42.876,6850	2,1410	82,4080	< 0.100	30,2370	232.400,0000
5B Sin.	25.483,7010	< 0.020	131,4910	< 0.100	31,4590	201.700,0000
5C Sin.	26.851,2100	1,4360	92,8220	< 0.100	27,5380	240.700,0000
6A Sin.	37.526,3390	1,4260	124,3110	< 0.100	44,7760	211.500,0000
6B Sin.	29.247,9050	4,2260	271,8180	< 0.100	50,1310	189.200,0000
6C Sin.	38.904,3290	< 0.020	508,7310	< 0.100	61,3830	197.100,0000
7A Sin.	21.906,6720	1,6420	168,6180	< 0.100	23,9970	217.100,0000
7B Sin.	26.650,1410	1,4390	125,9140	< 0.100	21,0280	206.700,0000
7C Sin.	28.285,7170	< 0.020	329,1150	< 0.100	31,5920	238.000,0000
8A Sin.	40.053,8150	1,2400	183,2470	< 0.100	29,7380	187.700,0000
9A Sin.	24.690,4720	< 0.020	127,0410	< 0.100	35,6280	235.000,0000
9B Sin.	16.659,1010	1,2360	151,8090	< 0.100	20,0210	295.300,0000
9C Sin.	39.671,9990	< 0.020	153,7710	< 0.100	60,5760	319.600,0000
8B B.C.N.	15.939,5540	< 0.020	100,9690	< 0.100	16,9060	169.800,0000
8C B.C.N.	11.668,9040	1,3510	135,5750	< 0.100	17,2950	129.600,0000
10A B.C.S.	32.012,0300	2,6090	123,5930	< 0.100	23,4160	174.400,0000
10B B.C.S.	37.824,1100	< 0.020	232,1950	< 0.100	26,4910	202.300,0000

*En esta granja no se tomo muestra de sedimento por que el tanque estaba recubierto con geomembrana.

Realizando un análisis de los resultados anteriormente descritos observamos una concentración mínima de Aluminio de 11668.90 ppm en la granja 8C-B.C.N y un máximo de 46570.07 de la granja 4B-Son, en cuanto al contenido mínimo de Cadmio se encontró por debajo de los límites detectables por el laboratorio de diagnóstico en gran parte de las granjas y el máximo se encontró en 4.23 ppm en la granja 6B-Sin, el contenido mínimo de Flúor fue de 82.41 ppm detectado en la granja 3B-Son y el máximo fue de 228.32 ppm determinado en la granja 3B-Son, El contenido de Molibdeno se encontró por debajo de los límites detectables por la técnica utilizada por el laboratorio (anexo 1.4), a su vez la concentración mínima de Plomo se detectó en 15.94 ppm en 3A-Son y el nivel máximo detectado fue de 15.94 ppm en la granja 3A-Son, los niveles mínimos de Silicio se encontraron en 129600 ppm en la granja 8C-B.C.N. y niveles máximos de 319600 ppm en la granja 9C-Sin.

Cuadro 6.3.1. Resumen de Minerales contenidos en Sedimento.

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN SEDIMENTO en ppm

	Aluminio (Al)	Cadmio (Cd)	Flúor (F)	Molibdeno (Mo)	Plomo (Pb)	Silicio (Si)
MAXIMO	46.570,07	4,23	228,32	< 0.100	89,80	319.600,00
MINIMO	11.668,90	< 0.020	82,41	< 0.100	15,94	129.600,00

De acuerdo a los resultados anteriormente descritos y a lo reportado por Boyd (1992) en su publicación titulada WATER QUALITY AND POND SOIL ANALYSES FOR AQUACULTURE SHRIMP se pudo observar que los niveles de Potasio sobrepasan el contenido de este mineral en algunas de las muestras tomadas en granja, sin embargo al realizar el análisis de correlación con la EMB en este estudio, no se observó relación alguna, de la misma manera se observó que los demás minerales analizados no mostraron relación con la presencia de esta enfermedad, debido a que la concentración de minerales se encontraba cerca de los límites recomendados para el adecuado desarrollo, sin observar diferencias muy marcadas entre las concentraciones recomendadas y las obtenidas por el laboratorio ANASA.

El Calcio y el Magnesio en el agua de cultivo son los principales elementos que conforman la dureza del agua, siendo entre estos el más importante el calcio el cual participa de forma activa en el proceso de muda, de acuerdo a lo mencionado por Carlos A. Ching en su publicación titulada WATER ALKALINITY IN THE CULTIVATION OF MARINE SHRIMP *Litopenaeus vannamei*, donde menciona que el nivel de dureza conveniente para el camarón en acuicultura es de 80-200 mg / L CaCO_3 , a su vez menciona los efectos causados por una baja alcalinidad. Mencionando que algunos elementos ya no están disponibles para las microalgas, convirtiéndose en insolubles tal es el caso del fósforo que se presenta insoluble cuando el CaCO_3 se encuentra en concentraciones por debajo de 20 mg / l. En los resultados obtenidos en este estudio se observó que todas las granjas mostraron niveles adecuados de Calcio para el adecuado desarrollo de camarones peneidos, siendo que la concentración menor fue de 87.25 mg/L, en la granja de camarón que maneja su cultivo en agua dulce, (1A-Col) por lo que no se puede determinar que las concentraciones de calcio y magnesio de las unidades de producción están dentro de las recomendadas por este autor, coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio, donde al buscar la relación que tiene el Calcio y el Magnesio en los diferentes niveles de agua y sedimento contra la los signos de la EMB no se observó correlación significativa (.cuadro 12).

En los resultados obtenidos en este estudio sobre la concentración de Fósforo en el agua de superficie se observó que los niveles de este mineral no fueron detectados por la técnica de análisis utilizada por el laboratorio (anexo 1.4) debido a que la concentración de Fósforo fue demasiado baja, coincidiendo este hallazgo con lo reportado por Saladias en su publicación **BALANCE DE NITRÓGENO Y FÓSFORO EN ESTANQUES DE PRODUCCIÓN DE CAMARÓN EN ECUADOR**, donde menciona que el fósforo en los estanques de camarón de cultivo es metabolizado en más del 60 %, a su vez se coincide con los reportes de diversos autores (Boyd y Musig 1981; Boyd y Tucker 1998; Gross et al. 1998) quienes demuestran que la absorción de fósforo por el sedimento es el mayor factor que controla la concentración de este elemento en el agua de cultivo.

El Sodio, al igual que el ión Cloruro, juega un papel importante en la osmorregulación de los camarones (Davis y col., 2005), y junto con el potasio participa en la activación de la bomba Na^+/K^+ (Saoud y col., 2003). En el presente estudio, las concentraciones de Sodio son inferiores a las recomendadas en algunos de los resultados obtenidos (1A-Col), sin embargo esta deficiencia no mostró una correlación aparente al relacionarse con los signos correspondientes a la EMB.

Los estudios realizados con los efectos de diferentes concentraciones de salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia de camarones son diversos, dentro de estos resaltan las investigaciones realizadas por Boyd (1989) donde menciona que la salinidad óptima para el cultivo de camarón va de las 15 a las 25 g/l; sin embargo existen publicaciones contrastantes contra este resultado tales como las descritas por Bray et al (1994) el cual evaluó la adaptabilidad del camarón en un rango de salinidad de 5 a 49 g/l encontrando los mejores resultados en la salinidad de 5 a 15 g/l, aunque Villareal et al., menciona que existe un mayor consumo de oxígeno por parte de los camarones cuando estos se cultivan a altas salinidades.

De acuerdo a la bibliografía consultada podríamos concluir que la concentración de salinidad (Cloro y Sodio) se encontró dentro de los niveles apropiados para el desarrollo adecuado de camarón encontrando resultados de salinidad que van desde 1,8 a las 50 g/l, identificando

claramente que los datos analizados fueron de ambientes de agua salada, salobre y agua dulce, los cuales al realizar el análisis de correlación no mostraron significancia estadística en su relación con la mortalidad causada por la Enfermedad de la Mancha Blanca.

Por otro lado McNevin y col., (2004), reportaron incrementos en la producción de camarón en aguas a baja salinidad en Alabama (2–4 g/l) tras aumentar la concentración de K^+ (6.2mg/L) y de Mg^{2+} (4.6mg/L) hasta 40 mg/L y 20 mg/L respectivamente, utilizando muriato de potasio y sulfato de potasio y magnesio (K-mag, nombre comercial). Otros autores han demostrado lo beneficioso que resulta el mantener en el agua de cultivo concentraciones óptimas de K^+ y Mg^{2+} , al igual que de otros iones, durante la aclimatación de las postlarvas a bajas salinidades (McGraw y col., 2002; McGraw y Scarpa, 2003). La adecuada función de la ATPasa Na^+/K^+ está estrechamente ligada a la disponibilidad de Mg^{2+} , pues el mismo actúa como cofactor de esta y de muchas otras enzimas (Davis y Lawrence, 1992), en este estudio a pesar de encontrar valores por debajo de los antes descritos no se observó una clara correlación entre los signos causados por la enfermedad de las manchas blancas y las deficiencias de calcio y magnesio en el agua de cultivo, sin embargo no se realizó el análisis de las unidades que mostraron deficiencia de estos minerales contra la ganancia de peso diaria, investigación que podría realizarse en estudios posteriores.

