ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

"Efecto del hidróxido de calcio sobre la calidad de agua y la producción de estanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei* en aguas salobres"

Requisito para optar al grado de

MAGISTER EN CIENCIAS

ESPECIALIDAD ACUICULTURA MARINA

Galo Wilfrido Solano Motoche

2003

TESIS ELABORADA CON EL SOPORTE DE:

FUNDACION CENAIM-ESPOL

COOPERACION TECNICA BELGA

UNIVERSIDAD DE GANTE BELGICA

UNIVERSIDAD CATOLICA DE LOBAINA – BELGICA

VITA

Galo Wilfrido Solano Motoche, hijo de Galo Solano Dávila y Norma Motoche Apolo, nació el 31 de julio de 1977 en Guayaquil, Ecuador. Estudió su secundaria en el colegio Dr. Manuel A. González, graduándose como Bachiller Químico-Biológico en febrero de 1995. En el mismo año ingresó a la Universidad Técnica de Machala obteniendo el título de Ingeniero Acuacultor en diciembre de 2000. En 2001 fue aceptado por la Cooperación Técnica Belga (CTB) y la Escuela Superior Politécnica del Litoral para realizar una Maestría en Ciencias con especialidad en Acuicultura Marina.

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL."

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

Galo Wilfrido Solano Motoche

TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Eduardo Cervantes
Presidente del Tribunal

Stanislaus Sonnenholzner, Ph.D.
Director de Tesis

Jorge Calderón, Ph.D.
Miembro del Tribunal

Ricardo Cedeño
Miembro del Tribunal

Laurence Massaut, Ph.D.
Miembro del Tribunal

DEDICATORIA

A mi abuelita Matilde Dávila (+), a mi hija Camilla, a mis padres Galo Solano Dávila y Norma Motoche Apolo y a mis hermanos Jessica, Carlos Alberto (+), Andrea y Andrés. Gracias por su cariño y apoyo en todos los momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por iluminar cada uno de los pasos de mi vida.

A mis padres, por traerme al mundo y apoyarme en cada etapa de mi carrera profesional.

A mis hermanos, por ser siempre cariñosos y comprensivos en los momentos más difíciles.

A Colón Velásquez, M.Sc, por su continua motivación para la realización de este postgrado.

A la Cooperación Técnica Belga (CTB), por darme la oportunidad de participar en este programa.

A Stanislaus Sonnenholzner, Ph.D., por su asistencia personal en la realización de esta tesis.

Al personal de la camaronera PESGLASA y de los laboratorios de microbiología y análisis ambiental químico del CENAIM, por su colaboración de una u otra manera en este estudio.

A mis compañeros de promoción, cada uno de los cuales a su manera me han enseñado el verdadero valor de la amistad.

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

RESUMEN

Seis estanques de 0,1 ha fueron sembrados con camarones *L. vannamei* a una densidad de 10 individuos/m^2. Dos tratamientos fueron probados. El tratamiento A consistió de la adición semanal de 100 kg/ha de $Ca(OH)_2$ y el tratamiento B sin la adición de este material. Tres estanques fueron asignados para cada tratamiento. Muestras para alcalinidad y dureza totales, nitrógeno amoniacal total (TAN), clorofila *a*, pH, sólidos suspendidos totales (TSS) y bacterias totales en agua fueron tomadas 1 hora antes y 2 horas y 2 días después de las aplicaciones del material calcáreo. Los vibrios totales en agua fueron aislados 1 hora antes y 2 horas después de la aplicación del $Ca(OH)_2$ y las muestras para bacterias y vibrios totales en sedimento se tomaron semanalmente, 2 días después del encalado. El experimento tuvo una duración de 12 semanas, tiempo después del cual el peso, número de animales cosechados, supervivencia, biomasa, alimento consumido, factor de conversión alimenticia (FCA) y rentabilidad fueron analizadas.

Los resultados de los análisis mostraron que las aplicaciones semanales de $Ca(OH)_2$ no produjeron cambios significativos en la alcalinidad y dureza totales, TAN, clorofila *a* y TSS. Igualmente, las bacterias y vibrios totales en agua y sedimento tampoco fluctuaron significativamente después del tratamiento con el material calcáreo. El número de animales, supervivencia, biomasa y alimento consumido finales tampoco fueron diferentes entre los tratamientos. Aunque no se encontraron diferencias significativas en la rentabilidad entre los tratamientos, el tratamiento A tuvo un ingreso de 293 USD/ha superior al tratamiento B. El pH del agua mostró diferencias significativas después de las aplicaciones del $Ca(OH)_2$, el mismo que fue mayor para el tratamiento A. El peso final de los camarones del tratamiento

A (9,7 ± 2,0 g) también fue estadísticamente mayor con relación al tratamiento B (7,8 ± 1,3 g). Además, el FCA también fue estadísticamente menor en el tratamiento A con relación al tratamiento B (0,87 ± 0,12 y 1,07 ± 0,03, respectivamente).

Es posible, que las concentraciones de alcalinidad y dureza totales encontradas en las aguas de cultivo durante el experimento limitaran la disolución del $Ca(OH)_2$ en el agua de los estanques, lo que resultó en la ausencia de diferencias significativas en la mayoría de las variables medidas durante este estudio.

Se concluye que el uso de 100 kg/ha de $Ca(OH)_2$ utilizados en Ecuador probablemente no tienen un efecto directo sobre la calidad del agua y el control de bacterias y vibrios totales en aguas salobres, sin embargo, futuros estudios deberían ser realizados para investigar los motivos del mejor crecimiento de los camarones en el tratamiento A durante este experimento.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de camarón es una gran industria alrededor del mundo (Burford y Williams, 2001). Sin embargo, la rápida expansión de esta industria también ha sido plagada por enfermedades que afectan la supervivencia y el crecimiento del camarón (Aguirre-Guzmán y Ascencio-Valle, 2000). Los daños en la calidad del agua y del sedimento causan estrés en los camarones y los vuelven más susceptibles a enfermedades (Srinivasa Rao y Kuranasagar, 2000).

La cal es un aditivo químico que ha sido utilizado para la neutralizar acidez del suelo e incrementar la alcalinidad y la dureza total del agua (Sonnenholzner y Medina, 2001). Sin embargo, hay mucha confusión entre cultivadores de peces y camarones acerca de las propiedades de los materiales de encalado usados en acuacultura (Boyd y Masuda, 1994).

Las aguas salobres no necesitan de aplicaciones de materiales calcáreos debido a que presentan alcalinidad y dureza totales sobre 50 mg $CaCO_3$/L (Boyd y Masuda, 1994). Sin embargo, algunos beneficios han sido reportados después de su aplicación en este tipo de agua como por ejemplo la reducción del crecimiento de bacterias como *Vibrio* ssp. (Cruz-Barreras *et al.*, 2001) y otras de tipo luminiscentes, las cuales han sido reportadas como agentes infecciosos (Anónimo, 2000). No obstante, este efecto sobre las bacterias podría no ser beneficioso en el caso de las bacterias nitrificantes, pues su disminución podría resultar en altas concentraciones de nitrógeno amoniacal total (TAN) en el agua al no poder ser transformadas a nitrato por el proceso de nitrificación.

Las aplicaciones de cal también se han asociado con el aumento de la productividad natural como una derivación de: 1) la precipitación de los sólidos en suspensión, con lo cual resulta en una mayor penetración de luz en la columna de agua mejorando la fotosíntesis (Boyd y Tucker, 1998) y, 2) el aumento de la cantidad de bicarbonatos que podrían servir de fuente de carbono para la fotosíntesis (Boyd y Scarsbrook, 1974). Este incremento en la producción primaria disminuye la presencia de plantas acuáticas emergentes (Chambers *et al.*, 2001; Reedyk *et al.*, 2001) y a veces está asociado con un mejor crecimiento de los organismos en cultivo (Cruz-Barreras *et al.*, 2001).

Además, las aplicaciones de este material podrían elevar las concentraciones de calcio en el agua, lo que mejoraría la supervivencia final de crustáceos al: 1) acortar el tiempo de caparazón blando (postmuda) y reducir la posibilidad del ataque por parte de predadores durante esta etapa de susceptibilidad (Perry *et al.*, 2001) y, 2) ayudar a minimizar las condiciones de estrés presentes en la piscina (Boyd y Tucker, 1998).

Dosis de 25-100 kg/ha de $Ca(OH)_2$ son normalmente utilizadas en los estanques de cultivo de camarón en Ecuador. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos materiales no es justificado por el conocimiento de sus efectos en estanques con alcalinidad y dureza totales sobre 50-60 mg $CaCO_3$/L, lo que resulta en algunos casos en una falta de beneficios tangibles (Boyd y Daniels, 1993; Boyd y Masuda, 1994). Por lo tanto, el conocimiento del efecto de las aplicaciones de 100 Kg/ha (10 mg/L) de $Ca(OH)_2$ en el cultivo de camarones en aguas salobres podría conducirnos a tener una comprensión más profunda acerca de las consecuencias del uso este producto calcáreo en estos sistemas de producción.

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto del hidróxido de calcio sobre la calidad de agua y la producción de estanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei* en aguas salobres.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del hidróxido de calcio sobre la alcalinidad y dureza totales, las concentraciones de nitrógeno amoniacal total, fitoplancton, pH, sólidos suspendidos totales y las bacterias y vibrios totales en los estanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei* en aguas salobres.

- Evaluar los resultados en base al peso, número de animales cosechados, supervivencia, biomasa y alimento consumido finales, factor de conversión alimenticia y rentabilidad al final del cultivo.

- Determinar el costo-beneficio del uso de este material de encalado en la producción de *Litopenaeus vannamei*.

2. ANTECEDENTES

La cal es uno de los materiales más utilizados en acuicultura debido a su influencia sobre la alcalinidad total, la dureza total, el pH (Dobbins y Boyd, 1976; Hunt y Boyd, 1981; Boyd, 1995; Boyd y Tucker, 1998; Sonnenholzner y Medina, 2001), su efecto aclarador en las aguas con manchas cafés debido a sustancias húmicas (Boyd y Scarsbrook, 1974) y el aumento de la producción al mejorar las condiciones para el crecimiento del plancton como resultado del incremento de: 1) carbono para la fotosíntesis, 2) la disponibilidad del fósforo adicionado en los fertilizantes y, 3) las concentraciones de calcio y magnesio (Boyd y Scarsbrook, 1974; Arce y Boyd, 1975). La cal también ha sido vinculada con el control de las cargas bacterianas al coagular y flocular las sustancias coloidales presentes en el agua que les sirven de sustrato (Cruz-Barreras *et al*., 2001) y el control de macroalgas acuáticas como resultado de bajas concentraciones de CO_2 libre y bicarbonato para la fotosíntesis (Chambers *et al.*, 2001).

Tres sustancias básicas son las más utilizadas para encalar estanques: la cal agrícola o carbonato de calcio ($CaCO_3$), la cal apagada o hidróxido de calcio ($Ca(OH)_2$) y la cal viva u óxido de calcio (CaO), aunque las dos primeras son las que frecuentemente se aplican al suelo y el agua durante los periodos de producción en camarones (Boyd y Daniels, 1993). Los materiales de encalado presentan una baja solubilidad excepto en aguas ácidas o en aguas con un gran suministro de CO_2 y por lo tanto, cuando son aplicados al estanque, solo una pequeña porción es disuelta inmediatamente en el agua, el resto es precipitado al fondo del estanque donde se disolverá lentamente (Boyd y Masuda, 1994). A diferencia del

$CaCO_3$, el $Ca(OH)_2$ y el CaO se disuelven más fácilmente en el agua (Boyd y Masuda, 1994) y tienen un mayor valor neutralizante (Boyd y Tucker, 1998).

2.1. ALCALINIDAD Y DUREZA TOTALES:

Aguas con alta alcalinidad total tienen una mejor capacidad búfer contra los cambios de pH producidos por el fitoplancton cuando este remueve el CO_2 y además tienen mayor cantidad de reservas de carbono disponible para el crecimiento de fitoplancton en comparación con aguas de baja alcalinidad total (Boyd, 1998; Garg y Bhatnagar, 2000). Murad y Boyd (1991) reportaron que la concentración de CO_2 disponible, el pH, la abundancia de fitoplancton y la productividad primaria bruta son mayores a una alcalinidad total de 32,8 que en 9,6 mg $CaCO_3$/L. Además, la biodisponibilidad de Cu, Cd, Zn, Al, etc. en aguas naturales también es disminuida al aumentar la alcalinidad total como resultado de la formación de complejos alcalinos con estos metales (Davies *et al.*, 1993; Boyd y Tucker, 1998).

Boyd y Daniels (1993) mencionan que los mejores crecimientos en camarones son obtenidos cuando la alcalinidad total supera los 100 mg $CaCO_3$/L, posiblemente ocasionado por un aumento de la productividad primaria (Boyd y Scarsbrook, 1974) y una mayor disponibilidad de carbonatos para el exoesqueleto (Boyd, 1990). Sin embargo, la baja solubilidad de los materiales calcáreos dificulta llegar a una alcalinidad total sobre 50-60 mg $CaCO_3$/L (Boyd y Daniels, 1993).

La dureza total es la concentración total de todos los cationes divalentes presentes en el agua expresados en términos de miligramos por litro de carbonato de calcio (mg $CaCO_3$/L). El calcio y el magnesio son los cationes divalentes dominantes en casi todas las aguas utilizadas para acuicultura (Wurts, 1993; Boyd, 1998). Concentraciones de dureza total de 50-200 mg $CaCO_3$/L han sido reportadas como los rangos ideales para el cultivo de *Macrobrachium rosembergii* (Wetzel, 2001). El calcio es crucial para la osmorregulación al mantener los niveles precisos de sales internas para la función normal del corazón, músculos y nervios. La concentración de calcio también influye sobre la permeabilidad de las membranas branquiales para el agua e iones y amortigua los efectos de los agentes estresantes ambientales como por ejemplo los súbitos cambios de salinidad y fluctuaciones de pH, temperaturas extremas y altas concentraciones de NH_3 (Boyd y Tucker, 1998). Sin embargo, elevadas cantidades de calcio no serían de beneficio para los animales que no están sometidos a condiciones de estrés (Boyd y Tucker, 1998). Además este mineral es muy importante en los ciclos de muda de camarones y otros crustáceos, al afectar el proceso de endurecimiento de los nuevos exoesqueletos (Wurts, 2003).

Los crustáceos presentan un exoesqueleto mineralizado. Cangrejos marinos del género *Carcinus* pierden aproximadamente el 95% del calcio corporal durante la muda (Pasano, 1960), por lo cual ellos deben absorber calcio desde el agua marina para la calcificación del nuevo exoesqueleto (Perry *et al.*, 2001). Sin embargo, langostas de agua dulce (*Cambarus* ssp. y *Astacus* ssp.) y ciertos cangrejos terrestres (*Gecarcinus* ssp.) pueden almacenar en el estómago piedras de $CaCO_3$ denominadas *gastrolitos*, las cuales son utilizadas posteriormente como fuentes de calcio en la formación del exoesqueleto durante la muda (Pasano, 1960). Además, Nelson y Dendy (1978) descubrieron que una especie de langosta de agua dulce (*Procambarus clarkii*), podría utilizar efectivamente los gastrolitos, las sales de calcio del alimento y el calcio ligado al suelo como fuentes alternativas de este mineral para completar su ciclo de muda cuando los niveles en estado iónico libre son bajos.

La información acerca de la presencia de gastrolitos en camarones penaeidos es escasa, sin embargo, las altas concentraciones de calcio en el agua marina en donde habitan podría llevar a especular que estos no tienen necesidad de utilizar mecanismos de almacenamiento de este mineral (Paschke, Universidad Austral de Chile, comunicación personal).

En sus estudios con el cangrejo azul (*Callinectes sapidus*), Perry *et al.* (2001) descubrieron que bajas concentraciones de calcio en el agua aumentan el tiempo de flacidez después de la muda. Gollas-Galván *et al.* (1997) reportaron una concentración de calcio de 320 mg/L en la hemolinfa de *Penaeus californiensis*. En el agua marina el calcio y el magnesio se encuentran en una concentración promedio de 400 y 1.350 mg L^{-1}, respectivamente, por lo tanto, son abundantes y no son un problema para los animales que existen en este ecosistema (Boyd, 1990). En resumen, se pensaría que bajas concentraciones de dureza total podrían limitar el crecimiento de crustáceos (Boyd y Tucker, 1998), sin embargo, otros estudios demostraron, que el crecimiento del adulto *M. rosembergii* fue cinco veces mayor en concentraciones de dureza total de 65 que en 500 mg $CaCO_3$/L (Boyd y Tucker, 1998).

Aunque los estanques de aguas salobres normalmente no necesitan de aplicaciones de cal debido a que contienen concentraciones de alcalinidad y dureza totales sobre 50 mg $CaCO_3$/L (Boyd y Masuda, 1994), los sedimentos encontrados en zonas de manglares son frecuentemente ácidos (Sonnenholzner y Boyd, 2000), por lo que el encalado sirve como neutralizador de la acidez del fondo y como estimulador de la descomposición de la materia orgánica acumulada al incrementar el pH (Boyd y Masuda, 1994; Boyd y Massaut, 1999).

2.2. NITRÓGENO AMONIACAL TOTAL:

El nitrógeno amoniacal total (TAN) es una fuente de nitrógeno inorgánico para el crecimiento de las plantas y su disponibilidad podría influenciar la productividad de los ecosistemas acuáticos (Durborow *et al.*, 1997a; Boyd y Tucker, 1998). En el agua, el amonio existe en dos formas: 1) amonio no ionizado o amoniaco (NH_3) y, 2) amonio ionizado o amonio (NH_4^+).