Así mismo se puede apreciar que los porcentajes de macro-minerales encontrados en el sedimento resultan en general muy superiores a los sustratos de agua superficial y de fondo, lo que consideramos, se debe a la sedimentación de los minerales aunada al suministro de los mismos por el alimento, en el cual se observan cantidades superiores al del propio sedimento particularmente en el calcio, fósforo y potasio.

Cuadro 7. Correlación encontrada entre minerales de agua de fondo y agua de superficie.

	Cl: Na	Cl:Ca	Na:Mg	Na:K	Na:S	Mg:Ca	K:Ca	Ca:S
Correlación de Minerales en agua de superficie	0.989*	0.816	0.0.988*	0.946*	0.706	0.952*	0.670	0.516
Correlación de Minerales en agua de fondo	0.991*	0.782	0.987*	0.930*	0.950*	0.810	0.581	0.798

*Existe una correlación altamente significativa entre los minerales analizados.

Con relación al análisis realizado del agua de superficie y agua de fondo se encontró una correlación significativamente mayor en las interrelaciones del azufre en agua de fondo, en comparación con las correspondientes del agua de superficie, este hallazgo coincide con el estudio de Harvey J. y Claud E. Boyd en su trabajo: ADSORPTION OF MAGESIUM BY BOTTOM SOILS IN BRACKISH WATER SHRIMP PONDS IN ALABAMA, donde menciona. “el azufre no es absorbido apreciablemente por los suelos”, con este hallazgo se infiere que los compuestos que forma el azufre no se sedimentan.

Al realizar el análisis químico de micro-minerales encontrados en diferentes niveles tróficos del hábitat del camarón, se observa en general que el sedimento contiene cantidades significativamente mayores que el agua de fondo y el alimento, particularmente se destaca el contenido de hierro en el lodo, lo que hace suponer que este mineral reacciona con el azufre formando FeS (Sulfuro Ferroso) como lo reportó Ritvo y colaboradores (2003) y Pine y Boyd (2010), el cual se acumula en los fondos en cantidad que puede considerarse como contaminante en los estanques de cultivo, sin embargo al realizar el análisis de correlación con los signos de la EMB no se observó correlación aparente entre estos.

Cuadro 8. Análisis de regresión lineal de micro-minerales en los diferentes sustratos del hábitad que presentaron correlación, con algunos signos observados en la EMB.

	Mortalidad	Acalambrados	Deformes	Nerviosos	Ganancia Diaria
Fe	0.81	0.7641	0.871	0.0123	0.499
F	0.296	0.0427	0.4447	0.6547	0.763
Si	0.739	0.8708	0.888	0.9247	0.033

GD: Ganancia diaria de peso
 * Nivel de significancia < 0.05

Se encontró que el fierro presentó significancia estadística con los signos de nerviosismo, el flúor con el acalambramiento, y el sílice con la ganancia de peso, por lo que recomendamos más estudios en ese sentido.

7.4. Contenido de Minerales en Organismos.

En el cuadro 9.1. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del camarones adquirida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en el caso de Calcio, Fosforo, Sodio, Magnesio, Potasio y Azufre en porcentaje. Esta información esta ordenada de acuerdo a su ubicación geográfica donde se comienza con las granjas ubicadas en el sur y se termina con las del norte.

Cuadro 9.1.

GRANJA	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
10C Nay.	1,37	0,25	0,53	0,03	0,79	0,16	0,02
1C Nay.	2,01	0,29	0,71	0,04	1,01	0,21	0,03
1A Col.	2,16	0,42	0,70	0,04	1,14	0,16	0,03
1B Col.	1,55	0,28	0,81	0,05	1,09	0,17	0,02
2A Son.	1,75	0,25	1,18	0,09	1,06	0,31	0,03
2B Son.	2,13	0,22	1,52	0,08	1,19	0,32	0,03
2C Son.	1,37	0,16	1,03	0,08	0,90	0,23	0,03
3A Son.	1,83	0,15	1,19	0,07	1,24	0,29	0,03
3B Son.	1,51	0,20	0,96	0,08	0,94	0,23	0,04
3C Son.	2,06	0,16	1,10	0,07	1,12	0,30	0,03
4A Son.	2,82	0,13	1,11	0,02	0,87	0,21	0,02
4B Son.	1,91	0,16	1,91	0,06	1,37	0,38	0,02
4C Son.	1,92	0,23	1,12	0,06	1,10	0,28	0,02
5A Son.	1,72	0,11	1,42	0,05	1,10	0,29	0,02
5B Sin.	2,01	0,18	1,05	0,08	1,03	0,26	0,04
5C Sin.	1,77	0,22	1,09	0,01	1,13	0,28	0,02
6A Sin.	1,51	0,12	0,90	0,04	0,91	0,19	0,02
6B Sin.	1,88	0,32	0,96	0,06	1,12	0,25	0,04
6C Sin.	2,04	0,09	1,04	0,07	1,11	0,28	0,03
7A Sin.	1,78	0,19	1,61	0,03	1,32	0,27	0,01
7B Sin.	2,47	0,36	1,11	0,08	1,15	0,25	0,04
7C Sin.	1,97	0,30	1,31	0,04	1,13	0,31	0,01
8A Sin.	1,80	0,14	1,79	0,06	1,20	0,37	0,02
9A Sin.	2,36	0,31	1,02	0,07	1,20	0,27	0,04
9B Sin.	2,11	0,15	1,20	0,06	1,20	0,47	0,03
9C Sin.	2,21	0,24	1,20	0,03	1,52	0,31	0,02
8B B.C.N.	1,81	0,10	1,13	0,06	1,13	0,24	0,03
8C B.C.N.	2,36	0,38	0,83	0,02	1,20	0,04	0,02
10A B.C.S.	1,85	0,19	3,74	0,29	0,87	0,30	0,03
10B B.C.S.	2,28	0,14	2,10	0,14	1,19	0,29	0,03

En los resultados presentados anteriormente podemos observar que la concentración mínima de Calcio fue de 1.37% en la granja 10C-Nay y un máximo de 2.82% de la granja 4A-Son, en cuanto al contenido de Fosforo se detecto un mínimo de 0.09% en la granja 6C-Sin y un máximo de 0.42% en la granja 1A-Col, el contenido mínimo de Sodio fue de 0.53 % detectado en la granja 10C-Nay y el máximo fue de 3,74% determinado en la granja 10A-B.C.S, el contenido de Cloruros mínimo se encontró en 0.01% en la granja 5C-Sin y el máximo en 0.29% en la granja 10A-B.C.S, a su vez la concentración mínima de Potasio se detecto en 0.79% en la granja 10C-Nay y el nivel máximo detectado fue de 1.52% en la granja 9C-Sin, los niveles mínimos de Magnesio se encontraron en 0.04% en la granja 8C-B.C.N y los niveles máximos fueron de 0,47% en la granja 9B-Sin, los niveles mínimos de Azufre fueron de 0.01% en la granja 7C-Sin y los niveles máximos de 0.04% en la granja 3B-Son.

Cuadro 9.1.1. Resumen de Minerales contenidos en Organismos

CONCENTRACIÓN DE MINERALES EN ORGANISMOS en %							
	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
MAXIMO	2,82	0,42	3,74	0,29	1,52	0,47	0,04
MINIMO	1,37	0,09	0,53	0,01	0,79	0,04	0,01

Por otra parte el contenido de algunos macro-minerales encontrados en los organismos analizados resultaron similares al del alimento, con excepción del sodio que resulto con valores muy superiores en los organismos (3.7 veces más en los camarones), por lo contrario el cloro, fosforo y azufre resultaron muy superiores en los alimentos.

En el cuadro 7 se reflejan los resultados del análisis de correlación realizado entre los minerales encontradas en agua de superficie y agua de fondo, donde se observa que las relaciones del azufre con los demás iones es más intensas en el agua de fondo que en el agua de superficie, por lo que se recomienda realizar más investigaciones sobre este hecho, que pudiera estar relacionado con reacciones químicas que alteren las condiciones de pH y temperatura.

7.5. Contenido de minerales en Alimento.

En el cuadro 10.1. se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnostico ANASA de las 30 muestras provenientes del Alimento adquirida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en el caso de Calcio, Fosforo, Sodio, Magnesio, Potasio y Azufre en porcentaje. Esta información esta ordenada de acuerdo a su ubicación geográfica donde se comienza con las granjas ubicadas en el sur y se termina con las del norte.

Cuadro 10.1.

GRANJA	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
10C Nay.	2.54	0.86	0.34	0.71	0.56	0.23	0.27
1C Nay.	2.10	0.34	0.62	0.71	1.21	0.21	0.30
1A Col.	1.90	0.81	0.87	0.82	3.03	0.58	0.28
1B Col.	1.27	1.11	0.17	0.77	1.19	0.21	0.24
2A Son.	2.38	1.17	0.17	0.52	1.52	0.24	0.30
2B Son.	0.91	0.84	0.16	0.55	1.42	0.18	0.25
2C Son.	1.42	0.93	0.18	0.70	1.11	0.16	0.24
3A Son.	2.34	1.27	0.27	0.17	1.16	0.21	0.32
3B Son.	1.31	1.66	0.20	0.17	1.02	0.19	0.20
3C Son.	1.55	1.42	0.26	0.64	1.28	0.18	0.23
4B Son.	1.31	1.00	0.17	0.68	1.30	0.23	0.27
4B Son.	1.31	1.00	0.17	0.68	1.30	0.23	0.27
4C Son.	1.34	1.09	0.22	0.63	1.09	0.19	0.25
5A Son.	2.54	0.76	0.35	0.16	1.15	0.22	0.32
5B Sin.	1.38	0.61	0.30	0.16	1.48	0.40	0.23
5C Sin.	1.21	0.60	0.35	0.62	1.34	0.25	0.24
6A Sin.	1.59	0.57	0.29	0.62	1.22	0.23	0.26
6B Sin.	1.39	0.48	0.23	0.65	1.39	0.23	0.19
6C Sin.	2.06	0.77	0.33	0.63	1.26	0.29	0.27
7A Sin.	3.18	0.79	0.33	0.78	1.67	0.38	0.25
7B Sin.	2.02	1.18	0.31	0.74	1.21	0.26	0.25
7C Sin.	2.76	0.63	0.59	0.33	0.63	0.18	0.33
8A Sin.	1.14	0.45	0.17	0.73	1.14	0.25	0.22
9A Sin.	2.72	0.91	0.55	0.80	1.46	0.27	0.31
9B Sin.	2.34	0.37	0.36	0.77	1.38	1.19	0.35
9C Sin.	1.11	1.21	0.38	0.68	1.69	0.27	0.23
8B B.C.N.	1.59	0.38	0.49	0.70	1.25	0.87	0.30
8C B.C.N.	2.57	0.62	0.62	0.71	1.38	0.28	0.34
10A B.C.S.	1.27	1.24	0.19	0.80	1.34	0.18	0.31
10B B.C.S.	1.30	1.49	0.16	0.63	1.38	0.18	0.23

En los resultados presentados anteriormente podemos observar que la concentración mínima de Calcio fue de 0.91% en la granja 2B-Son y un máximo de 3,18% de la granja 7A-Sin, en cuanto al contenido de Fosforo se detecto un mínimo de 0.34% en la granja 1C-Nay y un máximo de 1.66% en la granja 3B-Son, el contenido mínimo de sodio fue de 0.16% detectado en la granja 2B-Son y el máximo fue de 0.87% determinado en la granja 1A Col, el contenido de Cloruros mínimo se encontró en 0.16% en las granjas 5A Son y 5B Sin y el máximo en 0.82% en la granja 1A-Col, a su vez la concentración mínima de Potasio se detecto en 0.56% en la granja 10C-Nay y el nivel máximo detectado fue de 3.03% en la granja 1A-Col, los niveles mínimos de Magnesio se encontraron en 0.16% en la granja 2C-Son y los niveles máximos fueron de 1.19% en la granja 2C-Son, los niveles mínimos de Azufre fueron 0.19% en la granja 6B-Sin y los niveles máximos de 0.35% en la granja 9B-Sin.

Cuadro 10.1.1. Resumen de Minerales contenidos en Alimento.

CONTENIDO DE MINERALES EN ALIMENTO en ppm							
	Calcio (Ca)	Fósforo (P)	Sodio (Na)	Cloruros (Cl)	Potasio (K)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
MAXIMO	3,18	1,66	0,87	0,82	3,03	1,19	0,35
MINIMO	0,91	0,34	0,16	0,16	0,56	0,16	0,19

7.5. Contenido de minerales en Alimento.

En el cuadro 10.2 se observan los resultados del contenido de minerales obtenidos por el laboratorio de diagnóstico de las 30 muestras provenientes del Alimento adquirida de las granjas en estudio (cuadro 1), estos datos fueron expresados en ppm. Esta información esta ordenada de acuerdo a su ubicación geográfica donde se comienza con las granjas ubicadas en el sur y se termina con las del norte.

GRANJA	Manganeso (Mn)	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
10C Nay.	76,39	125,78	43,57	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	192,27
1C Nay.	66,99	185,24	41,72	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	393,89
1A Col.	61,51	223,98	26,45	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	219,03
1B Col.	97,72	179,46	50,65	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	159,40
2A Son.	61,58	240,48	40,24	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	154,03
2B Son.	50,10	176,12	41,60	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	127,17
2C Son.	39,44	87,75	51,10	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	117,82
3A Son.	120,51	235,18	41,46	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	84,62
3B Son.	56,12	182,17	52,11	< 0.10	< 0.01	< 0.0100	356,00
3C Son.	58,33	228,54	53,85	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	153,42
4B Son.	48,63	225,76	45,44	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	129,41
4B Son.	48,63	225,76	45,44	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	129,41
4C Son.	39,49	286,69	63,81	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	37,45
5A Son.	111,32	181,21	37,83	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	82,70
5B Sin.	48,19	192,86	16,09	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	84,44
5C Sin.	104,76	196,49	26,68	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	118,41
6A Sin.	163,94	95,91	22,76	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	115,71
6B Sin.	97,40	224,00	25,77	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	96,30
6C Sin.	95,33	94,67	27,43	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	99,68
7A Sin.	86,48	240,40	55,44	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	219,27
7B Sin.	58,52	92,71	29,86	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	105,12
7C Sin.	65,21	203,98	61,46	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	262,89
8A Sin.	90,25	170,82	26,35	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	90,48
9A Sin.	58,70	137,10	61,13	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	241,93
9B Sin.	64,21	179,46	17,82	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	161,14
9C Sin.	50,17	102,11	34,75	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	127,03
8B B.C.N.	54,07	96,11	8,85	< 0.10	< 0.01	< 0.0100	68,24
8C B.C.N.	65,25	226,36	60,97	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	243,03
10A O.P.	46,01	193,98	32,43	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	142,82
10B B.C.S.	64,15	231,02	42,01	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	113,64

En los resultados presentados anteriormente podemos observar que la concentración mínima de Magnesio fue de 39.44 ppm en la granja 2C-Son y un máximo de 163.94 de la granja 6A-Sin, en cuanto al contenido de Hierro se detecto un mínimo de 87.75 ppm en la granja 2C-Son y un máximo de 286.69 en la granja 4C-Son, el contenido mínimo de Cobre fue de 8.85 ppm detectado en la granja 8B-B.C.N y el máximo fue de 63.81 ppm determinado en la granja 4C-Son, el contenido de Cobalto, Yodo y Selenio se encontraron por debajo del limite de medición detectable por el laboratorio < 0.100 en todos los casos, a su vez se encontraron los niveles mínimos de Zinc en 37.45 ppm en la granja 4C-Son y los niveles máximos fueron de 393.89 ppm en la granja 1C-Nay.

Cuadro 10.2.1. Resumen de Minerales contenidos en Alimento

ALIMENTO en ppm							
	Manganeso (Mn)	Hierro (Fe)	Cobre (Cu)	Cobalto (Co)	Yodo (I)	Selenio (Se)	Zinc (Zn)
MAXIMO	163,94	286,69	63,81	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	393,89
MINIMO	39,44	87,75	8,85	< 0.100	< 0.01	< 0.0100	37,45

La información existente sobre requerimientos de minerales en la dieta de peces y camarones es escasa. Ello se debe principalmente a la complejidad que surge debido a la habilidad de los organismos acuáticos a regularse con el medio circundante, además de los minerales captados en el alimento ingerido y debido también a su variación en la respuesta a la regulación de sales (presión osmótica).

De lo mencionado anteriormente, es evidente que el requerimiento dietético de un pez o camarón, para algún elemento en particular dependerá en gran medida de la concentración de ese elemento en el agua. Hasta el momento, existe poca información concerniente a la contribución de los elementos presentes en el agua, al balance total de minerales para peces y camarones (Tacon, Knox and Cowey, 1984).

Los requerimientos de minerales en la dieta, normalmente se cuantifican al suministrar dietas purificadas o semi-purificadas conteniendo niveles graduales de cada elemento, considerándose el "punto de inflexión" observado en la curva de crecimiento, o la eficiencia alimenticia ó el nivel de enzima tisular como indicadores del requerimiento dietético (para revisión consultar a Cowey and Sargent, 1972; Cho, Cowey and Watanabe 1985; Kanasawa, 1983; Lall, 1979; Nose and Arai, 1979; NRC, 1983; y Robinson and Wilson, 1985). Como en el caso de las vitaminas, la mayoría de los estudios se han realizado en condiciones controladas en laboratorio y es muy poca la información existente sobre los requerimientos de minerales para camarones en condiciones prácticas de cultivo semi-intensivas o intensivas, usando dietas prácticas.