El amonio no ionizado es el principal producto de desecho nitrogenado excretado por crustáceos. Además, este es producido por la descomposición de la materia orgánica tales como el alimento no consumido y las algas muertas (Durborow *et al.*, 1997a, 1997b). En camarones, la excreción de amonio no ionizado se produce a través de las branquias y en estanques de cultivo puede llegar a convertirse en una de las mayores fuentes de nitrógeno disuelto (Burford y Williams, 2001; Jackson *et al.*, 2003). Sin embargo, la acumulación de amonio no ionizado en las aguas de cultivo es indeseable debido a su toxicidad para los animales acuáticos. La concentración de amonio no ionizado es afectada por el pH y la temperatura (Boyd y Lichtkoppler, 1979; Plumb, 1984; Hargreaves y Kucuk, 2001) y puede convertirse en un factor ambiental de estrés que favorece la aparición de enfermedades (Wahab *et al*., 2003). Estudios en peces juveniles como híbrido de perca (Striped bass), bagre de canal y tilapia azul, han revelado cambios en las concentraciones de TAN en el plasma en respuesta a rápidas fluctuaciones en el pH y en las concentraciones de amonio no ionizado en el agua (Hargreaves y Kucuk, 2001). Además, la disminución del crecimiento y el aumento de la conversión alimenticia en peces han sido reportados al incrementarse las concentraciones de amonio no ionizado (Hargreaves y Kucuk, 2001). Frances *et al*. (2000), también obtuvieron un efecto negativo de las concentraciones de amonio no ionizado sobre el peso húmedo ganado y la tasa de crecimiento específico en juveniles de perca plateada (*Bidyanus bidyanus*), sin embargo, la tasa de conversión alimenticia no fue afectada por las concentraciones de este compuesto nitrogenado.

El TAN puede ser oxidado a nitrato por las bacterias nitrificantes en un proceso conocido como nitrificación. Este ciclo es muy importante por dos razones: 1) produce nitrato disponible para el crecimiento fitoplanctónico y, 2) reduce la concentración de amonio no ionizado en el agua de los estanques (Boyd, 1998). Sin embargo, la nitrificación también consume oxígeno (Boyd y Tucker, 1998) y contribuye al aumento de la acidez disminuyendo la alcalinidad total (Hunt y Boyd, 1981; Boyd, 1998). Las bacterias nitrificantes son generalmente más sensibles que otras bacterias comúnmente halladas en ambientes acuícolas (Okabe *et al.*, 1996). Estas son inhibidas por relativamente bajas concentraciones de materia orgánica y oxígeno, la presencia de organismos heterotróficos y pH bajo (Horowitz *et al.*, 2001). El rápido aumento del pH después de las aplicaciones de $Ca(OH)_2$ podría inhibir el crecimiento de estas bacterias, lo que resultaría en un aumento de las concentraciones de nitrógeno amoniacal total al no producirse el proceso de nitrificación, y una disminución de los nutrientes liberados después de este proceso lo cual afectaría directamente al fitoplancton.

2.3. FITOPLANCTON TOTAL:

El fitoplancton produce oxígeno al realizar la fotosíntesis, pero así mismo lo consume en su respiración, por lo tanto, la densidad de bloom de algas tiene un efecto importante en la magnitud de las fluctuaciones diarias de oxígeno disuelto y CO_2 (Hargreaves y Brunson, 1996). El desarrollo de blooms de fitoplancton podría llegar a ser inestable, lo que tendría un efecto negativo sobre la calidad del agua y del sedimento (Burford y Williams, 2001).

El amonio y especialmente el fósforo liberados al agua como desechos son los mayores factores que estimulan el crecimiento del fitoplancton (Boyd, 1995). Por lo tanto, el crecimiento del fitoplancton es usualmente más grande en estanques con altas tasas de alimentación, lo que podría también deteriorar la calidad del agua (Boyd *et al.*, 1983).

En estanques con menos de 20 mg $CaCO_3$/L de alcalinidad o dureza totales el crecimiento del fitoplancton podría ser limitado por inadecuados suministros de CO_2 o bicarbonatos y baja concentración de calcio (Boyd y Walley, 1975; Wurts y Durborow, 1992). Por consiguiente, un incremento en la dureza total en las aguas de cultivo de ciertas especies de peces podría incrementar su productividad primaria lo que resultaría en una mejor supervivencia durante la siembra y la cosecha (Grizzle *et al.*, 1985). Aunque se ha reportado un aumento de la tasa de fotosíntesis al aplicar calcio y magnesio a los estanques (Boyd y Tucker, 1998), los requerimientos de estos nutrientes difieren entre las especies de algas (Boyd y Scarsbrook, 1974).

Los bicarbonatos pueden ser utilizados como fuentes de carbono para fotosíntesis cuando las concentraciones de CO_2 caen en niveles muy bajos (Boyd y Scarsbrook, 1974). El encalado incrementa el pH, la alcalinidad total y la disponibilidad de CO_2 y fosfato, lo que usualmente se refleja en un aumento en la producción de fitoplancton (Murad y Boyd, 1991).

Las adiciones de $Ca(OH)_2$ podrían causar una precipitación química de la biomasa de fitoplancton, afectando la estabilidad de las suspensiones de algas cargadas negativamente debido a la coprecipitación con sales inorgánicas como $Ca_3(PO_4)_2$ en condiciones alcalinas de 8,5-10 (Sukenik *et al.*, 1985).

2.4. pH:

El pH del agua es una variable muy importante debido a que muchas reacciones que controlan la calidad del agua como por ejemplo la solubilidad y concentración de Cu, Cd, Zn y Al, la proporción de TAN en forma no ionizada y la toxicidad del ácido sulfhídrico son dependientes de esta (Boyd y Tucker, 1998). Caraco y Miller (1998), también han reportado la influencia de esta variable sobre la sucesión del fitoplancton en estanques.

El CO_2 influencia el pH. Si la concentración de CO_2 incrementa, el pH disminuye, y viceversa, si la concentración de CO_2 disminuye, el pH aumenta (Boyd, 1998). El pH presenta fluctuaciones diarias y estos cambios se deben a: 1) cambios en la tasa de consumo de CO_2 por fotosíntesis en respuesta al fotoperiodo diario (Boyd, 1998) y, 2) la producción de CO_2 por la respiración de los organismos (Wurts y Durborrow, 1992). Sin embargo, la amplitud de estas fluctuaciones depende de la alcalinidad total del agua.

Los estanques en aguas salobres usualmente tienen valores de pH entre 7,0 y 8,3. Los organismos de aguas salobres son tolerantes a valores extremos de pH (Boyd y Tucker, 1998). Los puntos de muerte de la mayoría de camarones penaeidos en pH ácido y alcalino son 4,8 y 10,6, respectivamente, siendo el rango óptimo de pH entre 5,5 y 8,5 (Boyd y Tucker, 1998).

La acidez del agua se refiere a su capacidad de reserva para generar iones hidrógeno adicionales a través de varios procesos (Boyd, 2001a). Boyd y Tucker (1998) citaron los problemas que mantienen los organismos que viven en ambientes con bajo pH: 1) incremento en la producción de mucus y daño de las estructuras branquiales lo que resulta en una baja eficiencia respiratoria, 2) problemas con el mantenimiento del balance iónico interno y, 3) acidosis de la sangre con la disminución de la afinidad de los pigmentos sanguíneos que ligan el oxígeno. Aplicaciones de cal son utilizadas como una contramedida para la acidificación cuando el pH del agua en los estanques es muy bajo (Boyd y Tucker 1998).

2.5. SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES:

Estudios de los afluentes y efluentes de estanques de *Litopenaeus vannamei* han reportado concentraciones de sólidos suspendidos totales de 45 ± 9 y 92 ± 26 mg/mL, respectivamente (Cruz, 2003). Sin embargo, concentraciones más altas pueden encontrarse en estanques con mucha turbidez (Boyd, 1998).

En estanques para acuacultura la turbidez puede ser producida por: 1) fitoplancton, la cual es considerada como una característica deseable y, 2) partículas de arcilla, la cual es indeseable al impedir la penetración de luz y limitar la fotosíntesis. La estabilidad de las suspensiones coloidales está influenciada por la salinidad y el pH (Ritvo *et al.*, 2003). Boyd (1979) cita al sulfato de aluminio (alum), sulfato férrico, hidróxido de calcio y sulfato de calcio (gypsum) como fuentes de electrolitos para la remoción de la turbidez, siendo los dos primeros los de mayor efectividad en menores concentraciones. Así también reporta que la aplicación de alum podría causar una reducción en el pH y la alcalinidad total de los estanques, por lo que recomienda la aplicación de 0,4 mg L^{-1} de $Ca(OH)_2$ por 1 mg L^{-1} de alum como una medida para prevenir los cambios desfavorables en estas variables (Boyd, 1979).

2.6. BACTERIAS Y VIBRIOS TOTALES:

Los microorganismos controlan el destino geoquímico de muchos compuestos orgánicos e inorgánicos en fincas camaroneras, de manera tanto aeróbica como anaeróbica.

El papel de las bacterias en los estanques camaroneros incluyen la remoción de nitrógeno amoniacal total y reducción de los niveles de materia orgánica. Sin embargo, algunas bacterias presentes en los estanques pueden tener efectos negativos (Horowitz y Horowitz, 2001).

Los detrimentos en la calidad de agua y sedimento en los estanques causan estrés a los camarones, haciéndolos más susceptibles a enfermedades (Rao y Kuranasagar, 2000). Un gran número de bacterias han sido implicadas como agentes que causan infecciones y enfermedades en camarones, sin embargo las especies de vibrios son las más frecuentemente asociadas con bajas supervivencias en laboratorios de cultivo larvario y en estanques de engorde (Aguirre-Guzmán y Ascencio-Valle, 2000; Saulnier *et al.*, 2000; Sudheesh y Xu, 2001). Los vibrios forman parte de la flora normal de larvas de penaeidos marinos y podrían causar enfermedades como agentes oportunistas, patógenos verdaderos o algunas veces alternadamente (Hibsi *el al.*, 2000; Saulnier *et al.*, 2000). Aunque la infección con una o más especies de vibrios es conocida como *vibriosis*, otros nombres como septicemia bacteriana o vibriosis de penaeidos, vibriosis luminiscente y enfermedad de las patas rojas han sido reportados para esta enfermedad (Aguirre-Guzmán y Ascencio-Valle, 2000). Para que la vibriosis ocurra, un incremento en el número de vibrios patógenos debería ser esperado, aunque esto no implica necesariamente un incremento en el número de toda la población de vibrios (Sung *et al*., 2001). En estudios realizados en *Penaeus monodon*, la aparición de enfermedades fue asociada con incrementos en las concentraciones de especies potencialmente patógenas en la población de vibrios presentes en las aguas de cultivo (Sung *et al*., 1999). Además, estudios han reportado que una alta densidad de bacterias, especialmente vibrios del tipo luminiscentes patógenos, es un factor importante para que la enfermedad de la mancha blanca (WSSV) se desarrolle con mayor facilidad (Anónimo, 2000).

Cruz-Barreras *et al.* (2001) mencionan que el efecto bactericida del $Ca(OH)_2$ sobre las bacterias que causan enfermedades es diferente dependiendo del género. La supervivencia de vibrios es controlada por la alcalinidad total, el pH y las concentraciones de sodio, potasio y cloruros (Sato *et al.*, 1995; Marco-Noales *et al.*, 1999; Holt *et al.*, 2000). Estudios han reportado la inhibición del crecimiento del género *Vibrio* solamente 24 horas después de la exposición a concentraciones de $Ca(OH)_2$ entre 0,75-50 mg/L, lo cual mostró que la cal no actúa como un desinfectante inmediato (Cruz-Barreras *et al.*, 2001).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL:

El experimento se realizó en la camaronera PESGLASA ubicada en Churute provincia del Guayas. Se sembraron 6 estanques de 0,1 ha con una densidad de 10 Pl´s de *L. vannamei* estadio 25 por m^2. Se probaron 2 tratamientos: el tratamiento A consistió de una aplicación semanal de 100 kg/ha de un producto comercializado como cal hidratada (SUPERCAL 200) y el tratamiento B (control) sin la aplicación de este material. Tres estanques fueron asignados aleatoriamente para cada tratamiento.

Antes del llenado, se aplicó una dosis de 50 kg/ha del producto calcáreo al fondo de los estanques destinados para el tratamiento A. Una vez que todos los estanques llegaron a su máximo nivel de agua, se efectuó una fertilización inicial con urea y superfosfato triple en una dosis de 21,7 y 5 kg/ha (relación N:P de 10:1), respectivamente.

Previo a la siembra de los estanques de engorde, las postlarvas fueron aclimatadas hasta una salinidad de 10 ppt. Se realizaron muestreos semanales de peso por cada estanque y la cantidad de alimento adicionado a cada uno se calculó de acuerdo a la tabla de alimentación referida por Vissers y Saldias (2000).

3.2. TOMA DE MUESTRAS:

Los muestreos para alcalinidad y dureza totales, nitrógeno amoniacal total (TAN), clorofila *a*, pH y sólidos suspendidos totales (TSS) se realizaron en 3 periodos: 1 hora antes y, 2 horas y 2 días después del encalado. Las muestras para bacterias y vibrios totales en agua se tomaron en dos periodos: 1 hora antes y 2 horas después de la aplicación del

$Ca(OH)_2$. Además, muestras para bacterias totales en agua fueron tomadas a los 2 días del encalado. Las bacterias y vibrios totales en sedimento fueron monitoreadas semanalmente 2 días después de la aplicación del material calcáreo. La temperatura y oxígeno se tomaron dos veces al día (6 a.m. y 6 p.m.) con un oxigenómetro YSI 85. La salinidad fue registrada para cada día de muestreo con un refractómetro SR1. La duración del experimento fue de 12 semanas, tiempo después del cual el peso, número de animales cosechados, supervivencia, biomasa, alimento consumido, factor de conversión alimenticia (FCA) y rentabilidad fueron analizadas estadísticamente.

3.3. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS:

3.3.1. Análisis Químicos

Los análisis químicos fueron realizados en el laboratorio de Análisis Ambiental Químico del CENAIM. Las muestras fueron previamente filtradas para clorofila *a* y sólidos suspendidos totales, luego los remanentes fueron congelados a –20º C hasta su posterior análisis (Cytryn *et al*., 2003).

La alcalinidad total fue medida por el método de Titulación Potenciométrica a un pH determinado de 4,5 (Clesceri *et al.*, 1998). El método de Titulación con EDTA fue utilizado para los análisis de la dureza total (Clesceri *et al.*, 1998). La alcalinidad y dureza totales fueron reportadas en miligramos por litro de equivalente $CaCO_3$ (mg $CaCO_3$/L).

Las concentraciones de nitrógeno amoniacal total (TAN) fueron determinadas usando el método indofenol en medio alcalino con nitroprusiato de sodio citado por Solórzano (1983). Las concentraciones fueron expresadas en mg $N(NH_3 + NH_4)$/L.

La concentración de clorofila *a* (μg/L) fue utilizada para evaluar la biomasa de fitoplancton presente en los estanques. Las muestras fueron filtradas inmediatamente después de su recolección y los filtros (Whatman GF/C) congelados a –20 ºC hasta su posterior análisis espectrofotométrico después de la extracción con una mezcla acetona:metanol (Pechar, 1987).

Para las mediciones de pH se utilizó un potenciómetro WTW pH 320. El pH fue registrado *in situ,* inmediatamente después de la toma de las muestras.

Al igual que la clorofila *a*, las muestras para sólidos suspendidos totales (TSS) fueron filtradas (Whatman GF/C) rápidamente al llegar al laboratorio. El procedimiento gravimétrico fue utilizado para el análisis de estas muestras (Boyd 2001a). Las concentraciones fueron reportadas en mg/L.

3.3.2. Análisis Microbiológicos

La preparación de los materiales y el posterior conteo de colonias se realizaron en el laboratorio de Microbiología del CENAIM. El Agar Tríptico de Soya (TSA) y el Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sucrosa (TCBS) fueron los medios utilizados para la cuantificación de bacterias y vibrios totales, respectivamente (Spira, 1984).

Los medios de cultivo fueron preparados un día antes del muestreo de campo. Las siembras fueron efectuadas *in situ*. Se realizaron 3 diluciones para cada muestra. Se empleó el método *de siembra en superficie* (Solís, 1996), utilizando un volumen de siembra de 100 μL $placa^{-1}$. Las bacterias totales en agua y sedimento y, vibrios totales en agua se incubaron durante 24 horas, en cambio, los vibrios totales en sedimento fueron incubados durante 48 horas. Los conteos fueron expresados como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC mL^{-1}) o por gramo (UFC g^{-1}), según el tipo de muestra analizada.

3.3.3. Cosecha

El peso final (g) se calculó al promediar una muestra aleatoria de 100 camarones por cada uno de los estanques.

El número de animales cosechados en cada estanque se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$Animales\ cosechados = \frac{B*1000}{P}$$

Donde: *B* es la biomasa cosechada (kg) y *P* es el peso promedio final (g).

La supervivencia se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$Supervivencia\ (\%) = \frac{C*100}{S}$$

Donde: *C* es el número de animales cosechados y *S* es el número de animales sembrados.

El alimento consumido en cada estanque, fue calculado como la sumatoria de las dosis diarias de alimento balanceado aplicado.

El FCA para cada estanque se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$FCA = \frac{A}{B}$$

Donde: *A* es la cantidad de alimento suplementario (kg) y *B* es la biomasa de camarón cosechada (kg).

La rentabilidad por ha en cada estanque fue calculada con la siguiente fórmula:

$$Rentabilidad/ha = (I - G)*10$$

Donde: I es el ingreso obtenido de la venta del camarón (USD), G es el gasto total registrado (USD) en cada estanque.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

El Análisis de Medidas Repetidas (AMR) presenta la propiedad de medir múltiples respuestas en cada unidad experimental, las cuales pueden ser consideradas como réplicas (Rao, 1998; Zar 1999). Por lo tanto, el Modelo ANOVA de Medidas Repetidas con Múltiples Respuestas por Combinación de Tratamientos fue considerado como el adecuado para el análisis de los datos debido a que las muestras de alcalinidad total, dureza total, nitrógeno amoniacal total, clorofila *a*, pH, sólidos suspendidos totales y bacterias y vibrios totales fueron tomadas de los mismos estanques en 3 diferentes periodos durante 10 de las 12 semanas que duró el cultivo (Webster y Payne, 2002). Los datos utilizados en este análisis fueron las diferencias entre los periodos: a) 1 hora antes y 2 horas después del encalado (2H) y, b) 1 hora antes y dos días después del encalado durante cada semana (2D). Al final se obtuvieron 6 datos semanales por cada intervalo de tiempo, 3 de los tratamientos con $Ca(OH)_2$ y 3 para los tratamientos sin cal. Cuando diferencias significativas fueron encontradas las medias fueron comparadas usando la prueba de Tuckey (Rao, 1998).