Sin embargo a pesar de esas limitaciones, se pudo encontrar los requerimientos de minerales en las dietas para camarón, las cuales se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 2. Requerimiento de minerales en la dieta de camarones (Tacón, 1987).

Especie	Requerimiento en la dieta.	Referencia
Calcio		
<i>P. japonicus</i>	1-2 %	Kanazawa et al. (1984)
<i>P. japonicus</i>	1.24%	Kitabayashi et al. (1971)
<i>P. japonicus</i>	1.00%	Kanazawa (1985)
<i>P. japonicus</i>	<0.50 %	Deshimaru et al. (1978)
Fosforo		
<i>P. japonicus</i>	1.04 %	Kitabayashi et al. (1971)
<i>P. japonicus</i>	2.00 %	Deshimaru y Yone (1978)
<i>P. japonicus</i>	1.00 %	
	1.2 %	Kanazawa et al. (1984)
Cloruro de Sodio		
<i>P. aztecus</i>	ND	Shewbart et al. (1973)
<i>P. japonicus</i>	0.2%	Deshimaru et al. (1978)
Potasio		
<i>P. japonicus</i>	1 %	Deshimaru & Yone (1978a)
<i>P. japonicus</i>	0.9%	Kanasawa (1983)
Magnesio		
<i>P. japonicus</i>	0.30 %	Kanazawa (1984)
	ND	Deshimaru y Yone (1978)
<i>P. merguensis</i>	3%	Aquacop (1978)
Hierro		
<i>P. japonicus</i>	ND	Kanazawa et al. (1984)
	ND	Deshimaru et al. (1978)
Cobre		
<i>P. japonicus</i>	ND	Kanazawa et al. (1984)

7.6. Análisis de los resultados de PCR.

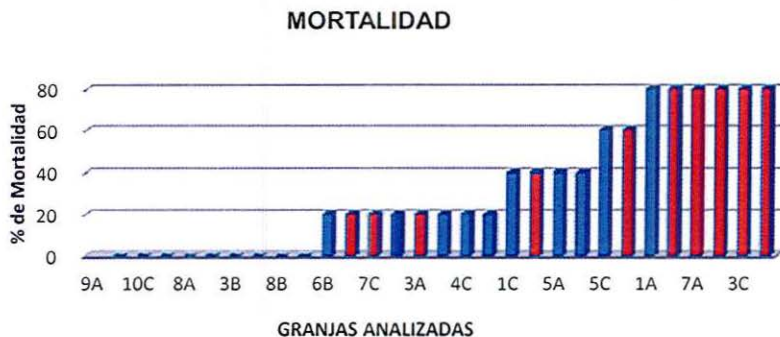
En el cuadro 10. Se presentan los resultados reportados por el laboratorio para detectar la presencia de la EMB en los camarones de cultivo, mediante la técnica molecular de PCR. Indicando los resultados Positivos (-) y los negativos (+), enmarcando en estos últimos los no amplificados y los no detectados, (Ver anexo 4).

Cuadro 11. Resultados de laboratorio de diagnostico técnica PCR para detección de la EMB.

Resultados de laboratorio para PCR										
GRANJA	1B	1A	1C	10C	9C	6C	6B	6A	5C	5B
PCR	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
GRANJA	8A	7C	7B	7A	9A	9B	5A	2C	3A	2B
PCR	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
GRANJA	2A	3B	3C	4A	4B	4C	8C	8B	10B	10 ^a
PCR	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-

De acuerdo a los resultados obtenidos por el laboratorio de diagnostico del CIAD Mazatlán y fue determinada la presencia del virus que causa la Enfermedad de las Manchas Blancas en las muestras de organismos de las granjas 9C, 6A, 5B, 8A, 7C, 7A, 3A, 2B, 2A, 3C, y 4 B marcándose estas con un signo de (+).

Grafica 2. Análisis de resultados de PCR con mortalidad.



Barras azules: Granjas Negativas a PCR **Barras rojas:** Granjas Positivas a PCR.

NOTA: La granja 8A resultado positiva al PCR, sin embargo no presento mortalidades significativas.

En el análisis que resulta de su correlación con la mortalidad, se denota que ésta presenta mayor grado de casos positivos cuando la mortalidad es alta, sin embargo cuando los porcentajes de mortalidad son bajos existe mayor grado de incertidumbre con este tipo de estudio. Haciendo un análisis de su posible correlación entre la sintomatología atribuible a la EMB, se observó que los hallazgos en el diagnóstico de PCR pudiese no ser 100% efectivo, pues los resultados acertaron en un 80% de la media de los casos en los que se presentó la mortalidad, y un 20 % en la media de los que no se presentó el problema. Sin embargo debido a escaso número de muestras analizadas en este estudio no se puede determinar claramente este resultado, recomendándose realizar estudios complementarios que nos permitan conocer con mayor certeza las variables implícitas de ésta enfermedad.

TESIS/CUCBA

7.7. Análisis de los resultados de estudio histopatológico.

Cuadro 12. Resultados de Histopatología para nódulos de calcio.

GRANJA	1B	1A	1C	10C	9C	6C	6B	6 A	5C	5B
HISTOPATOLOGICO	NP	NP	++	-	-	-	++	NP	NP	NP
GRANJA	8A	7C	7B	7A	9A	9B	5ª	2C	3 A	2B
HISTOPATOLOGICO	-	NP	NP	NP	+++	-	NP	NP	NP	NP
GRANJA	2A	3B	3C	4A	4B	4C	8C	8B	10B	10 A
HISTOPATOLOGICO	NP	NP	+++	NP	NP	NP	NP	NP	-	++

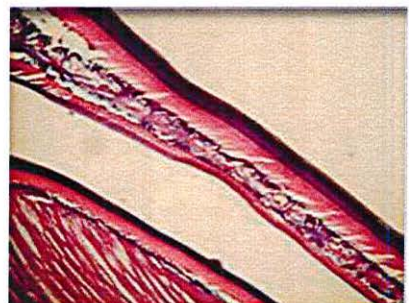
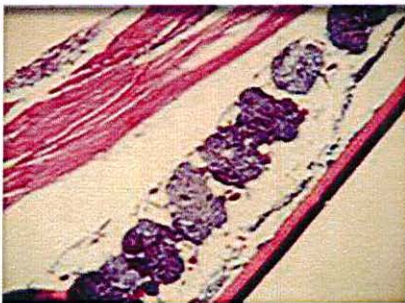
NP: No procesada.
+ Escasos

- No observados
++Escasos a moderados

+++ Moderados a abundantes

En los resultados de histopatología realizado a los camarones descritos en el cuadro anterior se pudo observar que los organismos de las granjas 9A Y 3C mostraron una concentración de nódulos de Calcio de Moderada a abundante, los organismos de las unidades de producción 1C, 6B, Y 10 A presentaron una concentración de nódulos de Calcio de escasos a moderados, y las granjas 10C, 9C, 6C, 8A, 9B y10B, no se observó presencia de estos nódulos, es importante señalar que no se procesaron las 30 muestras debido a falta de recursos las muestras que no se procesaron están marcadas como NP.

En las imágenes 5 y 6 se presentan los resultados Histopatológicos que permiten el diagnóstico de los depósitos de minerales en los camarones de cultivo.



Figuras 6 y 7 Cortes Histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina, y la tinción para polisacáridos de Azul Alcian PAS, en donde: (a) Se observa un corte transversal a nivel medio de un camarón que estuvo consumiendo alimento con balance negativo de Mg, en él se aprecian nódulos de calcio teñidos de color púrpura, (b) un corte transversal a nivel medio de un camarón que estuvo consumiendo alimento con balance positivo de Mg, donde no se aprecian nódulos de Calcio.

En la imagen 5, se observa la presencia de nódulos de calcio a nivel histológico, de acuerdo con lo citado por Morales Covarrubias (2004) y Morales y Cuellar (2008) son el origen de las manchas blancas características de la EMB. Por lo contrario en la imagen 6, se describe un corte histológico de un camarón en el que no se observaron nódulos de calcio. Éste hallazgo de nódulos de calcio se repitió en el 100% de las muestras procesadas, correspondientes a granjas que consumieron alimentos con balance positivo de magnesio.

Nódulos de Calcio éste hallazgo se repitió en el 60% de las muestras procesadas, correspondientes a granjas que consumieron alimentos con un balance negativo de magnesio, lo que consideramos demuestra la deficiencia crónica de magnesio y que los nódulos de calcio son formados debido a que al retirar magnesio de la reserva (exoesqueleto) se libera calcio, el cual se deposita en el tejido subcuticular del cefalotórax.

Por lo contrario en la imagen 6, se describe un corte histológico de un camarón en el que no se observaron nódulos de calcio. Éste hallazgo se repitió en el 100% de las muestras procesadas, correspondientes a granjas que consumieron alimentos con balance positivo de magnesio.

Balance negativo de magnesio Lo que corresponde a lo reportado por Liu y colaboradores en 1995.

7.8. Relación de hallazgos con la enfermedad de la Mancha Blanca.

Cuadro 13. Resultados del análisis estadístico utilizado para evaluar la correlación de la mortalidad con los macro-minerales encontrados.

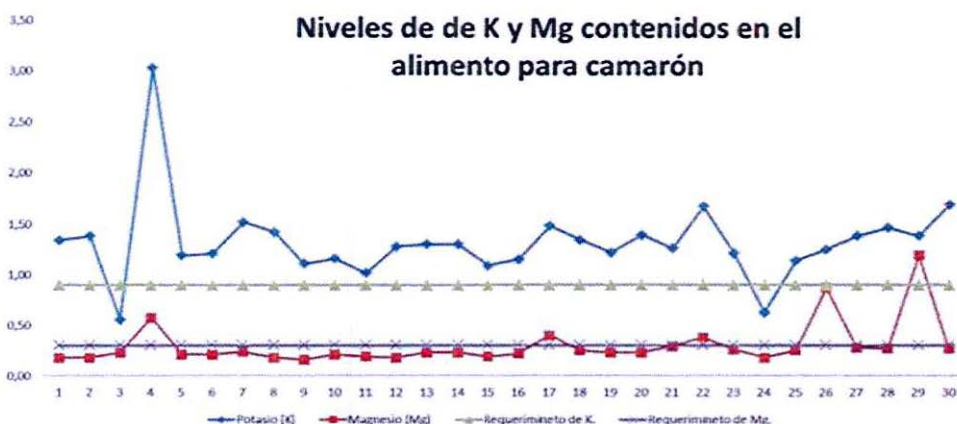
TIPO DE MUESTRA	Ca	P	Na	Cl	K	Mg	S
AGUA SUPERFICIAL	0.9507	ND	0.3202	0.4458	0.388	0.4245	0.9362
AGUA DE FONDO	0.7997	ND	0.4222	0.4944	0.2313	0.5369	0.5536
SEDIMENTO	0.9268	0.421	0.4529	0.5206	0.8359	0.9768	0.8527
ALIMENTO	0.6946	0.7136	0.9421	0.9333	0.0109*	0.4683	0.2259
CAMARÓN	0.8389	0.7007	0.9377	0.489	0.1765	0.4935	0.5742

* Nivel de significancia < 0.05

ND No detectado.

En éste cuadro 13 resalta que el potasio encontrado en los alimentos balanceados es el único elemento que tiene una correlación estadística directamente proporcional con la mortalidad de las granjas con un 95% de certeza, lo que permite señalar la importancia de los niveles de éste elemento en la presentación de esta enfermedad.

Gráfica 3. Comparación de los requerimientos de K y Mg, contra los niveles encontrados en los alimentos muestreados (% en B.S.).



En ésta gráfica se comparan los requerimientos de K y Mg (en % B.S.) con los contenidos de estos minerales en los alimento muestreados. Se denota que los requerimientos de potasio se ven ampliamente superados en el aporte de este mineral a través del alimento, mientras que el magnesio permanece en niveles muy próximos a sus requerimientos nutricionales (Kansawa, 1983).

En el cuadro 14 se evalúa estadísticamente la posible relación causal de los signos asociados a la presencia de la EMB en camarones de cultivo con desbalances por el excedente de Potasio y la relación iónica Calcio-Magnesio en el alimento.

Cuadro 14. Evaluación realizada entre el excedente de potasio encontrado en los alimentos y la relación Calcio-magnesio del mismo, contra algunos síntomas de la EMB.

	MORTALIDAD	ACALAMBRADOS	Ganancia Diaria
K excedente	0.0225	0.0462	0.4847
Ca:Mg	0.8985	0.9394	- 0.0407

* Nivel de significancia < 0.05

En éste cuadro se observa que el excedente de potasio denota una correlación altamente significativa en relación con los signos atribuibles a la EMB como son mortalidad y acalambros. Por lo contrario en la relación "Calcio: Magnesio" se denota que solo existe una correlación inversamente proporcional en el caso de Ganancia de peso Diaria.

En el cuadro 15 se observan; el Balance de Magnesio en los alimentos y los resultados de PCR reportados por el laboratorio, correlacionados con los signos y síntomas observados en las granjas.

Cuadro 15. Correlación del Balance de Magnesio y PCR con signos de la EMB

	MORTALIDAD	CALAMBRES	DEFORMES	NERVIOSOS	GANANCIA DIARIA
B Mg	< .0001 (-)	< .0001 (-)	0.2112	0.0009	0.1342
PCR	< .0001	0.6425	< .0001	0.9072	0.0004

* Nivel de significancia < 0.05

Éste cuadro describe la relación de signos como mortalidad y calambres con el balance de magnesio, mismos que son muy significativos al presentar una relación inversamente proporcional (a mayor balance de magnesio menor mortalidad y calambres), así mismo se denota una relación directamente proporcional de éste balance con el grado de nerviosismo (entendiendo como tal el grado de respuesta a estímulos). Por otra parte no se encontró alguna relación estadísticamente significativa atribuible al desbalance de magnesio en la deformidad y ganancia de peso diario.

En este mismo cuadro, los estudios moleculares de PCR expresan alta relación con la mortalidad, deformidad y ganancia diaria, sin embargo no se encontró relación con organismos acalambrados y con nerviosos.

Cuadro 16. Análisis estadístico para demostrar la relación entre las diferentes marcas de alimentos y los signos y síntomas observados en la enfermedad.

	MORTALIDAD	CALAMBRES	DEFORMES	NERVIOSOS	GANANCIA DIARIA
ALIMENTOS	< .0001	< .0001	< .0001	< .0001	< .0001

* Nivel de significancia < 0,05

En este estudio se observa una clara relación entre la marca de alimento utilizada en cada granja y los signos atribuibles a la EMB.

Cuadro 17. Análisis estadístico que relaciona el índice de mortalidad observado en las granjas con las marcas comerciales de alimentos balanceados muestreados en este estudio.

ALIMENTO	PROMEDIO MORTALIDAD	PRUEBA DE DUNCAN
1.ACUAPROFIL	80	A
2.ELPEDREGAL	80	A
3.APICAMARÓN	60	A
4.AZTECA	36	B
5.VIMIFOS	34	B C
6.ZEIGLER	30	B C
7.PREVITEP	27,14	B C
8.CAMARONINA	10	C D
9.PERFORMANCE	0	D
10.AZTECA-T	0	D

Al realizar el análisis de los resultados estadísticos de la determinación de minerales en agua superficial, agua de fondo, y sustrato de los estanques de cultivo de camarón relacionando estos con la mortalidad y sintomatología presente en granjas afectadas por la EMB, se observó que a excepción de los minerales contenidos en el alimento, no se observó diferencias significativas como causa de la EMB, sin embargo se realizó la siguiente discusión de los resultados:

Con relación a los resultados presentados en este cuadro se demuestra que en general los alimentos balanceados presentan una relación altamente significativa con todos los signos observados en la enfermedad de la mancha blanca. Lo que nos permite sustentar la importancia que tiene el balance iónico en los alimentos, en la salud de los organismos cultivados.

VIII. Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio:

1. Se permite establecer que existe un desbalance de minerales en el hábitat del camarón, específicamente un exceso de K en el alimento que causa una deficiencia de Mg. Esta enfermedad metabólica es un factor predisponente para la manifestación de patologías de diversa índole, incluyendo la EMB.
2. Los resultados de la técnica diagnóstica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) son indicativos de la presencia del virus, sin embargo, no necesariamente se asocia con los signos clínicos de la EMB. Es decir, podemos encontrar resultados positivos de PCR sin observar signos clínicos y viceversa.
3. Histológicamente se demuestra que existen depósitos de Ca en el tejido subcuticular de los camarones, derivado de una Hipomagnesemia crónica.
4. Para descartar la posibilidad de que existen niveles tóxicos de K en el agua, es necesario realizar estudios colaterales.
5. Dado el número de variables que resultaron involucradas, es necesario ampliar el número de observaciones, mediante estudios que den seguimiento de ciclo completo a los cultivos de camarón.

IX.Recomendaciones.

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio y por el número de variables que resultaron involucradas se permite emitir las siguientes recomendaciones:

1. Verificar el contenido de minerales en ingredientes comúnmente utilizados para la elaboración de alimentos balanceados para el cultivo de camarón.
2. Realizar estudios que permitan comprobar si el balance de Mg en el alimento es capaz de disminuir los efectos causados por la EMB.
3. Estudiar el comportamiento de los minerales dentro del estanque de cultivo durante un ciclo de producción.
4. Cuantificar la economía del K en el hábitat del camarón de cultivo, a lo largo de un ciclo de producción.
5. Determinar los rangos de temperaturas durante todo el ciclo en estanques experimentales, para correlacionarla con niveles de K y los signos clínicos de la EMB.
6. Determinar la Dosis Letal Media (DL50), de K en agua para el *L. vannamei* a diferentes salinidades.
7. Determinar las concentraciones de K en las fuentes de agua, hasta sus orígenes.
8. Determinar la dinámica de los electrolitos a diferentes temperaturas.
9. Organizar cursos de capacitación y actualización en nutrición, que faciliten la prevención de enfermedades metabólicas con objeto de incrementar la productividad en ésta especie.