Las medias de peso, número de animales cosechados, supervivencia, biomasa y alimento consumido finales, FCA y rentabilidad en cada tratamiento fueron comparados utilizando un Análisis de Varianza de una vía (ANOVA One Way) rechazando la hipótesis nula cuando el $p \leq 0,05$. Este tipo de análisis fue considerado como el adecuado debido a que el objetivo fue probar el efecto del factor (aplicación del material calcáreo) sobre cada una de estas variables obtenidas al final del cultivo.

Sin embargo, antes de iniciar cualquier AMR o ANOVA de una vía, los datos fueron sometidos a pruebas de homogeneidad de varianzas, normalidad e independencia. Para probar la homogeneidad se utilizó la prueba de Barlett (Rao, 1998; Zar, 1999), aceptando la hipótesis de varianzas no iguales (heterogeneidad) cuando el $p \leq 0{,}05$. La prueba de Kolmogorov-Smirnov fue empleada para comprobar la normalidad de los datos (Rao, 1998; Zar, 1999), rechazando la hipótesis de normalidad cuando el valor $p \leq 0{,}05$.

Cuando las exigencias requeridas por los análisis paramétricos citados arriba no fueron satisfechas, dos fueron las medidas utilizadas para el análisis (Lentner y Bishop, 1993; Rao, 1998; Zar, 1999): 1) la transformación de los datos, como sucedió con los pesos finales y, 2) el método no paramétrico de Kruskal-Wallis, en el caso de los datos de clorofila *a* dos horas después de la aplicación de $Ca(OH)_2$, los cuales no pudieron ser transformados debido a que algunos de los datos mostraban signos negativos.

El Análisis de Regresión Lineal (ARL) fue utilizado para determinar relaciones lineales entre las variables estudiadas. Antes de calcular las Correlaciones de Pearson, se realizaron pruebas gráficas para comprobar la homogeneidad de varianzas, normalidad e independencia de los residuales. Las relaciones entre variables que no cumplieron estos requisitos fueron analizadas usando la Correlación de Rangos de Spearman. Las correlaciones fueron consideradas fuertes cuando el coeficiente de correlación fue mayor a 0,50 (Rao y Kuranasagar, 2000).

Las pruebas de Barlett, Kolmogorov-Smirnov, AMR, Kruskal-Wallis y Tuckey fueron efectuadas en el programa Statistica 5.5. En cambio, para probar la independencia de los datos (comprobada gráficamente), los ANOVA´s de una vía y los ARL´s se utilizó el programa Data Desk versión 6.0.

4. RESULTADOS

4.1. PARÁMETROS DE COSECHA:

El ANOVA detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) entre el tratamiento A y el tratamiento B ($p < 0,01$; Tabla 1). De igual manera se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p = 0,05$) entre los tratamientos para el factor de conversión alimenticia (FCA). Sin embargo, el número de animales cosechados, supervivencia, biomasa, cantidad de alimento consumido y rentabilidad entre los tratamientos con cal y control no variaron entre los tratamientos.

Tabla 1: Valores promedio (± desviación estándar) de los parámetros de cosecha en los tratamientos.

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Peso final (g)	$9{,}7 \pm 2{,}0^{b}$	$7{,}8 \pm 1{,}3^{a}$
Animales cosechados	6.783 ± 1.073^{a}	6.836 ± 855^{a}
Supervivencia final (%)	68 ± 11^{a}	68 ± 8^{a}
Biomasa final (kg)	65 ± 8^{a}	53 ± 2^{a}
Alimento consumido (kg)	56 ± 1^{a}	57 ± 1^{a}
FCA	$0{,}87 \pm 0{,}12^{a}$	$1{,}07 \pm 0{,}03^{b}$
Rentabilidad (USD/ha)	$913{,}8 \pm 267{,}7^{a}$	$619{,}9 \pm 116{,}4^{a}$

Letras iguales en la misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

4.2. PARÁMETROS FÍSICOS:

La salinidad en la siembra fue 11 ppt y decreció a 3 ppt por el efecto de las lluvias durante el cultivo. Las concentraciones de oxígeno en las mañanas (Tabla 2) no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, durante las tardes si fueron detectadas diferencias ($p < 0,01$; Tabla 2). La temperatura promedio de la mañana y la tarde tampoco variaron entre los tratamientos (Tabla 2).

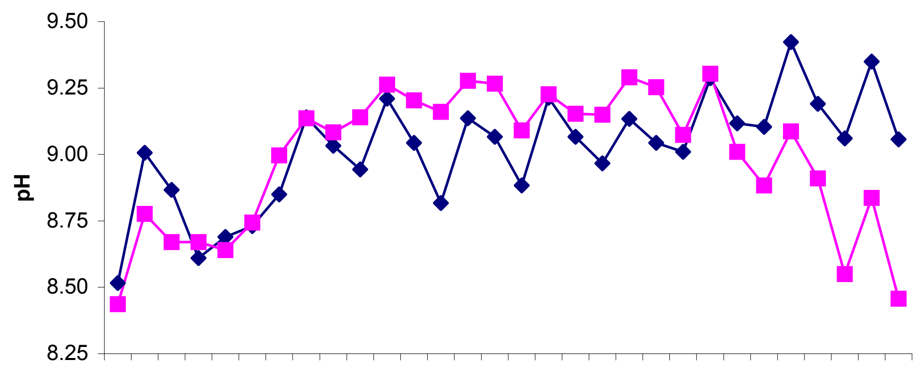
Tabla 2 : Valores promedio (± desviación estándar) de oxígeno disuelto y temperatura en cada tratamiento.

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Oxígeno (mg/L)		
6 a.m.	$5,85 \pm 1,72^{a}$	$5,90 \pm 0,13^{a}$
6 p.m.	$10,27 \pm 0,15^{b}$	$9,63 \pm 0,16^{a}$
Temperatura (ºC)		
6 a.m.	$29,4 \pm 0,1^{a}$	$29,3 \pm 0,1^{a}$
6 p.m.	$31,4 \pm 0,1^{a}$	$31,1 \pm 0,1^{a}$

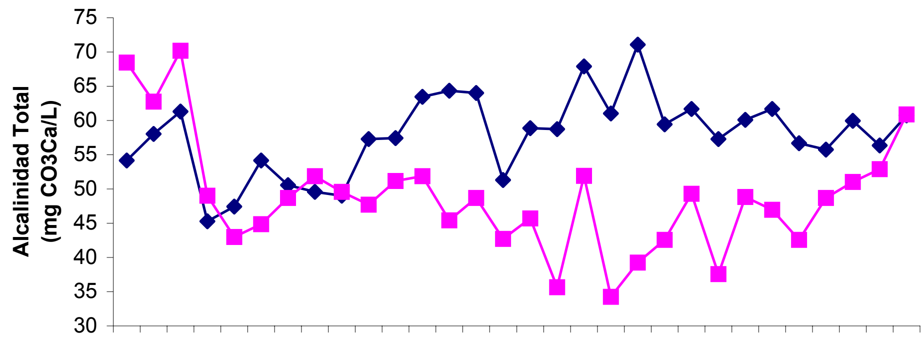
Letras iguales en una misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

4.3. PARÁMETROS QUÍMICOS:

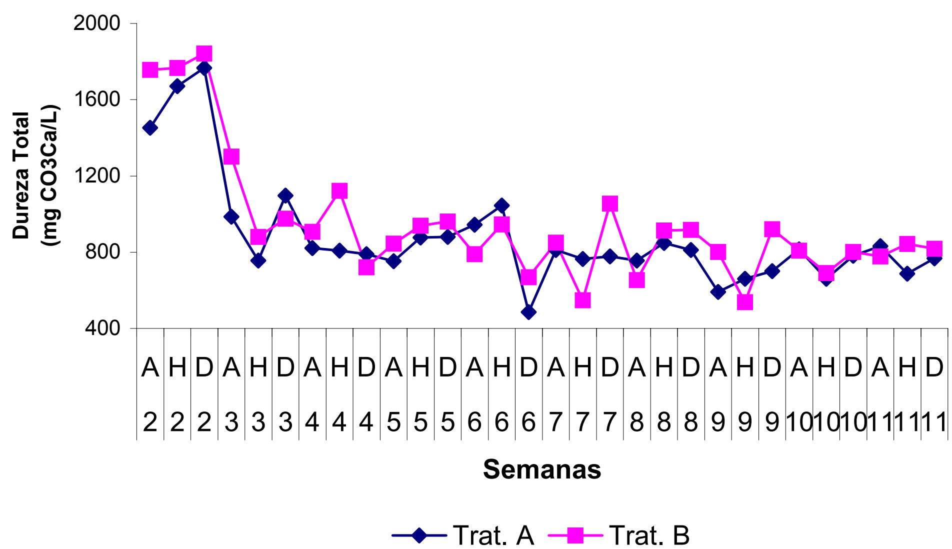
El comportamiento del pH en los tratamientos durante el experimento puede observarse en la Fig. 1a. Los valores promedio de pH dos horas después de la aplicación de la cal aumentaron en ambos tratamientos (Tabla 3; Anexo 1), sin embargo, el tratamiento A fue estadísticamente mayor al tratamiento B ($p = 0,01$). Igualmente, diferencias significativas fueron detectadas entre los valores promedio de las fluctuaciones entre las semanas del experimento ($p < 0,01$).



(a)



(b)



(c)

Figura 1: Valores promedio de pH (a), alcalinidad total (b) y dureza total (c) en los tratamientos durante el experimento. A, H y D representan 1 hora antes, 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.

Tabla 3: Valores promedio (± desviación estándar) de las fluctuaciones en los parámetros químicos en cada tratamiento 2 horas después del encalado.

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Alcalinidad Total (mg $CaCO_3$/L)	0,13 ± 11,24[a]	-2,13 ± 9,77[a]
Dureza Total (mg $CaCO_3$/L)	1 ± 322[a]	-30 ± 337[a]
TAN (mg/L)	0,001 ± 0,034[a]	–0,012 ± 0,048[a]
Clorofila *a* (µg/L)	0,47 ± 3,30[a]	–1,10 ± 3,93[a]
pH	0,28 ± 0,13[b]	0,17 ± 0,11[a]
TSS (mg/L)	-2,49 ± 7,55[a]	-1,92 ± 5,76[a]

Letras iguales en la misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

A los dos días de la aplicación, las fluctuaciones promedio de pH también fueron estadísticamente diferentes entre los tratamientos ($p = 0,04$), mostrando el tratamiento A un incremento mayor con relación al tratamiento B (Tabla 4; Anexo 1). También se encontraron diferencias entre las medias semanales de este parámetro ($p = 0,03$).

Tabla 4: Valores promedio (± desviación estándar) de las fluctuaciones en los parámetros químicos en cada tratamiento 2 días después del encalado.

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Alcalinidad Total (mg $CaCO_3$/L)	0,83 ± 12,99[a]	2,47 ± 9,86[a]
Dureza Total (mg $CaCO_3$/L)	9 ± 338[a]	19 ± 361[a]
TAN (mg/L)	0,015 ± 0,043[a]	0,010 ± 0,044[a]
Clorofila *a* (µg/L)	0,87 ± 2,87[a]	-1,57 ± 5,02[a]
pH	0,15 ± 0,17[b]	0,06 ± 0,12[a]
TSS (mg/L)	0,32 ± 10,07[a]	1,02 ± 11,69[a]

Letras iguales en la misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

Al observar las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de pH a las dos horas, se percibe un incremento en ambos tratamientos, siendo 3,19 y 1,74% para el tratamiento A y B, respectivamente (Anexo 2). A los dos días del encalado, ambos tratamientos también incrementan (Anexo 2), sin embargo, el aumento en el tratamiento A (1,44%) fue mayor al tratamiento B (0,68%).

En la Tabla 3 se pueden observar los valores promedio de las fluctuaciones en alcalinidad y dureza totales, TAN, clorofila *a* y TSS en cada tratamiento a las dos horas del encalado. No se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, ni entre las medias semanales ($p > 0{,}05$). Igualmente, a los dos días del encalado la alcalinidad y dureza totales, TAN, y TSS no fueron diferentes ni entre los tratamientos, ni entre las semanas ($p > 0{,}05$). Las medias de los tratamientos para cada uno de los parámetros a los dos días de la aplicación de la cal pueden ser observadas en la Tabla 4.

Las concentraciones de alcalinidad total en el tratamiento A fueron mayores que el tratamiento B en algunas semanas del cultivo (Fig. 1b). Las fluctuaciones promedio de alcalinidad total a las dos horas y dos días de la aplicación de $Ca(OH)_2$ pueden observarse en el Anexo. Al observar las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de alcalinidad total a las dos horas (Anexo 4), el tratamiento A muestra un pequeño incremento (0,05%), sin embargo, en el tratamiento B se indica una disminución en estas fluctuaciones (-3,22%). A los dos días (Anexo 4), el incremento en el tratamiento A fue menor en comparación con el tratamiento B, siendo 1,49% y 8,62% para el primero y segundo, respectivamente.

El comportamiento de la dureza total durante este estudio fue similar en ambos tratamientos durante el cultivo (Fig. 1c). Dos horas después del encalado (Anexo 6), las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de la dureza total disminuyen en ambos tratamientos, siendo menor para el tratamiento A (-0,80%) con relación al tratamiento B (-4,14%). Sin embargo, las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de la dureza total a los dos días (Anexo 6) disminuyen para el tratamiento A (-1,25%) y aumentan para el tratamiento B (0,60%).

Ambos tratamientos presentaron concentraciones similares de TAN durante el experimento (Fig. 2a). Las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de TAN mostraron una disminución en ambos tratamientos a las dos horas (Anexo 8), sin embargo, el tratamiento A mostró una menor disminución (-1,54%) con relación al tratamiento B (-29,45%). Igualmente, ambos tratamientos disminuyen a los dos días del encalado (Anexo 8), siendo –3,33% y –24,29%, para el tratamiento A y B, respectivamente.

Durante el experimento, las concentraciones de clorofila *a* en ambos tratamientos se muestran constantes hasta la semana 7, sin embargo, después de esto se puede notar un incremento en el tratamiento B con relación al tratamiento A (Fig. 2b). Dos horas después de la aplicación de la cal, las concentraciones de clorofila *a* aumentaron en el tratamiento A, sin embargo, en el tratamiento B se observa una disminución en estas concentraciones (Tabla 3; Anexo 9). Igualmente, un aumento y una disminución en los tratamientos A y B, respectivamente fue percibida a los dos días de la aplicación del material calcáreo (Tabla 4; Anexo 9). El análisis de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas entre las medias de los tratamientos en las semanas 9 y 10 (Tabla 5). A las dos horas, las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de clorofila *a* fueron 2,09 y –11,99% para el tratamiento A y B, respectivamente. Esto indica que la clorofila *a* aumentó en el tratamiento A y disminuyó en el tratamiento B después de este tiempo (Anexo 10). Dos días después del encalado (Anexo 10), las fluctuaciones relativas al valor inicial de clorofila *a* también mostraron un incremento en el tratamiento A (7,86%) y una disminución en el tratamiento B (-11,92%).

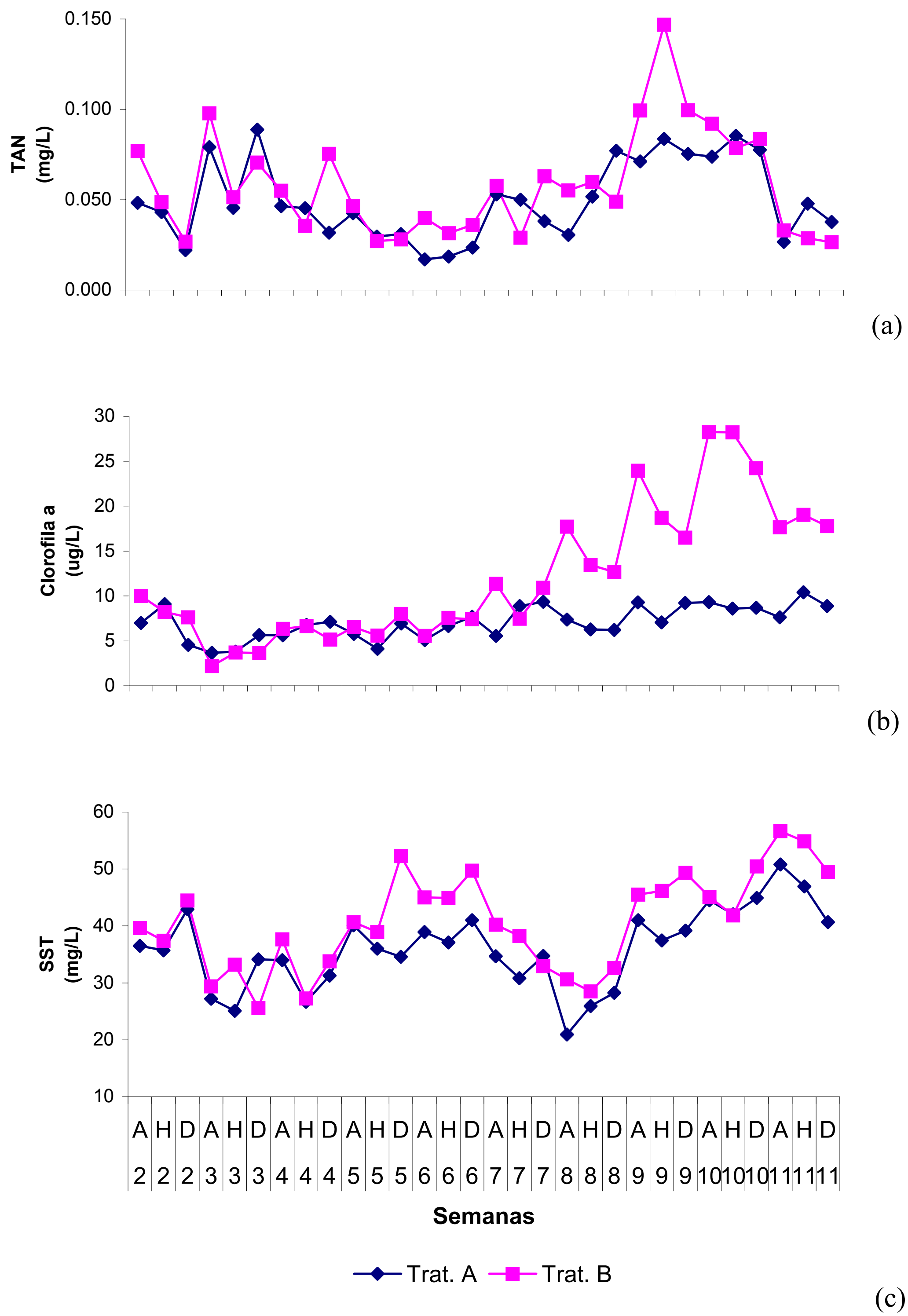


Figura 2: Valores promedio de TAN (a), clorofila *a* (b) y TSS (c) en los tratamientos durante el experimento. A, H y D representan 1 hora antes, 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.