X.ANEXOS.

ANEXO 1.1. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales en Organismos

Mineral Analizado	Metodología Utilizada
Fosforo	NMX-AA-029-SCFI-2001
Potasio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Calcio	EPA 200.7 1998
Magnesio	EPA 200.7 1998
Sodio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Azufre	AOAC 17th 2000 3,4.15 (923.01)
Cloruros	S.M 20 TH 4500-I (VOLUMETRICO)

**ANEXO 1.2. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales
en Alimento**

Mineral Analizado	Metodología Utilizada
Selenio	EPA 200.7 1998
Fosforo	NMX-AA-029-SCFI-2001
Potasio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Calcio	EPA 200.7 1998
Magnesio	EPA 200.7 1998
Sodio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Hierro	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobre	NMX-AA-051-SCFI-2001
Zinc	NMX-AA-051-SCFI-2001
Manganeso	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobalto	NMX-AA-051-SCFI-2001
Azufre	AOAC 17th 2000 3,4.15 (923.01)
Cloruros	S.M 20 TH 4500-I (VOLUMETRICO)
Yodo	S.M.118-SCFI-2001

**ANEXO 1.3. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales
en Alimento**

Mineral Analizado	Metodología Utilizada
Selenio	EPA 200.7 1998
Aluminio	EPA 200.7 1998
Fosforo	NMX-AA-029-SCFI-2001
Potasio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Calcio	EPA 200.7 1998
Magnesio	EPA 200.7 1998
Sodio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Hierro	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobre	NMX-AA-051-SCFI-2001
Zinc	NMX-AA-051-SCFI-2001
Manganeso	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobalto	NMX-AA-051-SCFI-2001
Molibdeno	EPA 200.7 1998
Silicio	Calculo Estequimetrico a partir de la NMX-AA-074-1981
Azufre	AOAC 17th 2000 3.4.15 (923.01)
Cloruros	S.M 20 TH 4500-I (VOLUMETRICO)
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Fluoruros	NMX-AA-077-SCFA-2001
Plomo	NMX-AA-051-SCFI-2001
Yodo	S.M.118-SCFI-2001

**ANEXO 1.4. Metodología Utilizada para determinar el contenido de minerales
Sedimento en el Estanque.**

Mineral Analizado	Metodología Utilizada
Selenio	EPA 200.7 1998
Aluminio	EPA 200.7 1998
Fosforo	NMX-AA-029-SCFI-2001
Potasio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Calcio	EPA 200.7 1998
Magnesio	EPA 200.7 1998
Sodio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Hierro	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobre	NMX-AA-051-SCFI-2001
Zinc	NMX-AA-051-SCFI-2001
Manganeso	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cobalto	NMX-AA-051-SCFI-2001
Molibdeno	EPA 200.7 1998
Silicio	Calculo Estequimetrico a partir de la NMX-AA-074-1981
Azufre	AOAC 17th 2000 3.4.15 (923.01)
Cloruros	S.M 20 TH 4500-I (VOLUMETRICO)
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Cadmio	NMX-AA-051-SCFI-2001
Fluoruros	NMX-AA-077-SCFA-2001
Plomo	NMX-AA-051-SCFI-2001
Yodo	S.M.118-SCFI-2001

ANEXO. 2 Técnica de Tinción Histológica de Azul Alcían de PAS Utilizada para teñir nódulos de calcio en tejidos de camarón.

La tinción PAS (periodic acid-Schiff) es uno de los métodos químicos más empleados en histología. En la tinción PAS se trata el material con ácido peryódico, que oxida los 1,2-glicoles formándose grupos aldehído. Con el reactivo de Schiff, los aldehídos reaccionan dando un color rojo luminoso. Con polisacáridos no substituidos, mucopolisacáridos neutros, mucoproteínas y glucoproteínas, glucolípidos y fosfolípidos, la tinción PAS da una reacción de color específica. Combinando la tinción PAS con azul alcían pueden identificarse además mucosustancias ácidas (glucosaminoglicanos).

Material

Como material de partida se emplean cortes de tejido fijado en formalina e incluido en parafina o bien extensiones celulares. Cortes parafinicos de 3-5 μm de espesor.

Reactivos

Componentes en el kit de tinción PAS, Merck art. nro. 1.01646.

Solución 1: Ácido peryódico 0,5 %, acuoso 500 ml

Solución 2: Reactivo de Schiff 500 ml

Preparación

1. Solución de azul alcían al 1%

Se disuelven, revolviendo, 5 g de azul alcían 8 GX Certistain® en 500 ml de ácido acético al 3%. El valor del pH es aprox. 2,5.

2. Solución de ácido acético al 3%

Mezclar cuidadosamente 485 ml de agua destilada con 15 ml de ácido acético del 100%.

Procedimiento y Tiempos de la Técnica Utilizada.

1. Desparafinar en forma típica los cortes y rehidratar
2. Solución de azul alcian 5 min.
3. Agua corriente del grifo, fluente 3 min.
4. Enjuagar en agua destilada.
5. Ácido peryódico 10 min.
6. Agua corriente del grifo, fluente 3 min.
7. Enjuagar en agua destilada.
8. Reactivo de Schiff 15 min.
9. Agua corriente del grifo, fluente 3 min.
10. Enjuagar en agua destilada.
11. Solución de hematoxilina modificada según Gill III 20 segundos
12. Agua corriente del grifo 3 min.
13. Montaje

Resultado

Núcleos azul

Mucosustancias ácidas azul claro

Polisacáridos, mucopolisacáridos neutros púrpura

Nota técnica

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico. Seguir las indicaciones de empleo del fijador.

Deben seguirse las indicaciones de empleo del histoprocesamiento y las instrucciones de empleo del fabricante del aparato y del software.

Si se utiliza un aparato automático de tinción, deben tenerse en cuenta las instrucciones de empleo del fabricante del aparato y del software.

Preparación de las muestras

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología.

Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación/el empleo.

Almacenamiento

El kit de tinción debe almacenarse entre +15°C y +25°C

Las soluciones pueden usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Estabilidad

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15°C y +25°C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

ANEXO 3. Técnica molecular recomendada por la Organización Internacional de Epizootias (OIE) para realizada la determinación de la enfermedad de las Manchas Blancas.

La técnica y métodos de muestreos de PCR descrita aquí proviene de (Lo et al. 1996) y (Lo et al. 1996). Este método es recomendado para todas las situaciones donde se requiera el diagnóstico del WSSV (White Spot Syndrome Virus). Cabe aclarar que la confirmación del resultado en la primera etapa (paso) de este protocolo estándar implica una seria infección del WSSV, mientras que el obtener una confirmación en la segunda etapa de amplificación solo indica una infección latente o confirma el estado de portar el WSSV. Ensayos alternativos de PCR también han sido desarrollados en (e.g. Numan & Lightner, 2011), pero se recomienda usarlos como comparación del protocolo que se describirá a continuación.

Kits de PCR comerciales están disponibles para el diagnóstico de WSSV y son aceptables siempre y cuando hayan sido validados. Para más información consultar el Registro de la OIE para los kits certificados por la OIE (http://www.oie.int/vcda/eng/en_vcda_registre.htm).

Extracción de DNA

1) Colectar 100-200 mg de Tejido de Camarón (pleópodos en juveniles hasta camarones subadultos, si son postlarvas colocar de 10 a 11 de ellas hacia arriba sin cabeza, o utilizar 100 micro-litros de hemolinfa) y colocarlos dentro de un tubo de 1.5 ml de microcentrifuga con 600 µl de solución de Lisis (100 mM NaCl, 10 mM de Tris / HCl con pH 8, 25 mM EDTA [etileno diamina tetra-acético], 0,5% de SLS [N-lauril sarcosinato de sodio] o 2% de SDS [dodecilsulfato sódico], y 0,5 mg/ml de proteinasa K añadido justo antes del uso). Para obtener una detección no destructiva, los pleópodos de los organismos se pueden eliminar con pinzas calientes. Para este procedimiento, el animal debe ser envuelto en una toalla húmeda dejando expuesto solo el órgano a extirpar.

II) Usando un palillo desechable, homogenice desde el fondo los tejidos que se encuentran en el tubo.

III) Después de haber homogenizado incube a 65°C por 1hr.

IV) Adicione 5M de NaCl a una concentración final de 0.7M. Después lentamente añada 1/10 de volumen de N-cetil N, N, N trimetilamonio bromuro (CTAB) / solución de NaCl (10% de CTAB en 0,7 M NaCl) y revuelva a fondo.