Tabla 5: Valores promedio (± desviación estándar) de las fluctuaciones en clorofila *a* en los tratamientos por semana 2 días después del encalado.

Semanas	Tratamiento	
	A	B
2	-2,44 ± 3,20[a]	-2,39 ± 2,68[a]
3	1,99 ± 0,89[a]	1,44 ± 2,34[a]
4	1,48 ± 1,30[a]	-1,19 ± 5,58[a]
5	1,19 ± 1,38[a]	1,45 ± 3,35[a]
6	2,59 ± 5,77[a]	1,83 ± 3,86[a]
7	3,80 ± 3,60[a]	-0,43 ± 3,66[a]
8	-1,14 ± 1,13[a]	-5,05 ± 8,28[a]
9	-0,07 ± 0.88[b]	-7,46 ± 7,72[a]
10	-0.62 ± 2.04[b]	-4,00 ± 0,96[a]
11	1,25 ± 1,39[a]	0,13 ± 5,04[a]

Letras iguales en una misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

Las concentraciones de TSS en los tratamientos fluctuaron similarmente durante el experimento, sin embargo, el tratamiento A fue visualmente menor que el tratamiento B (Fig. 2c). Las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de TSS disminuyen en ambos tratamientos a las dos horas (Anexo 12), sin embargo, la disminución en el tratamiento A (-10,87%) fue mayor con relación al tratamiento B (-5,04%). A los dos días, también hay una disminución en las fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de TSS, siendo –3,68% y –4,72% para los tratamientos A y B, respectivamente (Anexo 12).

Los fluctuaciones promedio de la alcalinidad y dureza totales, NAT, clorofila *a*, pH y SST a las dos horas y a los dos días pueden observarse en los Anexos.

4.4. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS:

En la Tablas 6 y 7 se pueden observar los valores promedio de las fluctuaciones de los conteos microbiológicos en el agua y en el suelo entre los tratamientos. No se detectó diferencias entre los tratamientos en el número de bacterias totales en el agua a las dos horas y a los dos días del encalado, así como tampoco en las bacterias totales en el sedimento. De igual manera, los vibrios totales en el agua y sedimento no fueron diferentes entre los tratamientos. Las medias semanales tampoco mostraron diferencias significativas entre las bacterias totales a las dos horas y a los dos días y, vibrios totales en agua, sin embargo, diferencias fueron detectadas entre las medias semanales de bacterias y vibrios totales en el sedimento ($p < 0,01$ y $p = 0,04$, respectivamente).

Tabla 6: Valores promedio (± desviación estándar) de las fluctuaciones de las bacterias y vibrios totales en agua (UFC/mL) en cada tratamiento. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.

Parámetro	**2H**		**2D**	
	A	**B**	**A**	**B**
Bacterias Totales (10^5)	$1,1 \pm 8,0^a$	$-0,4 \pm 9,6^a$	$4,8 \pm 8,4^a$	$3,3 \pm 10,0^a$
Vibrios Totales (10^2)	$0,3 \pm 1,7^a$	$-0,3 \pm 1,3^a$		

Letras iguales en una misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

Tabla 7: Valores promedio (± desviación estándar) de las concentraciones de bacterias y vibrios totales en el sedimento en cada tratamiento (UFC/g).

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Bacterias Totales (10^6)	$5,9 \pm 6,4^a$	$4,1 \pm 3,8^a$
Vibrios Totales (10^3)	$1,1 \pm 1,7^a$	$0,8 \pm 1,5^a$

Letras iguales en una misma fila no son diferentes estadísticamente ($p > 0,05$).

Las concentraciones de bacterias totales en el agua durante el experimento fluctuaron similarmente en ambos tratamientos (Fig. 3). Las medias de las fluctuaciones en bacterias totales en el agua en los tratamientos pueden observarse en la Tabla 6 y en el Anexo 13.

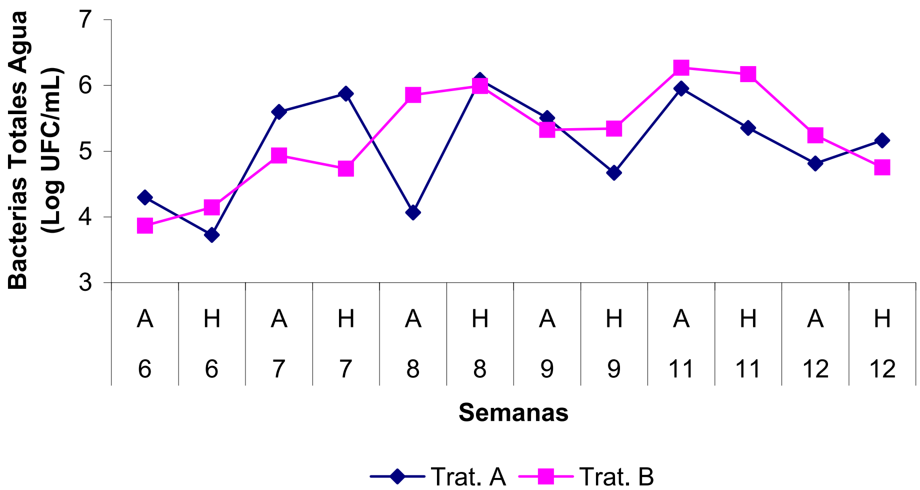


Figura 3: Valores promedio de bacterias totales en agua (Log UFC/mL) durante el experimento. A y H representan 1 hora antes y 2 horas después del encalado, respectivamente.

Dos horas después del encalado se observó una disminución en el número de bacterias totales en el agua con respecto al valor inicial en ambos tratamientos (Anexo 14), siendo esta disminución menor para el tratamiento A (-0,04%) con relación al tratamiento B (-0,51%). A los dos días en cambio (Anexo 14), se observó un incremento de 0,38 y 0,73% para los tratamientos A y B, respectivamente.

Las concentraciones semanales de bacterias totales en el sedimento también fluctuaron similarmente entre los tratamientos (Fig. 4).

Los vibrios totales en el agua durante los muestreos se comportaron similarmente en ambos tratamientos (Fig. 5). Las fluctuaciones de vibrios totales en agua pueden observarse en la Tabla 6 y en el Anexo 16.

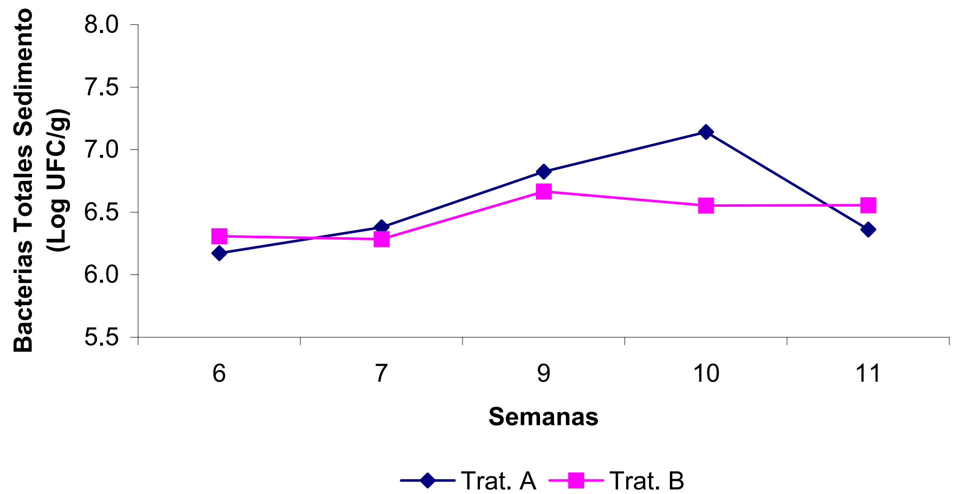


Figura 4: Valores promedio de bacterias totales en sedimento (Log UFC/g) durante el experimento.

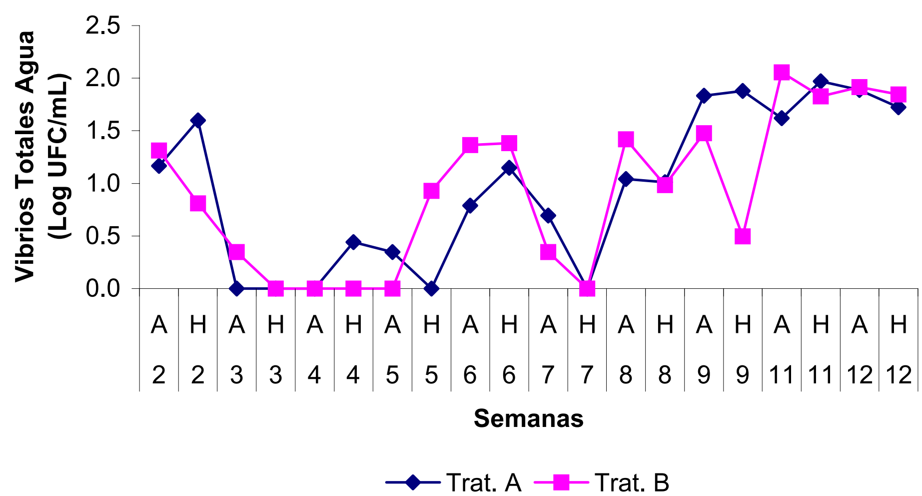


Figura 5: Valores promedio de vibrios totales en agua (Log UFC/mL) durante el experimento. A y H representan 1 hora antes y 2 horas después del encalado, respectivamente.

Las concentraciones de vibrios totales en el sedimento fueron superiores para el tratamiento A la mayoría de las semanas del cultivo (Fig. 6).

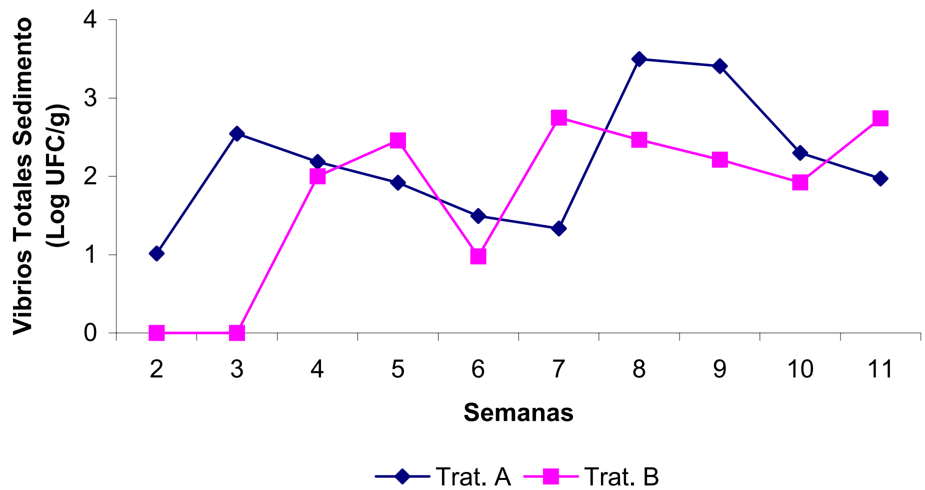


Figura 6: Valores promedio de vibrios totales en sedimento (Log UFC/g) durante el experimento.

4.5. CORRELACIONES:

Los valores de las correlaciones lineales obtenidas en los tratamientos A y B pueden ser observadas en las Tablas 8 y 9, respectivamente. En ambos tratamientos se observó un incremento en la dureza total al aumentar la alcalinidad total (Anexo 18).

Tabla 8: Correlaciones obtenidas en el tratamiento A. TAN, TSS y BT representan nitrógeno amoniacal total, sólidos suspendidos totales y bacterias totales, respectivamente.

	TAN	Clorofila *a*	Dureza	pH	TSS	BT agua	BT sedimento	Vibrios agua	Vibrios sedimento
Alcalinidad	- 0,04	**0,79***	**0,60***	**- 0,60***	**0,62***	- 0,07	0,01	0,15	0,08
TAN	----	0,12	- 0,08	- 0,06	0,08	0,37	**0,66***	- 0,01	0,15
Clorofila *a*	----	----	**0,62***	**- 0,73***	**0,76***	- 0,10	- 0,29	0,10	- 0,11
Dureza	----	----	----	**- 0,70***	**0,61***	-0,14	0,09	0,07	- 0,17
pH	----	----	----	----	**- 0,64***	0,13	0,28	0,10	0,11
Salinidad	----	----	----	----	----	- 0,08	0,12	- 0,07	- 0,16
TSS	----	---	----	----	----	- 0,04	- 0,17	0,17	- 0,23
BT agua	----	----	----	----	----	----	----	- 0,11	----
BT sedimento	----	----	----	----	----	----	----	----	0,19

*Coeficientes de correlación mayores a 0,50.

Tabla 9: Correlaciones obtenidas en el tratamiento B. TAN, TSS y BT representan nitrógeno amoniacal total, sólidos suspendidos totales y bacterias totales, respectivamente.

	TAN	**Clorofila *a***	**Dureza**	**pH**	**TSS**	**BT agua**	**BT sedimento**	**Vibrios agua**	**Vibrios sedimento**
Alcalinidad	- 0,13	- 0,02	**0,73***	- 0,46	0,13	- 0,11	0,39	0,28	0,24
TAN	----	0,21	- 0,04	0,02	- 0,05	0,49	0,17	- 0,07	- 0,15
Clorofila *a*	----	----	- 0,13	- 0,02	0,37	**0,51***	0,14	0,44	0,41
Dureza	----	----	----	- 0,38	- 0,12	0,03	0,06	0,05	- 0,02
pH		----	----	----	- 0,03	- 0,03	- 0,24	- 0,18	0,20
Salinidad	----	----	----	----	----	0,15	- 0,18	- 0,06	- 0,37
TSS		---	----	----	----	0,05	- 0,03	0,42	0,13
BT agua	----	----	----	----	----	----	----	0,15	----
BT sedimento	----	----	----	----	----	----	----	----	0,42

*Coeficientes de correlación mayores a 0,50.

En el tratamiento A, también fueron halladas correlaciones positivas entre la alcalinidad total y variables como clorofila *a* y TSS, sin embargo, estas relaciones no se observaron en el tratamiento B (Anexo 18).

La dureza total también fue relacionada positivamente con la clorofila *a* y TSS en el tratamiento A, sin embargo, estas relaciones fueron negativas en el tratamiento B, aunque no fueron fuertes (Anexo 19). Iguales relaciones se observaron entre la clorofila *a* y TSS (Anexo 19) y, entre el TAN y bacterias totales en el sedimento (Anexo 20). Estas relaciones no fueron tan fuertes en el tratamiento B (Anexo 19 y Anexo 20).

En el tratamiento A el pH y la alcalinidad total mostraron una correlación negativa (Anexo 20). Igualmente el pH en este estudio influenció negativamente a la dureza (Anexo 20), clorofila *a* (Anexo 21) y TSS (Anexo 21). Las relaciones entre pH y las variables arriba anotadas para el tratamiento B fueron más débiles (Anexo 20 y Anexo 21).

Un incremento en el número de bacterias totales en el agua fue observado al aumentar las concentraciones de clorofila *a* en el tratamiento B, sin embargo, este no pudo ser detectado en el tratamiento A (Anexo 21).

5. DISCUSIÓN

5.1. PARÁMETROS DE COSECHA:

Aunque las supervivencias de los tratamientos no fueron estadísticamente diferentes, el peso final de los camarones del tratamiento A (9,7 ± 2,0 g) fue significativamente mayor al tratamiento B (7,8 ± 1,3 g). Bombeo-Tuburan *et al.* (1993) reportaron una supervivencia y un crecimiento de 92,3 ± 0,82% y 0,32 ± 0,01 g/día, respectivamente, de *P. monodon* cultivados en estanques con *Ruppia maritima*, sin embargo, la *R. maritima per se* no fue encontrada en los intestinos de estos animales, por lo que el mejor crecimiento no fue atribuido directamente a esta macroalga sino más bien a detritus y restos de copépodos y otros animales. Los detritus tienen un mayor valor nutritivo que el plancton y una eficiencia de asimilación del 93% ha sido observada en *Metapenaeus monoceros* (Bombeo-Tuburan *et al.*, 1993). Además, estudios han reportado un incremento en la producción de bentos en estanques tratados con cal (Boyd y Tucker, 1998).

El FCA fue significativamente menor en el tratamiento A, lo cual se debe a la influencia de una mayor biomasa como resultado del peso final más alto registrado para este tratamiento. Aunque estadísticamente no se encontró diferencias significativas entre los ingresos económicos de los tratamientos, el tratamiento A consiguió una rentabilidad de 293 USD/ha sobre el tratamiento B, como derivación del mayor peso final obtenido al final del cultivo en este tratamiento.

5.2. PARÁMETROS FÍSICOS:

Las fluctuaciones excesivas en factores abióticos como oxígeno disuelto, salinidad y temperatura podrían incrementar el estrés y la susceptibilidad a enfermedades (Kautsky *et al.*, 2000). Boyd (2001b) señala 5-15 mg/L, 5-35 ppt y 25-32 ºC como los rangos aceptables de las concentraciones de oxígeno disuelto, salinidad y temperatura, respectivamente, para el cultivo de camarones. Supervivencias entre el 68% y 85% han sido reportadas en *P. californiensis* mantenidos en concentraciones de oxígeno disuelto entre 2,6-5,8 mg/L, aunque el crecimiento fue significativamente menor a 2,6 que a 5 mg/L (Ocampo *et al*., 2000). Wahab *et al*. (2003) reportaron 3,8–5,0 mg/L y 10–20 ppt como concentraciones óptimas de oxígeno disuelto y salinidad, respectivamente para el cultivo de *P. monodon*. Sonnenholzner (2002) observó supervivencias del 94% en temperaturas entre 28–35 ºC en *L. vannamei*. En este estudio, las concentraciones de oxígeno, la salinidad y la temperatura fluctuaron entre 5,87 ± 1,84 mg/L (6 a.m.) y 9,95 ± 2,35 mg/L (6 p.m.), 3 y 11 ppt y 29,3 ± 1,16 ºC (6 a.m.) y 31,26 ± 1,6 ºC (6 p.m.), respectivamente, los mismos que se encuentran dentro de los rangos previamente mencionados, lo cual contribuyó probablemente a las supervivencias de 68 ± 11% y 68 ± 8% para los tratamientos A y B, respectivamente, obtenidas al final del cultivo.

5.3. PARÁMETROS QUÍMICOS:

Sonnenholzner y Medina (2001) al evaluar los materiales calcáreos utilizados en el cultivo de camarón en el Ecuador mencionaron que los costos de los productos comercializados como $Ca(OH)_2$ y CaO no se justifican por su capacidad para neutralizar la acidez ni por el tamaño de la partícula para disolverse más rápidamente. Chambers *et al.* (2001) observaron un aumento de 0,2-3 unidades de pH en el agua de los estanques después de utilizar 250-275 mg/L de $Ca(OH)_2$, aún cuando las alcalinidades totales fueron de 128,5-197 mg $CaCO_3$/L. En este estudio se usaron dosis semanales de 10 mg/L de $Ca(OH)_2$, y aunque el pH mostró diferencias significativas entre las fluctuaciones dos horas y dos días después de la aplicación del material calcáreo, el resto de parámetros químicos analizados no variaron entre los tratamientos.

Estudios han reportado la dificultad de aumentar con materiales calcáreos las concentraciones de alcalinidad y dureza totales sobre 50–60 mg $CaCO_3$/L debido a las bajas concentraciones de CO_2 normalmente encontradas en el agua de los estanques (Boyd y Daniels, 1993; Boyd y Masuda, 1994). Los valores promedio de alcalinidad total se encontraron dentro de estos valores, sin embargo, las concentraciones de dureza total de los tratamientos fueron superiores (Tabla 10). Aunque teóricamente las aplicaciones del $Ca(OH)_2$ deberían incrementar los parámetros anteriormente citados en 13,5 mg $CaCO_3$/L (11 mg $CaCO_3$/L, según Sonnenholzner y Medina, 2001), estos incrementos pudieron haber quedado ocultos dentro de la variabilidad presentada en los tratamientos, lo que puede ser observada en la Tabla 10, además de los cuadrados medios del error a las dos horas y dos días (97,83 y 160,83 respectivamente), lo que podría explicar la falta de diferencias significativas durante este experimento. La alcalinidad y la dureza totales están fuertemente correlacionados en los sistemas acuáticos (Boyd y Tucker, 1998). Esta relación también fue observada en ambos tratamientos (Anexo 18).

Frances *et al.* (2000) y Hargreaves y Kucuk (2001) observaron disminuciones en el crecimiento de peces al aumentar las concentraciones de TAN en el agua hasta 4,3–4,7 mg/L. Concentraciones de TAN de 0,01 mg/L han sido obtenidas en estanques de *Penaeus stylirostris* con una densidad de 1-30 animales/m^2 (Martín *et al.*, 1998). Las cantidades promedio de TAN en los tratamientos fueron superiores durante este estudio (Tabla 10), sin embargo, estuvieron muy por debajo de las concentraciones seguras reportadas para *L. vannamei* (Lin y Chen, 2001), debido quizás a pérdidas por nitrificación y captación por parte del fitoplancton (Hargreaves, 1998), además de la denitrificación en los sedimentos y difusión cuando el pH fue mayor a 8,9 (Boyd y Tucker, 1998).

Tabla 10: Valores promedio (± desviación estándar) de los parámetros químicos y microbiológicos en cada tratamiento.

Parámetro	**Tratamiento**	
	A	**B**
Alcalinidad Total (mg $CaCO_3$/L)	58 ± 16	49 ± 11
Dureza Total (mg $CaCO_3$/L)	880 ± 440	945 ± 395
TAN (mg/L)	0,050 ± 0,031	0,058 ± 0,038
Clorofila *a* (µg/L)	7 ± 7	12 ± 9
pH	9,02 ± 0,45	8,99 ± 0,34
TSS (mg/L)	36 ± 19	41 ± 11
Bacterias Totales Agua (10^5 UFC/mL)	3,41 ± 5,51	4,89 ± 8,10
Vibrios Totales Agua (10^1 UFC/mL)	5,39 ± 12,75	4,54 ± 9,68

Saldias (2001) reportó concentraciones de clorofila *a* entre 76 ± 49 y 80 ± 65 µg/L en efluentes de estanques de *L. vannamei* en Ecuador, sin embargo, en este estudio los promedios de clorofila *a* se mantuvieron bajo estos rangos (Tabla 10). Varios factores como por ejemplo el ingreso de nutrientes, alimentación, características químicas del agua podrían explicar estas diferencias entre los estudios. Prepas *et al.* (2001a) obtuvieron una disminución de las concentraciones de clorofila *a* en lagos de aguas salobres al aplicar 13-72 mg/L de $Ca(OH)_2$. Sin embargo, otros estudios han conseguido incrementos de la productividad primaria neta al aumentar la alcalinidad total, sugiriendo que la adición de materiales calcáreos aumentaron la alcalinidad total lo cual resultó en una mayor disponibilidad de carbono para la fotosíntesis cuando CO_2 llegó a ser limitante (Boyd y Scarsbrook, 1974; Arce y Boyd, 1975; Garg y Bhatnagar, 2000). Sin embargo, la alcalinidad total y la clorofila *a* no fluctuaron significativamente entre los tratamientos (Tablas 3 y 4), lo cual sugiere que el $Ca(OH)_2$ no influenció a la productividad primaria durante este estudio. Se observó una relación negativa entre clorofila *a* y pH en el tratamiento A, aunque esta relación no fue presente en el tratamiento B (Anexo 21). La clorofila *a* presentó una correlación positiva con la dureza en el tratamiento A, sin embargo, el tratamiento B no muestra tal relación (Anexo 19). Es posible que los incrementos de pH después de las aplicaciones de $Ca(OH)_2$: 1) disminuyeran las concentraciones de CO_2 disponible para la fotosíntesis y 2) contribuyeran a la floculación de la biomasa de algas al ligarse con precipitados de fosfato de calcio (Sukenik *et al.*, 1985).

Las concentraciones de TSS en este estudio (Tabla 10) fueron inferiores a las concentraciones presentes en afluentes y efluentes de estanques de cultivo de *L. vannamei* reportadas por Cruz (2003). Cruz-Barreras *et al*. (2001) reportaron la disminución de la turbidez después de las aplicaciones de $Ca(OH)_2$ como un resultado de la floculación de sustancias coloidales en el agua, en este estudio las concentraciones de TSS no variaron significativamente después del uso de este material (Tablas 3 y 4), debido posiblemente a las similares concentraciones de dureza total entre los tratamientos (Fig. 1c). Una fuerte correlación positiva entre TSS y clorofila *a* fue observada en el tratamiento A, sin embargo, esta relación no se observó en el tratamiento B, sugiriendo que el fitoplancton constituyó un gran porcentaje de los TSS en el tratamiento A, mientras que en el tratamiento B un mayor porcentaje estaría posiblemente compuesto por partículas de arcilla suspendida. Se ha reportado una mayor floculación de TSS en la columna de agua al incrementarse la salinidad y disminuir el pH (Ritvo *et al.*, 2003), sin embargo, durante este estudio una relación negativa fue observada entre TSS y pH para el tratamiento A. Además, relaciones positivas también fueron encontradas entre los TSS y la alcalinidad y dureza totales en el tratamiento

A, sin embargo, estas no fueron percibidas en el tratamiento B. Esto se debe posiblemente a la fuerte influencia del fitoplancton en las concentraciones de TSS en el tratamiento A, lo cual no se observó en el tratamiento B.

Aunque no fue parte de este estudio, al final del cultivo se pudo observar la presencia de vegetación de fondo (*R. maritima*) en la mayoría de los estanques. Reedyk *et al.* (2001) reportaron la reducción de macroalgas al utilizar $Ca(OH)_2$ en concentraciones de 74-107 mg/L. Igualmente, Chambers *et al*. (2001) observaron que altas concentraciones (200-300 mg/L) de $Ca(OH)_2$ eliminan las macroalgas en estanques y canales, mientras que en tratamientos con bajas concentraciones (20-110 mg/L) solo hay una reducción de estas. El grado de control de las aplicaciones de cal sobre la abundancia de fitoplancton y macroalgas depende de la duración del tratamiento y la dosis (Prepas *et al.*, 2001b). Dosis equivalentes a 10 mg/L de $Ca(OH)_2$ fueron utilizadas en este estudio, lo que podría manifestar la falta de diferencias significativas entre los tratamientos en las fluctuaciones de clorofila *a* y la presencia de macroalgas en este estudio.

5.4. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS:

Bayot *et al*. (2001) reportaron conteos de bacterias totales de $1x10^4$ - $1x10^6$ UFC/mL en el agua de estanques de *L. vannamei* en Ecuador. Sin embargo, Anand *et al.* (1996) encontraron más altas concentraciones de bacterias totales en el agua y sedimento de estanques de cultivo de camarones en India (10^6-10^7 UFC/mL y 10^6-10^8 UFC/g, respectivamente). Concentraciones de vibrios totales de $1x10^2$ – $1x10^3$ UFC/mL han sido observadas en el agua de estanques de cultivo de camarones en Ecuador (CENAIM, datos no publicados). Durante este estudio, el número de bacterias totales en el agua y sedimento

(Tablas 7 y 10) se encontraron dentro de los rangos reportados anteriormente, sin embargo, las concentraciones de vibrios totales en el agua fueron inferiores (Tabla 10). Holt *et al.* (2000) mencionaron que los iones sodio son un requerimiento absoluto para la mayoría de especies de vibrios. Igualmente, estudios en *Vibrio vulnificus* reportaron 15 ppt como la salinidad óptima para la supervivencia, observándose una disminución en más bajas salinidades, aunque no fueron letales (Marco-Noales *et al.*, 1999). La salinidad durante el cultivo fluctuó entre 3 y 11 ppt, lo que podría ser el motivo por el cual los vibrios totales en el agua no fueron encontrados en las concentraciones arriba señaladas. Cruz-Barreras *et al*. (2001) reportaron la inhibición del crecimiento de bacterias y vibrios totales en agua al aplicar dosis de 0,75-50 mg/L de $Ca(OH)_2$ como resultado de la reducción del sustrato del cual estas se alimentan al disminuir la turbidez, sin embargo, en este estudio los tratamientos no mostraron diferencias en estos parámetros (Tabla 6). Esto se debe posiblemente a la ausencia de diferencias entre los TSS de los tratamientos después de las aplicaciones de cal (Tablas 3 y 4). Aunque el número de bacterias y vibrios totales en el sedimento no fueron diferentes estadísticamente, numéricamente se observa una mayor concentración en el tratamiento A (Anexo 15 y Anexo 17).

Varios estudios han reportado al fitoplancton y a las bacterias como responsables de utilizar altas cantidades de amonio en estanques de cultivo de camarones (Burford y Glibert, 1999; Burford y Williams, 2001; Burford *et al.*, 2003), sin embargo, la ausencia de correlaciones fuertes entre el TAN y la clorofila *a* y las bacterias totales en el agua en ambos tratamientos no soporta estos hallazgos (Tablas 6 y 7). Además, Rao y Kuranasagar (2000) encontraron una relación positiva entre bacterias totales aeróbicas en el sedimento y el TAN. Las concentraciones de TAN presentaron una relación positiva con las concentraciones de bacterias totales en el sedimento en el tratamiento A (Tabla 7), sin embargo, esta no fue observada en el tratamiento B (Tabla 8), sugiriendo una mayor actividad bacteriana en el sedimento del tratamiento A. Riemann y Winding (2001) reportaron un aumento del número de bacterias totales en el agua al aumentar la clorofila *a*. Aunque esto no se pudo observar en el tratamiento A, esta relación si fue encontrada en el tratamiento B. Esto sería porque al aumentar el número de células fitoplanctónicas se incrementaría también el sustrato disponible para las bacterias.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Las aplicaciones semanales de $Ca(OH)_2$ en dosis de 100 Kg/ha en aguas con alcalinidad total de 49 mg $CaCO_3$/L y dureza total de 880 mg $CaCO_3$/L no tuvieron influencia sobre las concentraciones de alcalinidad y dureza totales, TAN, fitoplancton, TSS y bacterias y vibrios totales en agua y en sedimento. Además, el número de animales, supervivencia, biomasa y alimento consumido finales tampoco mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.
- El pH es el único parámetro físico-químico que fue influenciado por las adiciones del material calcáreo a corto y largo plazo, mostrando a las 2 horas del encalado cambios significativos entre los tratamientos. Por lo tanto, este material de encalado debería ser usado en estas dosis solamente si el objetivo es elevar 0,21 ± 0,16 unidades de pH en el agua de los estanques. Sin embargo, estos incrementos no justificaron su uso en este estudio, en el cual el pH fluctuó entre 7,84 y 9,89.
- La dureza y la alcalinidad están relacionadas en estos sistemas acuícolas, lo que fue confirmado con las fuertes correlaciones en ambos tratamientos.
- Aunque las aplicaciones del material calcáreo no afectaron la supervivencia final entre los tratamientos, estas parecen mejorar el peso final de los camarones y reducir el FCA.
- La rentabilidad entre los tratamientos no presentó diferencias significativas, sin embargo, numéricamente el tratamiento A mostró un margen de utilidad mayor (293 USD/ha) con relación al tratamiento B.

- La falta de efectos sobre la mayoría de las variables plantean la necesidad de realizar estudios futuros utilizando otros tipos de materiales calcáreos como por ejemplo el $CaCO_3$, el cual es más económico y podría poseer el mismo efecto sobre la calidad de agua y producción de estos sistemas acuícolas. Además, las razones del mejor crecimiento de los camarones en el tratamiento A durante este experimento también deberían ser investigadas.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Guzmán, G., y F. Ascencio-Valle. 2000. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. Resent Reseach Development in Microbiology 4:333-348.

Anand, T.P., J.K.P. Edward, y K. Ayyakannu. 1996. Monitoring of a shrimp culture system with special reference to Vibrio and fungi. Indian Journal of Marine Sciences 25:253-258.

Anónimo. 2000. Panamá: Industria Acuícola en Recuperación. Panorama Acuícola 5(6):44-47.

Arce, R.G., y C.E. Boyd. 1975. Effects of agricultural limestone on water chemistry, phytoplankton productivity, and fish production in soft water ponds. Transactions of the American Fisheries Society 104(2):308-312.

Bayot, B., R. Cedeño, I. Betancourt, F. Panchana, M. Peeters, y F. Echeverría. 2001. Monitoreo epidemiológico de tres piscinas afectadas por el WSSV. El mundo Acuícola 7(1):46-50.

Bombeo-Tuburan, I., N.G. Guanzon Jr., y G.L. Schoroeder. 1993. Production of *Penaeus monodon* (Fabricius) using four natural food types in an extensive system. Aquaculture 112:57-65.

Boyd, C.E. 1979. Aluminum sulfate (alum) for precipitating clay turbidity from fish ponds. Transactions of the American Fisheries Society 108:307-313.

Boyd, C.E. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Editorial Birmingham Publishing Co. Alabama, USA.

Boyd, C. 1995. Source water, soil, and water quality impacts on sustainability in aquaculture. Sustainable Aquaculture 95:24-33.

Boyd, C. 1998. Water Quality for Pond Aquaculture. Research and Development Series Nº 43, Auburn University, Alabama, EE.UU.

Boyd, C. 2001a. Water Quality: A Primer. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam, Holanda.

Boyd, C.E. 2001b. Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. Pág. 1. *En* M.C. Haws y C.E. Boyd (Editores). Métodos para mejorar la Camaronicultura en Centroamerica. UCA.

Boyd, C.E., y E. Scarsbrook. 1974. Effects of agricultural limestone on phytoplankton communities of fish ponds. Archive of Hydrobiology 74(3):336-349.

Boyd, C.E., y W.W. Walley. 1975. Total alkalinity and hardness of surface waters in Alabama and Mississippi. Alabama Agriculture Experiment Station, Bulletin 465.

Boyd, C.E., y F. Lichtkoppler. 1979. Water Quality Management in Pond Fish Culture. Research and Development Series Nº 22.

Boyd, C.E., y H.V. Daniels. 1993. Liming and Fertilization of Brackishwater Shrimp Pond. The Haworth Press, Inc. Pág. 221-234.

Boyd, C.E., y K. Masuda. 1994. Characteristics of liming materials used in aquaculture ponds. World Aquaculture 25(1):76-79.

Boyd, C.E., y C.S. Tucker. 1998. Pond Aquaculture Water Quality Management. Kluwer Academic Publishers, Boston, EE.UU.

Boyd, C.E., y L. Massaut. 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. Aquacultural Engineering 20:113-132.

Boyd, C.E., S.W. Brown, y D.R. Bayne. 1983. Phytoplankton communities in Channel Catfish ponds. Proceedings of Annual Conference of Southeast Association of Fish and Wildlife Agencies 37: 401-407.