Nota: Además del método de extracción CTAB descrito aquí, kits de extracción comerciales se utilizan a menudo como parte de las actividades normales de vigilancia.

V) Incubar a 65°C por 10 min. Después a temperatura ambiente adicione un volumen igual de cloroformo / alcohol isoamílico (24/1) y mezclar suavemente. Centrifugue a 13000 rpm por 5 min y después transfiera la solución acuosa (capa superficial) a un nuevo tubo de 1.5 ml. y adicione un volumen igual de fenol.

VI) Revuelva suavemente y centrifugue a 13000 rpm durante 5 min. Colecte la parte superficial de la solución y repita el proceso de extracción con fenol una o dos veces mas.

VII) Transfiera la capa superficial final a un nuevo tubo, mezcle suavemente con dos volúmenes de cloroformo / alcohol isoamílico (24/1) y centrifugue a 13000 rpm durante 5 min.

VIII) Transfiera la capa superficial a un nuevo tubo y al DNA precipitado agregue dos volúmenes de 95% de etanol absoluto seguido de un reposo de 30 min. a 20°C o bien 15 min a 80°C

IX) Centrifugue a 13000 rpm durante 30 min. y descarte o retire el etanol. Lave el precipitado de DNA con 70% de etanol, seque y re suspenda en 100µl de agua destilada a 65°C por 15 min. X) Use 1µl de esa solución de DNA para un PCR.

Nota: Los siguientes procedimientos para PCR están bien establecidos y proporcionan resultados con diagnósticos fiables bajo condiciones específicas. Se debe tener cuidado para asegurar que las muestras de ADN se prepararon a partir de los órganos recomendados, y que la temperatura a la cual se elaboro el PCR se aplique con precisión (en el caso del recocado la temperatura recomendada es 62 ° C). Para evitar la posibilidad de falsos resultados positivos, es importante implementar adecuaciones a los procedimientos especificados, especialmente

cuando dichas pruebas se utilizan para probarse en posibles nuevos huéspedes o potenciales candidatos tales como *Cherax quadricarinatus* (Claydon et al., 2004), así como *Procambarus clarkii* (cangrejo rojo de río) y *Procambarus zonangulus* (cangrejo blanco del río del sur). Para el diagnóstico de la incidencia de WSSV en un nuevo huésped o en una zona que hasta entonces era libre, el constante análisis y secuenciación del ADN deberá ser utilizado para confirmar los resultados positivos.

Primer paso del PCR

I) Adicione 1 µl de la solución plantilla del DNA (que contiene alrededor de 0.1 hasta 0,3 µg de ADN) a un tubo de PCR que contenga 100 µl de mezcla de reacción (10 mM Tris / HCl, pH 8,8, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,1% de Triton X-100, 200 µM de cada dNTP, 100 pico-moles de cada primer, 2 unidades de ADN polimerasa termoestable).

II) Las secuencias del primer externo son 146F1, 5'-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-CTA-TCTAG-3' son 146R1, 5'-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-GTT-CTT-ACG-A-3' respectivamente.

III) El perfil de PCR es un ciclo de 94°C durante 4 minutos, 55°C por 1 minuto, también 72°C por 2 minutos, seguido de 39 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto, y 72°C por 2 minutos y al final una extensión de 5min a 72°C. El amplicón específico del WSSV para esta reacción es de 1447 bp. La sensibilidad es de aproximadamente de 20,000 copias de moldes de plásmidicas.

Segundo paso del PCR (anidado)

El segundo paso es necesario para la detección del WSSV en camarones portadores.

I) Adicione 10 µl de PCR producido en el primer paso a 90 µl de un cocktail de PCR que contenga la misma composición que el anterior excepto que este contiene el segundo par de primers: 146F2 (5'-GTA-ACT-GCCCCT-TCC-ATC-TCC-A-3') y 146R2 (5'-TAC-GGC-AGC-TGC-TGC-ACC-TTG-T-3').

II) Use el mismo protocolo de amplificación de PCR que se uso anteriormente. El amplicón específico del WSSV para esta reacción es de 941 bp. La sensibilidad total de ambos pasos es aproximadamente de 20 copias de una plantilla de WSSV plásmidico.

III) Para visualizar la electroforesis, ponga 10 µl del producto del PCR en geles de agarosa que contengan bromuro de etidio al 1% a una concentración de 0,5 mg/ml.

IV) Primers específicos de decápodos (143F 5'-TGC-CTT-ATC-AGCTNT-CGA-TTG-TAG-3' y 145R 5'-TTC-AGN-TTT-GCA-ACC-ATA-CTT-CCC-3' dando un ampliación de 848 bp; N puede representar G, A,T, or C) deben de ser usados en reacciones controladas para verificar la calidad del DNA extraído y la integridad del PCR. En los camarones peneidos P. aztecus, el producto del PCR generado por este par específico de primers de decápodos corresponde a la secuencia de nucleótidos 352-1200 del 18s rRNA.

La secuencia 18s RNA de los decápodos es altamente conservada y produce proporciones similares al producto del PCR de casi todos ellos. Controles positivo (plantilla de DNA WSSV) Y negativos (con o sin plantilla de DNA de camarón) deben de ser incluidos en todos los ensayos.

XI. Referencias bibliográficas.

- Bonami, J.R., K.W. Hasson, J. Mari, B.T. Poulus y D.V. Lightner. 1997. Taura Syndrome of marine penaeid shrimp: characterization of the viral agent. *J. of Gen. Virol.*, 78: 313-319.
- Boyd C. E. y C.S Tucker, 1998. Pond Aquaculture Water Quality Managment. Kluwer Academic publishers. Holanda.
- Boyd C. E. and B.J. Watter. 1989. Aeration Systems in aquaculture. *Reviews of Aquatic Science*. 1: 425-472.
- Boyd, C. E. and C. S. Tucker. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, USA. 183 pp.
- Cai, S., J. Huang, C. Wang, X. Song, X. Sun, J. Yu, Y. Zhang, y C. Yang. 1995. Epidemiological studies on the explosive epidemic disease of prawn in 1993– 1994. *Journal of Fish Diseases*, 19: 112– 117.
- Chakraborty A., S.K. Otta, B. Joseph, S. Kumar, M.S. Hossain, I. Karunasagar, M.N. Venugopal y I. Karunasagar. 2002. Prevalence of white spot syndrome virus in wild crustaceans along the coast of India. *Current Science* (Bangalore), 82, 1392–1397.
- Chávez J. 2011. Balance Iónico en los alimentos acuícolas: Términos y Referencias. En *Panorama Acuícola* . Mayo-junio Vol. 16 No. 4. Pp 40-44.
- Chou, H.Y., C.Y. Huang, C.H. Wang, y C.F. Lo. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, 23: 165-173.
- Davis, D. A. Lawrence, A. L.; Gatlin, D.M. 1992. Mineral Requirements of *Penaeus vannamei*: A Preliminary Examination of the Diarity essentiality for Fherteen Minerals. *Journal of World Aquaculture Society*. 23 1 : 8-14.

- Durand, S., D.V. Lightner, R.M. Redman y J.R. Bonami. 1997. Ultrastructure and morphogenesis of white spot syndrome baculovirus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.*, 29: 205–211.
- Echeverría, F., V. Otero, F. Cornejo y J. Rodríguez. 2002. WSSV y ciclo de muda en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *El mundo acuícola*, 8 (1), 43-46. FAO: Nutrition in Marine Aquaculture. Training Session, Lisbon, 20-30 October 1986.
- Hasson K., D. Lightner, L. Mohney, R. Redman y B. White. 1999. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in *Penaeus vannamei*. *Dis. Aquat. Org.*, 38, 93-105.
- Hossain M.S, A. Chakraborty, B. Joseph, S.K. Otta, I. Karunasagar y I. 2001. Detection of new hosts for white spot syndrome virus of shrimp using nested polymerase chain reaction. *Aquaculture*, 198, 1--11.
- Jie, H., S. Xiaoling, Y. Jie y Y. Conghai. 1995. Baculoviral hipodermal and hemaopoietic necrosis study on the pathogen and pathology of the explosive epidermic disease of shrimp. *Mar. Fisheries Res.*, 16:1-7.
- Jiravanichpaisal P., E. Bangyeekhun, K. Soderhall y I. Soderhall. 2001. Experimental infection of white spot syndrome virus in freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Dis. Aquat. Org.*, 47 (2), 151–157.
- Just, M. V., J. Bonami, T. W. Flegel, G. Kou, D. Lightner, C. Lo, P. Loh y P. J. Walker. 2002. Nimaviridae a new virus family infecting aquatic invertebrates. Resumen. XII th International Congress of Virology. Paris.
- Juárez, M.L. 2008. Current Status of Shrimp Aquaculture in Mexico. *Panorama Acuicola Magazine*, 13 (2), 49-53..
- Kansawa 1983. Nutrición y alimentación de Peces y camarones Cultivados. Manual de capacitación Tabla 12. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil.