Burford, M.A., y P.M. Glibert. 1999. Short-term nitrogen uptake and regeneration in early and late growth phase shrimp ponds. Aquaculture Research 30:215-227.

Burford, M.A., P.J. Thompson, R.P. McIntosh, R.H. Bauman, y D.C. Pearson. 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp pond in Belize. Aquaculture 219:393-411.

Burford, M.A., y K.C. Williams. 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. Aquaculture 198:79-93.

Caraco, N.F., y R. Miller. 1998. Effects of CO_2 on competition between a cyanobacterium and eukaryotic phytoplankton. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 55:54-62.

Chambers, P.A., E.E. Prepas, M.E. Ferguson, M. Serediak, M. Guy, y M. Holst. 2001. The effects of lime addition on aquatic macrophytes in hard water: *in situ* and microcosm experiments. Freshwater Biology 46:1121-1138.

Clesceri, L., A. Greenberg, y A. Eaton. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Twentieth Edition. APHA, Washington D.C., EE.UU.

Cruz, J. 2003. Comparación de la calidad de agua de los efluentes de monocultivo y policultivos. CENAIM INFORMA, Boletín 76, Guayaquil, Ecuador.

Cruz-Barreras, C., F. Lares-Villa, R. Casillas-Hernández, y J.C. Ibarra-Gómez. 2001. Efectos de la cal sobre la calidad de agua en un cultivo de camarón blanco *Penaeus* *vannamei* y sobre bacterias que le causan enfermedades. ECUACAMARÓN. Cámara de Productores de Camarón 1(2):22-26.

Cytryn, E., I. Gelfand, Y. Barak, J. van Rijn, y D. Minz. 2003. Diversity of microbial communities correlated to physiochemical parameters in a digestion basin of a zero-discharge mariculture system. Environmental Microbiology 5: 55-63.

Davies, P.H., W.C. Gorman, C.A. Carlson, y S.F. Brinkman. 1993. Effect of hardness on bioavailability and toxicity of cadmium to rainbow trout. Chemical Speciation and Bioavailability 5(2):67-77.

Dobbins, D.A., y C.E. Boyd. 1976. Phosphorus and potassium fertilization of sunfish ponds. Transactions of the American Fisheries Society 105(4):536-540.

Durborow, R.M., D.M. Crosby, y M.W. Brunson. 1997a. Ammonia in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center Nº 463.

Durborow, R.M., D.M. Crosby, y M.W. Brunson. 1997b. Nitrite in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center Nº 462.

Frances, J., B.F. Nowak, y G.L. Allan. 2000. Effects of ammonia on juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture 183:95-103.

Garg, S.K., y A. Bhatnagar. 2000. Effect of fertilization frequency on pond productivity and fish biomass in still water ponds stocked with *Cirrhinus mrigala* (Ham.). Aquaculture Research 31: 409-414.

Gollas-Galván, T., J. Hernández-López, y F. Vargas-Albores. 1997. Effect of calcium on the brown shrimp (*Penaeus californiensis*, Holmes) prophenoloxidase system activation. Comparative Biochemistry and Physiology 117A:419-425.

Grizzle, J.M., A.C. Mauldin, D. Young, y E. Henderson. 1985. Survival of juvenile Striped Bass (*Morone saxatilis*) and Morone Hybrid Bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) increased by addition of calcium to soft water. Aquaculture 46:167-171.

Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture 166:181-212.

Hargreaves, J., y M. Brunson. 1996. Carbon dioxide in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center Nº 468.

Hargreaves, J.A., y S. Kucuk. 2001. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. Aquaculture 195:163-181.

Hisbi, D., J. Vanderberghe, R. Robles, L. Verdonck, J. Swings, y P. Sorgeloos. 2000. Characterization of *Vibrio* related bacteria associated with shrimp *Penaeus monodon* larvae in Indonesia. Asian Fisheries Science 13:57-64.

Holt, J., N. Krieg., P. Sneath, J. Staley, y S. Williams. 2000. Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, EE.UU.

Horowitz A., y S. Horowitz. 2001. Acuacultura sustentable de camarón: Una perspectiva microbiológica (En CDROM). Procede del VI Congreso Ecuatoriano de Acuicultura y V Congreso Iberoamericano de Acuicultura y Exposición del 24-27 de Octubre 2001, Guayaquil, Ecuador.

Horowitz, A., T.M. Samocha, R.L. Gandy, y S. Horowitz. 2001. Application of a new bead biofilter for enhanced nitrification in shrimp production systems (En CDROM). Procede del VI Congreso Ecuatoriano de Acuicultura y V Congreso Iberoamericano de Acuicultura y Exposición del 24-27 de Octubre 2001, Guayaquil, Ecuador.

Hunt, D., y C.E. Boyd. 1981. Alkalinity losses from ammonium fertilizers used in fish ponds. Transactions of the American Fisheries Society 110:81-85.

Jackson, C., N. Preston, P.J. Thompson, y M. Burford. 2003. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. Aquaculture 218:397-411.

Kautsky, N., P. Rönnbäck, M. Tedengren, y M. Troell. 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. Aquaculture 191:145-161.

Lentner, M., y T. Bishop. 1993. Experimental Design and Analysis. Second Edition. Valley Book Company, Blacksburg, EE.UU.

Lin, Y.C., y J.C. Chen. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 259:109-119.

Marco-Noales, E., E.G. Biosca, y C. Amaro. 1999. Effects of salinity and temperature on long-term survival of the Eel pathogen *Vibrio vulnificus* Biotype 2 (Serovar E). Applied and Environmental Microbiology 65(3):1117-1126.

Martin, J.L.M., Y. Veran, O. Guelorget, y D. Pham. 1998. Shrimp rearing: stocking density, growth, impact on sediment, waste output and their relationships studied through the nitrogen budget in rearing ponds. Aquaculture 164:135-149.

Murad, H., y C.E. Boyd. 1991. Production of sunfish (*Lepomis spp.*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in acidified ponds. Aquaculture 94:381-388.

Nelson, R.G., y J.S. Dendy. 1978. Effects of various culture conditions on survival and reproduction of Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*). Freshwater Crayfish 4:305-312.

Ocampo, L., H. Villarreal, M. Vargas, G. Portillo, y F. Magallón. 2000. Effect of dissolved oxygen and temperature on growth, survival and body composition of juvenile *Farfantepenaeus californiensis*. Aquaculture Research 31:167-171.

Okabe, S., K. Haratia, Y. Ozawa, y Y. Watanabe. 1996. Spatial microbial distributions of nitrifiers and heterotrophs in mixed-population biofilms. Biotechnology and Bioengineering 50(1):24-35.

Pasano, L. 1960. Molting and its control. Pág. 490. *En* T. H. Waterman (Editor). The Physiology of Crustacea. Volume I: Metabolism and Growth. Academic Press, New York, EE.UU.

Pechar, L. 1987. Use of an acetone:methanol mixture for the extraction and spectrophotometric determination of chlorophyll-*a* in phytoplankton. Archiv für Hydrobiologie Supplement 78:99-117.

Perry, H., C. Trigg, K. Larsen, J. Freeman, M. Erickson, y R. Henry. 2001. Calcium concentration in seawater and exoesqueletal calcification in the blue crab, *Callinectes sapidus*. Aquaculture 198:197-208.

Plumb, J.A. 1984. Relationship of water quality and infectious diseases in cultured Channel Catfish. Symposia Biologica Hungarica. Pág. 290-303.

Prepas, E.E., J. Babin, T.P. Murphy, P.A. Chambers, G.J. Sandland, A. Ghadouani, y M. Serediak. 2001a. Long-term effects of successive $Ca(OH)_2$ and $CaCO_3$ treatments on the water quality of two eutrophic hardwater lakes. Freshwater Biology 46:1089-1103.

Prepas, E.E., B. Pinell-Alloul, P.A. Chambers, T.P. Murphy, S. Reedyk, G. Sandland, y M. Serediak. 2001b. Lime treatment and its effects on the chemistry and biota of hardwater eutrophic lakes. Freshwater Biology 46:1049-1060.

Rao, P.V. 1998. Statistical Research Methods in the Life Sciences. Brooks/Cole Publishing Company, EEUU.

Rao, P.S., e I. Kuranasagar. 2000. Incidence of bacteria involved in nitrogen and sulphur cycles in tropical shrimp culture ponds. Aquaculture International 8:463-472.

Reedyk, S., E.E. Prepas, y P.A. Chambers. 2001. Effects of single $Ca(OH)_2$ doses on phosphorus concentration and macrophyte biomass of two boreal eutrophic lakes over 2 years. Freshwater Biology 46:1075-1087.

Riemann, L., y A. Winding. 2001. Community dynamics of free-living and particle-associated bacterial assemblages during a freshwater phytoplankton bloom. Microbial Ecology 42:274-285.

Ritvo, G., O. Dassa, y M. Kochba. 2003. Salinity and pH effect on the colloidal properties of suspended particles in super intensive aquaculture systems. Aquaculture 218:379-386.

Saulnier, D., P. Haffner, C. Goarant, P. Levy, y D. Ansquer. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. Aquaculture 191:133-144.

Saldias, C.A. 2001. Efluentes y balance de nutrientes en piscinas camaroneras con diferentes prácticas de manejo. Tesis para obtener el grado de Magíster en Ciencias. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Sato, M.I.Z., P.S. Sánchez, I.G. Rivera, y M.T. Martins. 1995. Survival of culturable *Vibrio cholerae* 01 and non 01 in seawater, freshwater and wastewater and effect of the water environment on enterotoxin production. Revista de Microbiología 26(2):83-89.

Solís, P.A. 1996. Miniaturización y simplificación de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias marinas asociadas al camarón. Tesis de Acuicultor, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Solórzano, L. 1983. Boletín Científico y Técnico INP. Vol. 7, Nº 1. Pág. 19-20.

Sonnenholzner, S. 2002. Tolerancia de temperatura. CENAIM INFORMA, Boletín 64.

Sonnenholzner, S., y C.E. Boyd. 2000. Chemical and physical properties of shrimp pond bottoms soils in Ecuador. Journal of the World Aquaculture Society vol. 31(3):358-375.

Sonnenholzner, S., y X. Medina. 2001. Evaluación de materiales calcáreos utilizados en el cultivo de camarón en Ecuador. CENAIM INFORMA, Guayaquil, Ecuador.

Spira, W. M. 1984. Tactics for detecting pathogenic vibrios in the environment. Pag. 258. *En* R.R. Colwell (Editor). VIBRIOS IN THE ENVIRONMENT. John Wiley & Sons, Inc., New York, EEUU.

Sudheesh, P.S., y H.S. Xu. 2001. Pathogenecity of *Vibrio parahaemolyticus* in tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius: possible role of extracellular proteases. Aquaculture 196:37-46.

Sukenik, A., W. Schröder, J. Lauer, G. Shelef, y C.J. Soeder. 1985. Coprecipitation of microalgal biomass with calcium and phosphate ions. Water Resources 19:127-129.

Sung, H.H., H.C. Li, F.M. Tsai, Y.Y. Ting, y W.L. Chao. 1999. Changes in the composition of *Vibrio* communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation and in the hepatopancreas of healthy and diseased shrimp. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 236:261-271.

Sung, H.H., S.F. Hsu, C.K. Chen, Y.Y. Ting, y W.L. Chao. 2001. Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. Aquaculture 192:101-110.

Vissers, I. y C. Saldias. 2000. Manual Básico sobre el Cultivo Extensivo / Semi-Intensivo del Camarón. Primera Edición. Fundación CENAIM-ESPOL, Guayaquil, Ecuador.

Wahab, M.A., A. Bergheim, y B. Braaten. 2003. Water quality and partial mass budget in extensive shrimp ponds in Bangladesh. Aquaculture 218:413-423.

Webster, R., y R.W. Payne. 2002. Analyzing repeated measurements in soil monitoring and experimentation. European Journal of Soil Science 53:1-13.

Wetzel, J.E. 2001. A production method for Freshwater Prawns in Illinois Ponds. Rural Enterprise and Alternative Development Initiative Report 10:1-13.

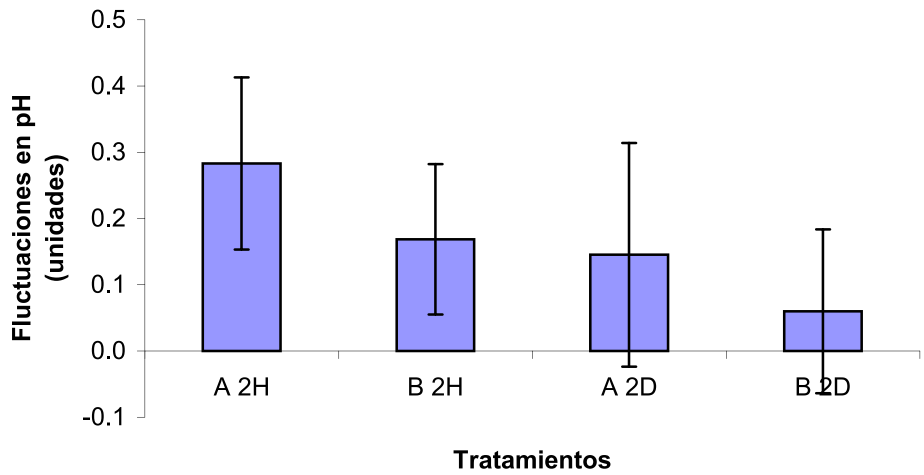
Wurts, W.A. 1993. Understanding water hardness. World Aquaculture 24(1).

Wurts, W.A. 2003. Alkalinity and hardness in production ponds. http://www.ca.uky.edu/wkrec/AlkHardness.PDF.

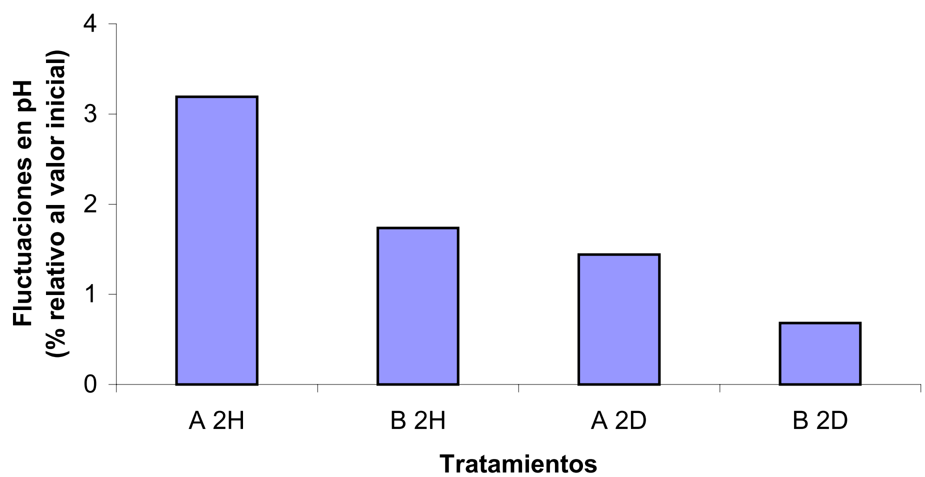
Wurts, W.A., y R.M. Durborrow. 1992. Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. Southern Regional Aquaculture Center Nº 464.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Fourth Edition. Prentice Hall, EEUU.

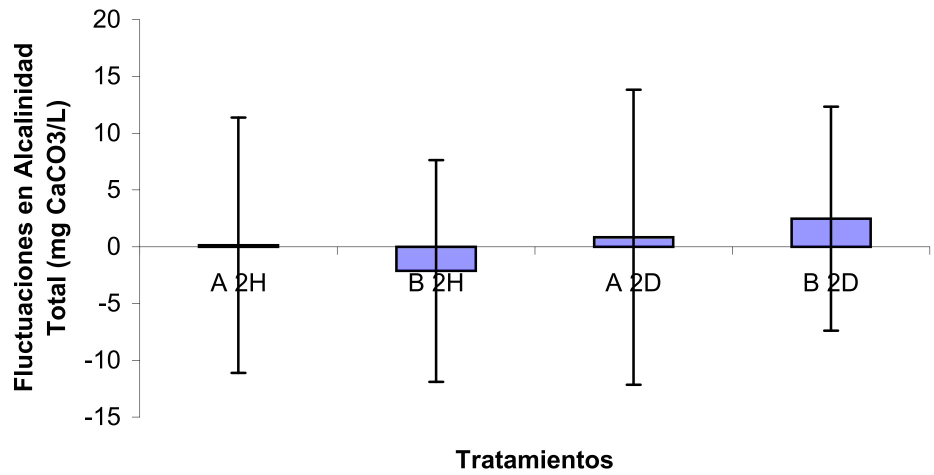
ANEXOS



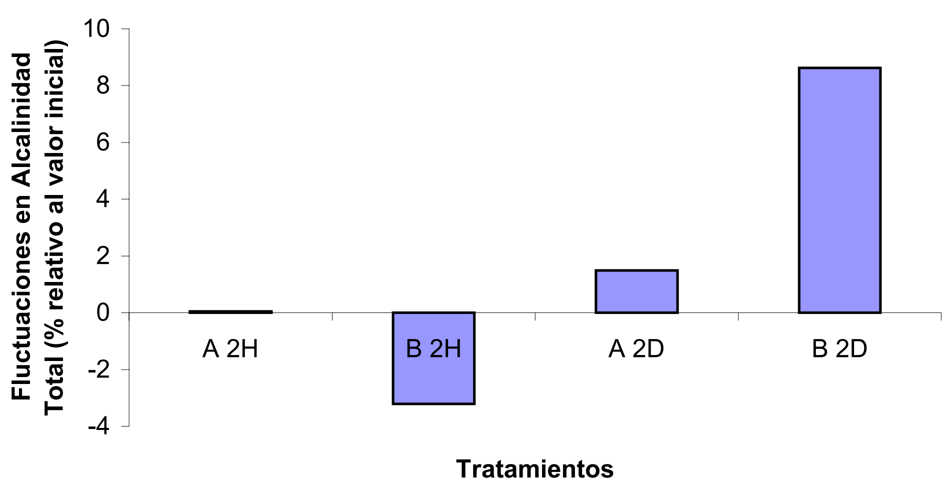
Anexo 1: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones de pH en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



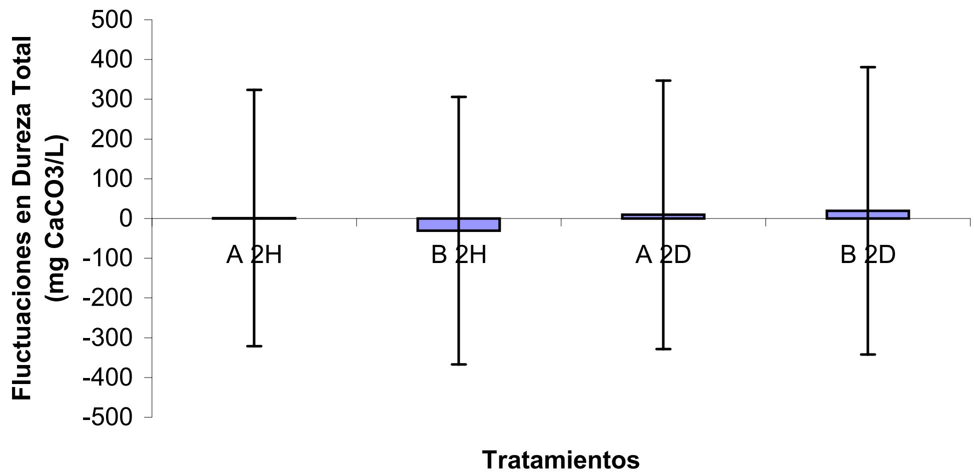
Anexo 2: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de pH en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



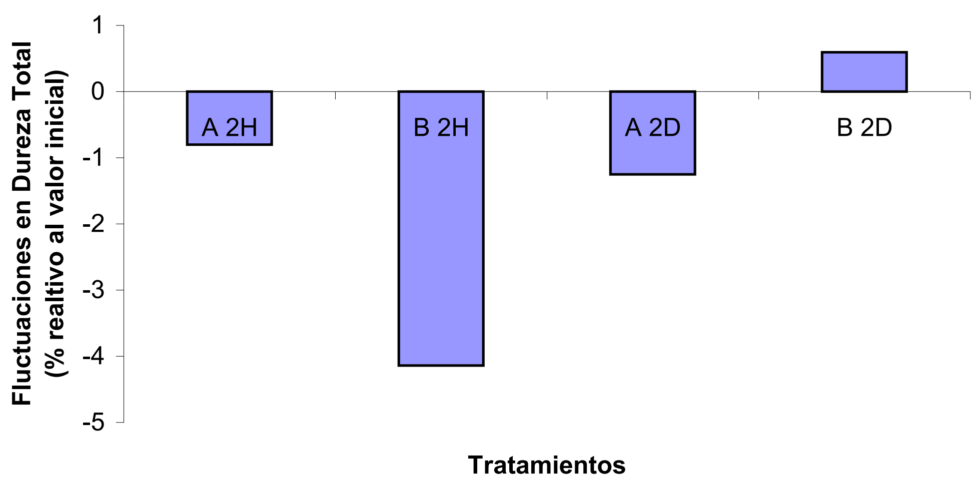
Anexo 3: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones en alcalinidad total (mg $CaCO_3$/L) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



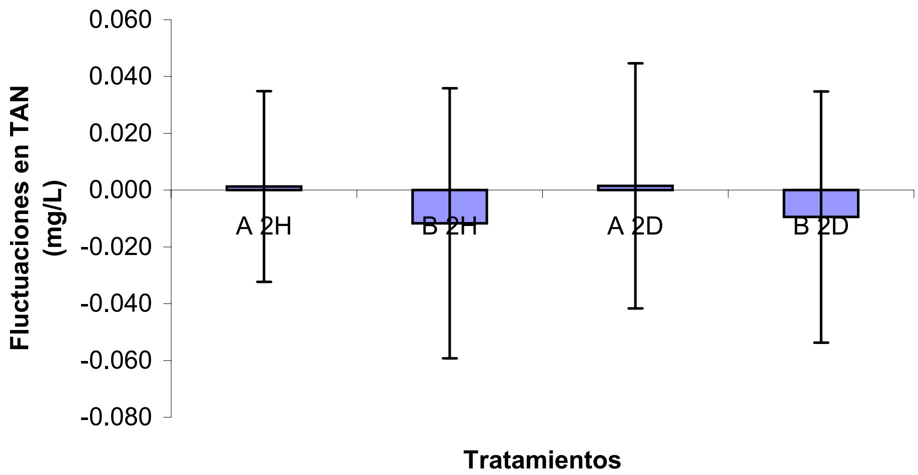
Anexo 4: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de la alcalinidad total en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



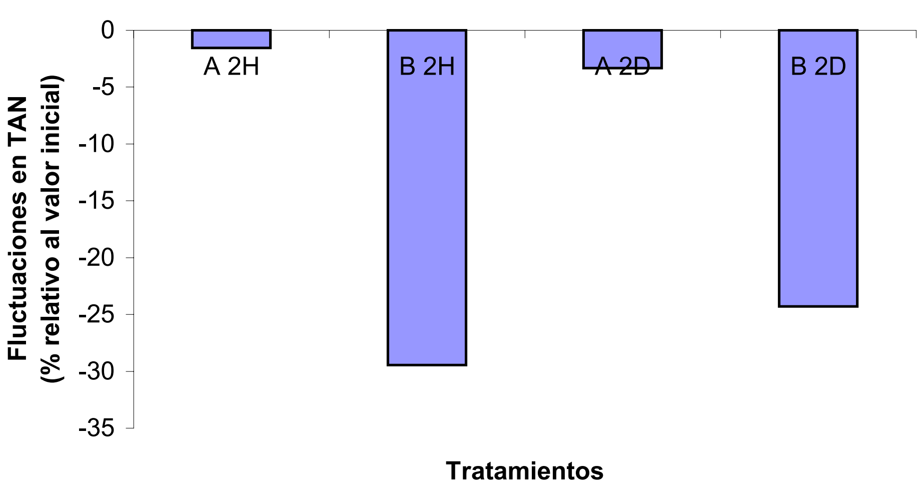
Anexo 5: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones en dureza total (mg $CaCO_3$/L) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



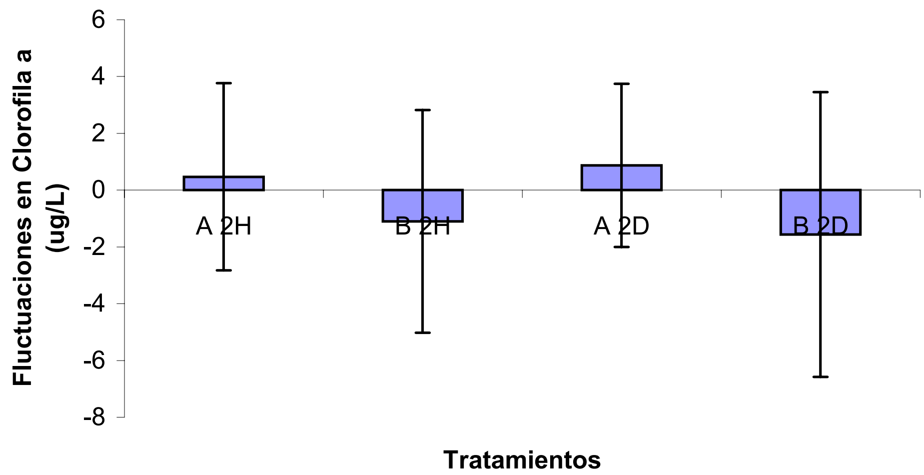
Anexo 6: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de dureza total en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



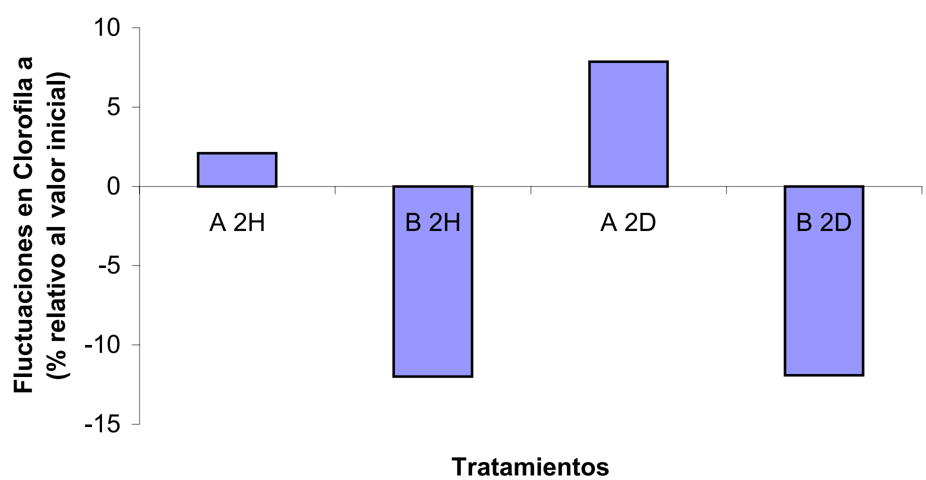
Anexo 7: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones en TAN (mg/L) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



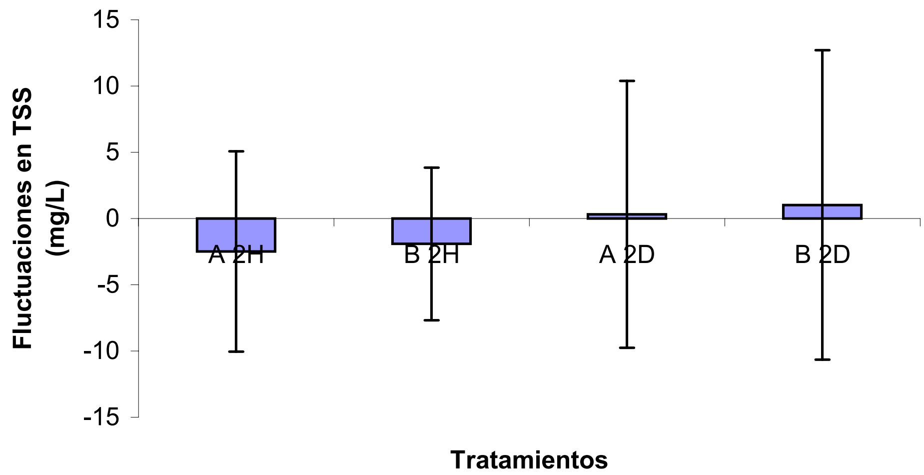
Anexo 8: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de TAN en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



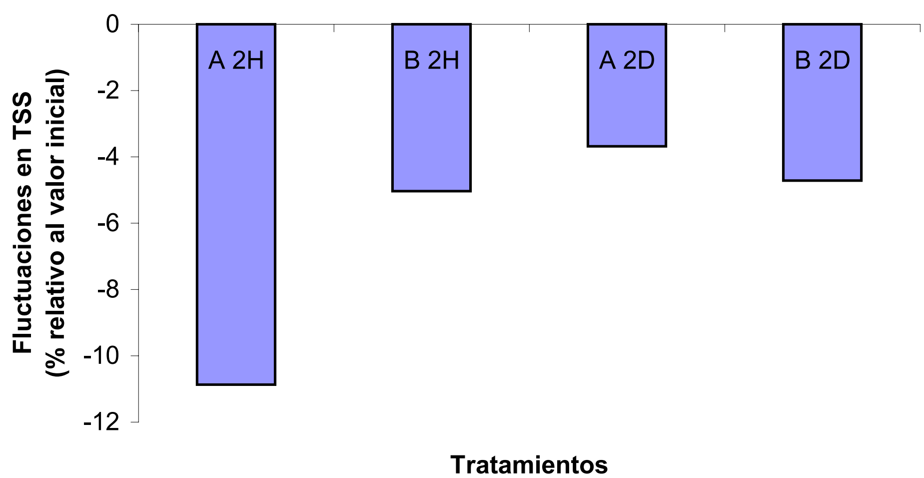
Anexo 9: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones en clorofila *a* (µg/L) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



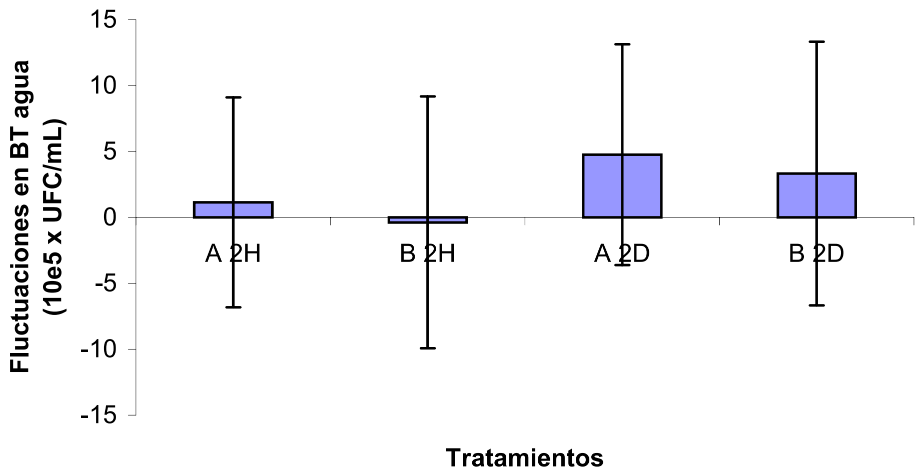
Anexo 10: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de clorofila *a* en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



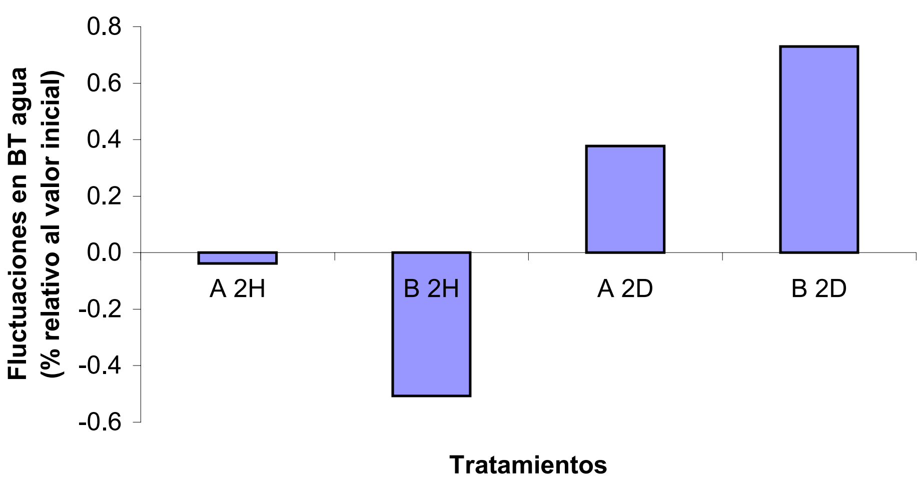
Anexo 11: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones de TSS (mg/L) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



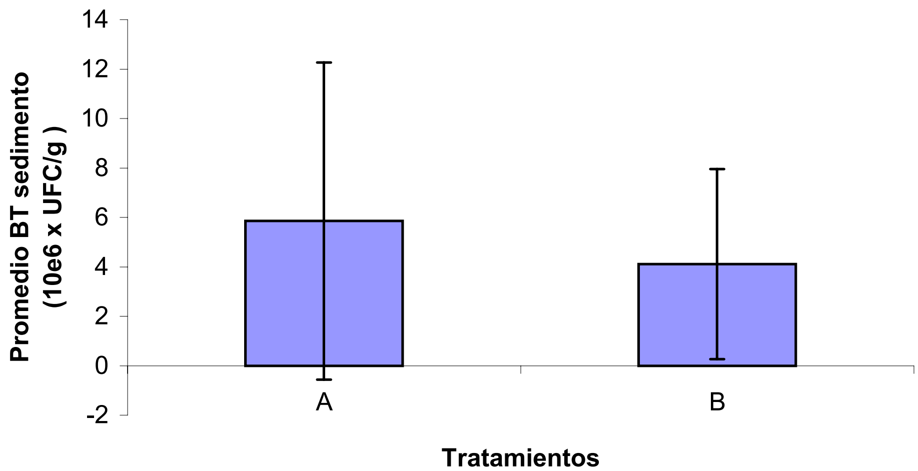
Anexo 12: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de TSS en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



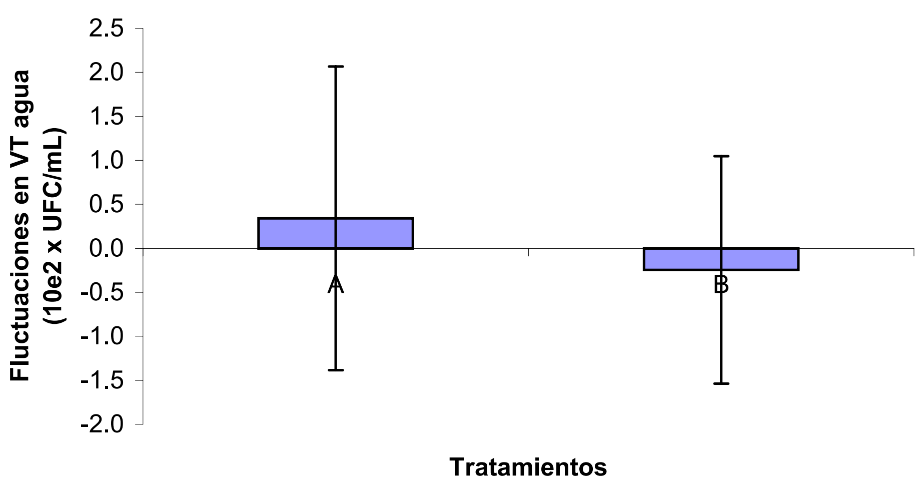
Anexo 13: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones de bacterias totales en agua (UFC/mL) en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



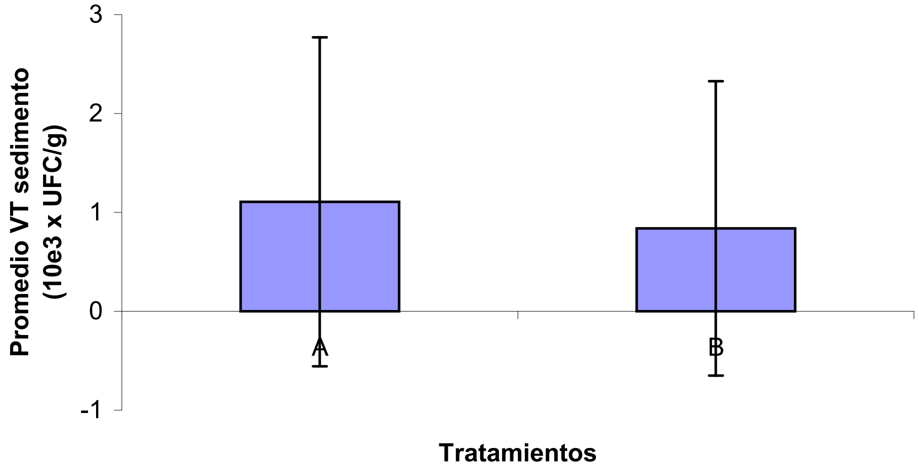
Anexo 14: Medianas de fluctuaciones porcentuales relativas al valor inicial de bacterias totales en agua en los tratamientos. 2H y 2D representan 2 horas y 2 días después del encalado, respectivamente.