- Kasomchandra, J. y S. Boonyaratpalin. 1994. Light and electron microscope evidence of systemic bacilliform virus infection in *Penaeus chinensis*. pp. 503-506. En: Proceedings of the Seminar on Fisheries 1994. Department of Fisheries, 19-21 Sept. 1994, Bangkok, Thailand.
- Lem, A. y Z.H. Shehadeh. 2000. International trade in aquaculture products. *FAO Aquaculture Newsletter*, 17: 3-7.
- Lightner, D.V. 1996a. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. *World Aquaculture Society*. Baton Rouge, L.A. 305 pp.
- Lightner, D.V. 1996b. The penaeid shrimp viruses IHHNV and TSV: epizootiology, production impacts and role of international trade in their distribution in the Americas. Review Scientific and Technical. *Office International Epizooties*, 15: 579-601.
- Liu, F.-Y.; Li, H.-F.; Wang H.-L.; Liang D.-H.; Tian Y.-C. 1995. "Requirements of shrimp, *Penaeus chinensis* O'sbeck for potassium, sodium, magnesium and iodine". *Chin.Oceanol.Limnol.* 13 (2) p.141-146.
- Lo C.F., C.H. Ho, S.E. Peng, C.H. Chen, H.C. Hsu, Y.L. Chiu, C.F. Chang, K.F. Liu, M.S. Su, C.H. Wang y G.H. Kou. 1996a. White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.*, 27, 215-225.
- Lo C.F., C.H. Ho, C.H. Chen, K.F. Liu, Y.L. Chiu, P.Y. Yeh, S.E. Peng, H.C. Hsu, H.C. Liu, C.F. Chang, M.S. Su, C.H. Wang y G.H. Kou. 1997. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. *Dis. Aquat. Org.*, 30, 53-72.
- Lo, C.F., S.E. Peng y C.H. Kou. 1998. PCR Screening for White Spot Syndrome Virus (WSSV) in *Penaeus monodon* Brooders: a General Effort to combat shrimp WSS. syndrome virus. *Dis. Aquat. Org.*, 35: 63-69.
- Lucien-Brun, H. 1997. Evolution of world shrimp production: fisheries and aquaculture. *World Aquaculture*, 28 (4): 21-33.

- De Luca 6- De Luca L.J. (1981) Metabolismo normal y patológico del magnesio en las vacas lecheras. Conferencia Congreso de Buiatria Paysandú. Uruguay.
- De Luca L.J. (1998) Hipomagnesemia en bovinos de leche y carne. Curso para profesionales y profesores. Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Mac Graw J.W., Davis D. A., Teichert-Coddington, D. and Rouse, D. B. 2002. Acclimation of vannamei postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *Journal of the World Aquaculture Society*. 33: 78–84.
- Mc Nevin, A.A., Boyd, C. E. and Silapajarn, K. 2004. Ionic supplementation of pond waters for inland culture of marine shrimp. *Journal of the World Aquaculture Society*. 35: 460-467.
- Maeda M., T. Itami, A. Furumoto, O. Hennig, T. Imamura, M. Kondo, I. Hirono, A. Takashi y Y. Takahashi. 1998a. Detection of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) in wild-caught shrimp and other crustaceans. *Fish Pathol.*, 33, 373–380.
- Momoyama, K., M. Hiraoka, H. Nakano, H. Koube, K. Inouye y N. Oseka. 1994. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: histopathological studies. *Fish Pathol.*, 29: 141-148.
- Morales Covarrubias, Maria Soledad. 2004. Enfermedades del camarón. Detección mediante análisis en fresco e histopatología. Editorial Trillas. S.A. México, 65 70.
- Morales, V. y J. Cuéllar-Anjel (eds.). 2008. Guía Técnica - Patología e Inmunología de Camarones Penaeidos. *Programa CYTED Red II-D Vannamei*, Panamá, Rep. de Panamá. 270 pp.
- Nakano H., Koube H., Umezawa S., Momoyama K., Hiraoka M., Inouye K., & Oseko N. (1994). Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Epizootiological survey and infection trails. *Fish Pathol.*, 29, 135–139.
- National Academy of Sciences (NRC),1980. Mineral Tolerance of domestic animals National Academy Press, 2101 constitution Avenue, N.W. Washington, D.C., U.S.A.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) 2010. Código Sanitario para Animales Acuáticos, Revista científica y técnica 12, rue de Prony 75017 Paris, Francia.

- Panorama Acuícola 2011. Mesa de análisis sobre el impacto de la Mancha Blanca en el cultivo de camarón en el Noroeste de México. 16 de noviembre – 8 y 9 de diciembre del 2011, Cd. Obregón, Sonora, México.
- Pine, H. J., C. E. Boyd. 2010. Adsorption of magnesium by Bottom Soils in Inland Brackish Water Shrimp Ponds in Alabama. *Journal of the World Aquaculture Society*. Agosto. Vol. 41, No. 4. Pag. 603-609.
- Ritvo, G. White, G.N. Dixon, J.B. 2003. "A new iron sulfide precipitated from saline solutions" *Soil Science Society of America Journal*; 67 (4), p 1303-6.
- Rodríguez, J., Bayot B., Alderon J. 2003. White spot syndrome virus infection in culture *Penaeus vannamei* in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. *J. Fish Dis.* 26, 439, 450.
- Sahul-Hameed, A.S., K. Yoganandhan, S. Sathish, M. Rasheed, V. Murugan y J. Kunthala. 2001. White spot syndrome virus (WSSV) in two species of freshwater crabs (*Paratelphusa hydrodomous* and *P. pulvinata*). *Aquaculture*, 201: 179-186.
- Sahul-Hameed, A.S., M. Xavier-Charles y M. Anilkumar, M. 2000. Tolerance of *Macrobrachium rosenbergii* to white spot syndrome virus. *Aquaculture*, 183: 207–213.
- Shamshak G.L., J.L. Anderson. 2011. Ventajas de la producción de proteína frente al incremento en el costo de los alimentos: identificando oportunidades en la industria acuícola. En *Panorama Acuícola*. Mayo-Junio Vol. 16 No. 4. pp 32-39.
- Shimada A; (1983). *Fundamentos de Nutrición Animal Comparativa*. Consejos Superiores de Investigación Pecuaria. México, D. F. 18-23.
- Spaargaren, D.H. 1997. Physiological constraints in shrimp cultures. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 118A No.4:1371 – 1.
- Tacon A.J., 1987. *The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp*. 1. The essential nutrients. Training Manual. Food and Agriculture Organization. Brasilia, Brazil pp. 73-84.

- Takahashi, Y., T. Itami, M. Kondo, M. Maeda, R. Fujii, S. Tomonaga, K. Subamattaya y S. Boonyaratpalin. 1994. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathol.*, 29: 121-125.
- Unzueta M. L. Bustamante 2000. Determinación de la presencia de IHHNV en reproductores capturados en costas de Nayarit. Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuicola y la Red de Diagnostico. Volumen 3. Numero 11.
- Van Hulten, M.C.W., J. Witteveldt, S. Peters, N. Kloosterboer, R. Tarchini, H. Fiers, H. Sandbrink, R.K. Lankhorst y J.M. Vlak. 2001. The White Spot Syndrome Virus DNA Genome Sequence. *Virology*, 286: 7-22.
- Van Hulten, M.C.W., M. Tsai, C.F. Lo, J.H. Kou y J.M. Vlak. 2000. Analysis of a genomic segment of white spot syndrome virus of shrimp containing ribonucleotide reductase genes and repeat regions. *Journal of General Virology*. 81: 307-316.
- Venegas C.A., L. Nonaka, K. Mushiake, K. Shimizu, T. Nishizawa y K. Muroga. 1999. Pathogenicity of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) to kuruma prawn in different developmental stages. *Fish Pathol.*, 34, 19–23.
- Villarreal H y Martínez Córdoba. 1995. Cultura of shrimp *Penaeus vannamei* in reduced water change ponds in Sonora, México. *World Aquaculture* 26, 3.
- Wang, C.H., C.F. Lo, J.H. Leu, C.M. Chou, P.Y. Leh, H.Y. Chou, M.C. Tung, C.F. Chang, M.S. Su y G.H. Kou. 1995. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white-spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.*, 23: 239-242.
- Wang Y.C., C.F. Lo, P.S. Chang y G.H. Kou. 1998. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan. *Aquaculture*, 164, 221–231.
- Wongteerasupaya, C., J.E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajomorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul y T.W. Flegel. 1995. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 21, 69–77.

Yang, F., J. He, X. Lin, Q. Li, D. Pan, X. Zhang y X. Xu. 2001. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus. Key Laboratory of Marine Biotechnology, The Third Institute Oceanography, SOA, 178 Daxue Road, Xiamen, Fujian 361005, P.R. China. J. Virol. 75 (25): 11811-11820.

TESIS/CUCBA