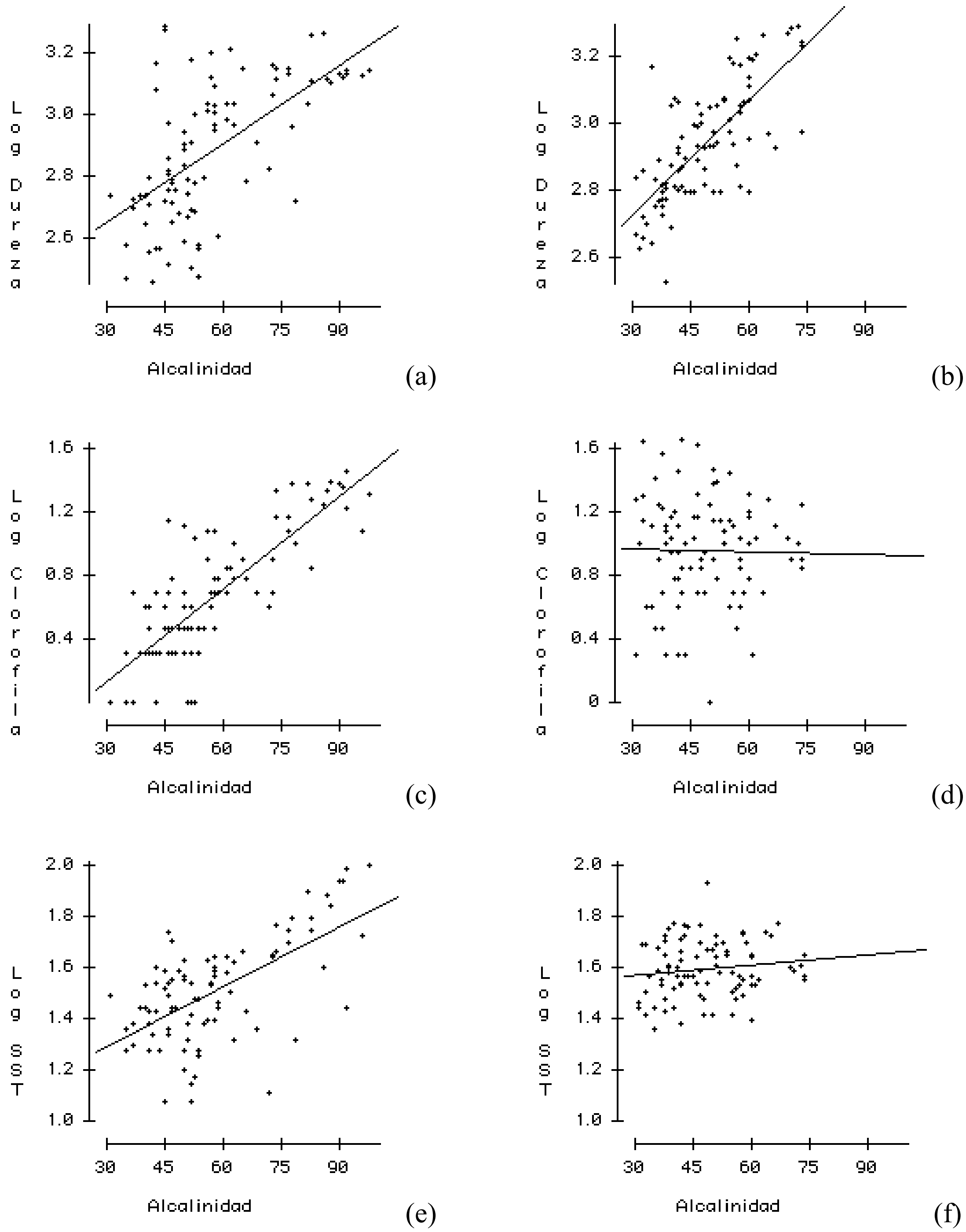
Anexo 15: Valores promedio (± desviación estándar) de bacterias totales en el sedimento (UFC/g) en los tratamientos 2 días después del encalado.



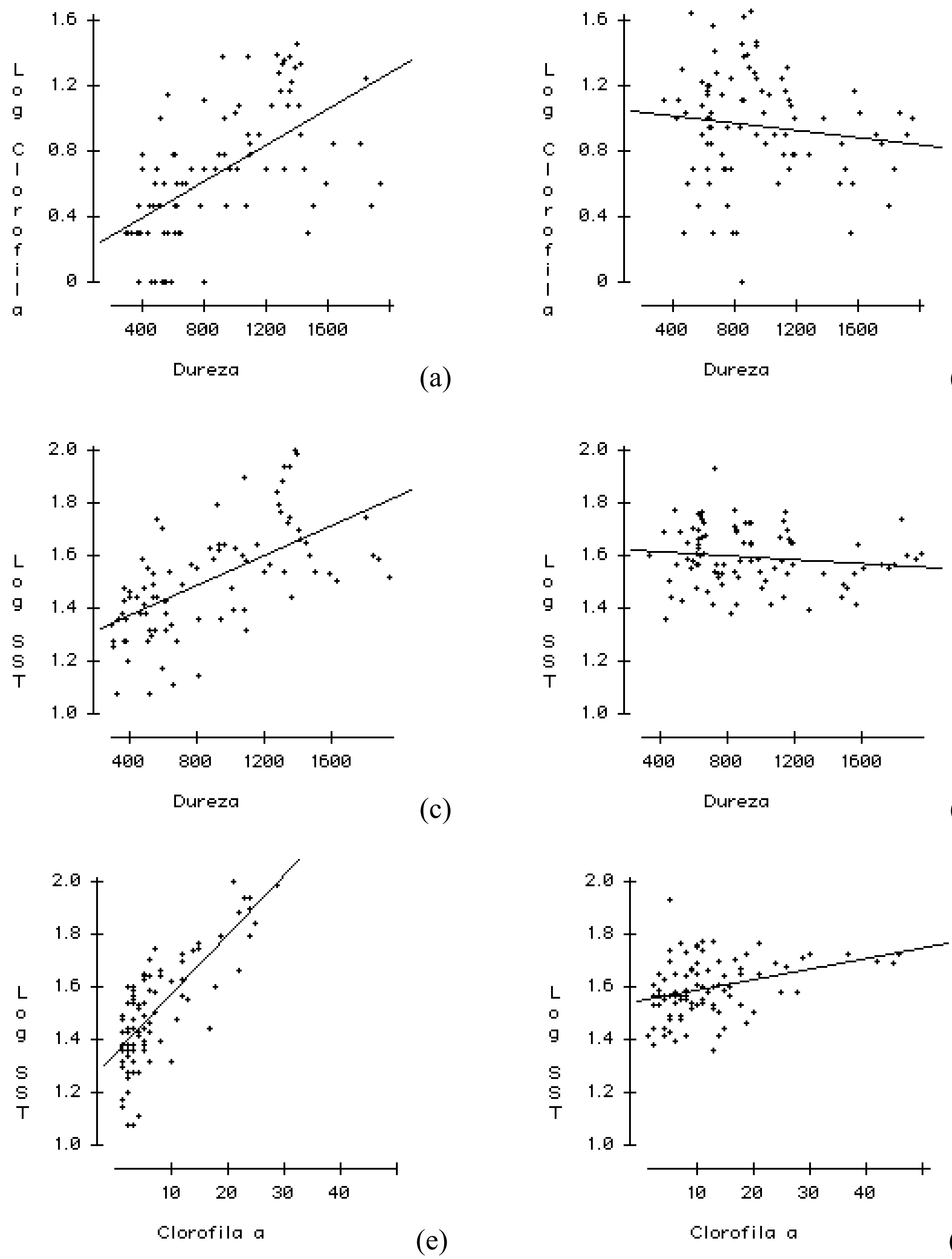
Anexo 16: Valores promedio (± desviación estándar) de fluctuaciones de vibrios totales en agua (UFC/mL) en los tratamientos 2 horas después del encalado.



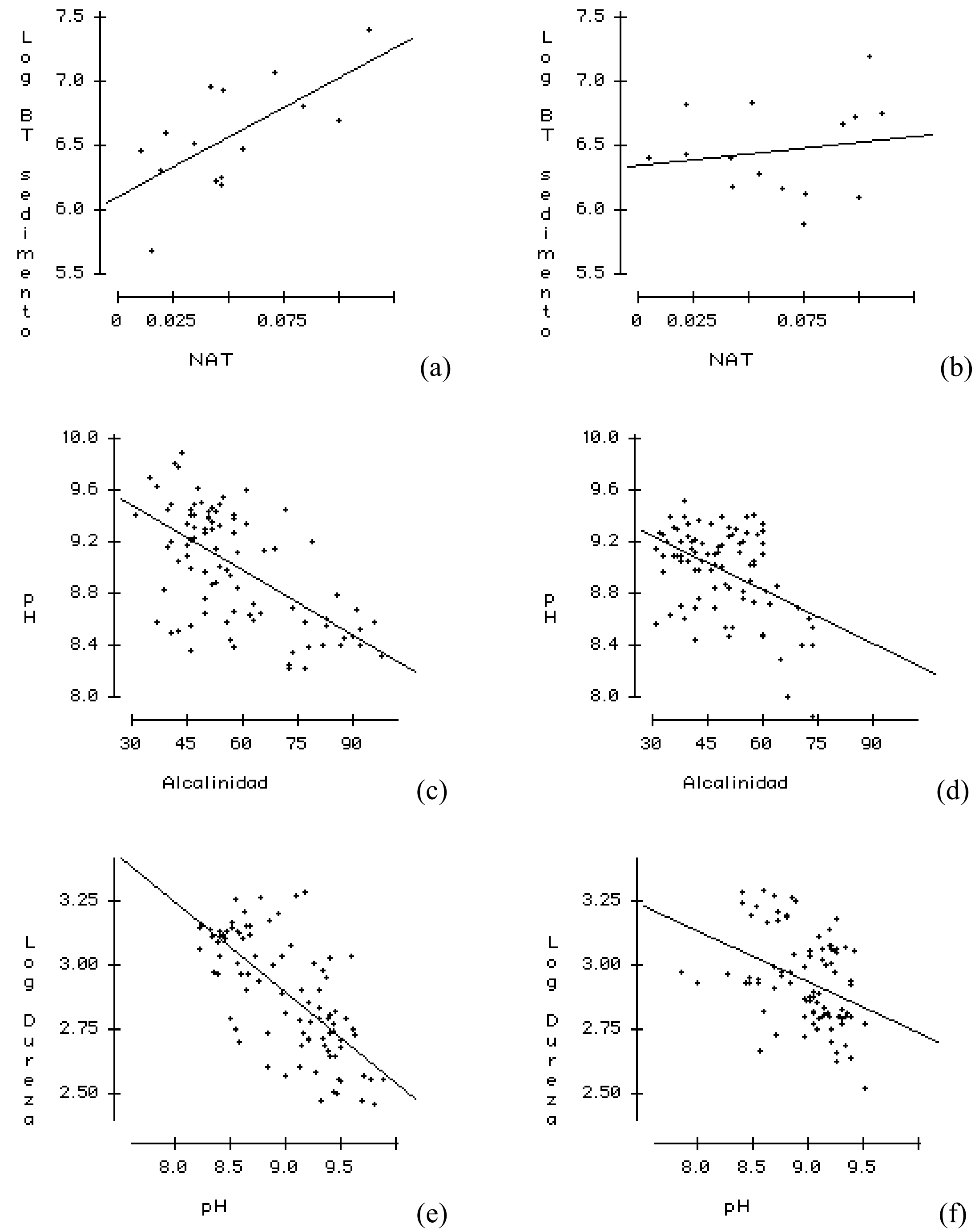
Anexo 17: Valores promedio (± desviación estándar) de vibrios totales en el sedimento (UFC/g) en los tratamientos 2 días después del encalado.



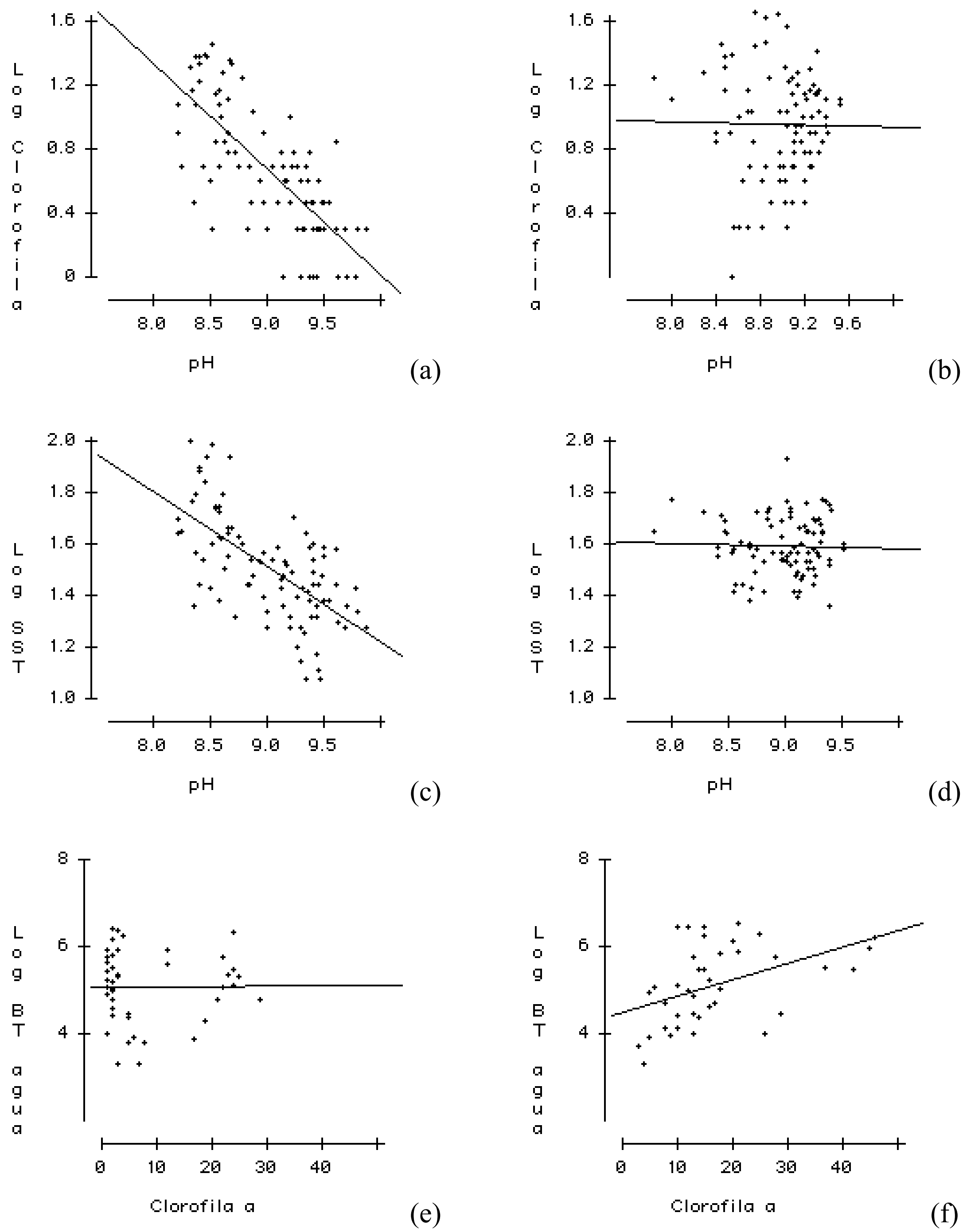
Anexo 18: Relaciones entre dureza total y alcalinidad total en los tratamientos A (a) y B (b), entre clorofila *a* y alcalinidad total en los tratamientos A (c) y B (d) y, entre TSS y alcalinidad total en los tratamientos A (e) y B (f).



Anexo 19: Relaciones entre clorofila *a* y dureza total en los tratamientos A (a) y B (b), entre TSS y dureza total en los tratamientos A (c) y B (d) y, entre TSS y clorofila *a* en los tratamientos A (e) y B (f).



Anexo 20: Relaciones entre bacterias totales en el sedimento y TAN en los tratamientos A (a) y B (b), entre pH y alcalinidad total en los tratamientos A (c) y B (d) y, entre dureza total y pH en los tratamientos A (e) y B (f).



Anexo 21: Relaciones entre clorofila *a* y pH en los tratamientos A (a) y B (b), entre TSS y pH en los tratamientos A (c) y B (d) y, entre bacterias totales en agua y clorofila *a* en los tratamientos A (e) y B (f).