



Como reducir las concentraciones de dinoflagelados de una manera sostenible.

Viviam Rugel, Carla Torres, Manuel Espinoza-Ortega,
Carlos Mora-Pinargote, Diva Aldama-Cano, Cesar Molina-Poveda.





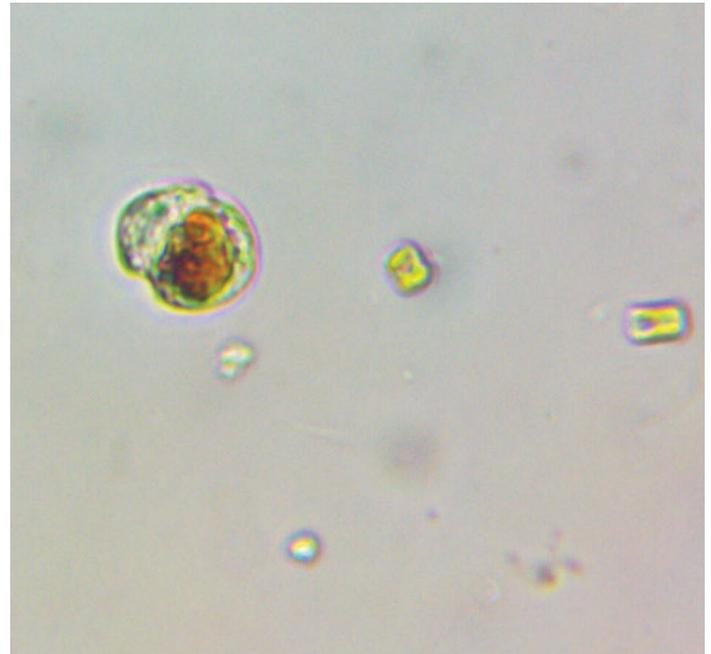
1. Introducción

En la industria acuícola, el camarón *Litopenaeus vannamei* es una de las especies de mayor cultivo a escala global. Debido a la naturaleza del ambiente en el que se desarrolla y sus condiciones particulares se enfrenta a varias limitantes, entre las que destacan la necesidad de llevar a cabo seguimientos sanitarios rigurosos para asegurar la calidad del agua como factor principal. Esto ha generado que los productores desarrollen en finca de manera práctica y empírica (en base a prueba y error), protocolos de manejo tales como desinfección, floculación y biorremediación en la columna de agua que los ayuden a controlar dichos parámetros sanitarios.

Hay que tomar en cuenta, sin embargo, que las condiciones del medio ambiente y de cultivo cambian de manera estacional en relación con los meses del año, localización geográfica y la resistencia del camarón en relación con línea genética, entre otros factores. Dentro de los problemas de calidad de agua a los que nos enfrentamos, además de factores bióticos tales como las fluctuaciones de poblaciones bacterianas y presencia de patógenos importantes tales como virus, contamos también con el exceso de concentraciones de microalgas tóxicas en sistemas de cultivo de camarón.

En cultivos semi-intensivos existe una fuerte correlación entre la calidad y diversidad del fitoplancton en relación con el desarrollo del camarón (Dall et al., 1990; Llario et al., 2019). Los beneficios que estas especies aportan llevan a las camaroneras a la utilización de fertilizantes con el fin de promover el crecimiento de ciertas especies caracterizadas como benéficas o deseables en un sistema de cultivo. En ocasiones una adición desmedida de los fertilizantes promueve el desarrollo de especies poco deseables, tales como los dinoflagelados, causando los llamados “blooms” de microalgas que ponen en riesgo la producción de la piscina camaronera (Alonso-Rodríguez y Páez-Osuna, 2003).

Los dinoflagelados son protistas con flagelos pertenecientes al grupo de fitoplancton, su nombre proviene del griego “**dinos**” que significa girar y del latín “**glagellum**” que a su vez significa látigo, de esta manera describe el movimiento rotatorio propio de estos organismos.



Los dinoflagelados junto con otro tipo de fitoplancton ingresan a través de la entrada del agua e inmediatamente al encontrarse con los nutrientes (nitrógeno y fósforo), y en las condiciones favorables, proliferan en abundancia (Towers, 2014).

En la mayoría de los casos las floraciones de dinoflagelados no presentan ningún daño para los camarones; como por ejemplo se ha reportado que la formación de mareas rojas compuestas por *Peridinium balechii* no afectan en porcentajes de supervivencia (Acevedo-González et al., 2010).

Por otro lado, ciertas proliferaciones han mostrado ser causantes de mortalidades y la disminución del crecimiento del camarón (Alonso-Rodríguez y Páez-Osuna, 2003; Keawtawee et al., 2012). Steidinger et al. (1998) reportaron en Florida mortalidades en poblaciones silvestres de camarones Penaeidos que fueron asociadas a la especie de dinoflagelados *Gymnodinium pulchellum*, los datos del monitoreo revelaron la presencia de altas concentraciones de esta especie en el agua, así como de fracciones de compuestos neurotóxicos producidos por estos microorganismos.



En **Ecuador** se ha reportado la presencia de dinoflagelados tóxicos como *Dynophysis caudata* y *G. catenatum* (Reyes et al., 2001) dentro de una marea roja originada por un dinoflagelado no tóxico (*Gyrodinium instriatum*).



El objetivo de este boletín es valorar la eficiencia de diferentes productos alternativos, no contaminantes, al sulfato de cobre para reducir concentración de dinoflagelados en los estanques de cultivo de camarón con salinidades de 20 - 25 ppt.

2. Materiales y métodos

Los ensayos fueron realizados en dos temporadas, verano e invierno. Las muestras de agua tomadas en piscinas camaroneras ubicadas en la provincia del Guayas con salinidades entre 20 - 25 ppt y temperaturas de 24 y 27 °C en promedio, fueron distribuidas en tinas de 120 litros.



Las concentraciones de dinoflagelados para este ensayo fueron determinadas de **forma cuantitativa**.

Para el conteo de dinoflagelados se recolectó la muestra de marea roja de una de las piscinas de la camaronera la cual se la colocó en diferentes recipientes de 20 l, se homogenizó y de cada tanque se tomó para el conteo inicial una muestra inicial de 500 ml + 1 gota de Lugol con el fin de fijar las células.

Posteriormente se colocó una gota de la muestra, se dejó reposar por aproximadamente 5 minutos y se realizó el conteo de los 4 cuadrantes externos de la cámara de Neubauer con un aumento de 10X. Luego se aplicó el producto a evaluarse y finalmente, con un tiempo de espera de aproximadamente 2 horas se realizó el mismo procedimiento para el conteo final.

Un conteo antes y después de 2 horas de la aplicación de los insumos fue realizado. Los insumos usados fueron: detergente Industrial (DI); cal viva tipo A (CaO-A) de pureza intermedia; peróxido de hidrógeno al 50% (H₂O₂); sulfato de cobre (CuSO₄); tierra de diatomeas (TD); cal viva tipo B (CaO-B) de alta pureza; y dióxido de silicio (SiO₂).

Un total de 3 ensayos fueron realizados con los diferentes insumos, por triplicado e incluyendo una muestra control sin adición de insumo (**Tabla 1**).

El primer ensayo fue realizado en invierno, a diferentes dosis y concentraciones de dinoflagelados (cel./ml) con condiciones de aireación. Los dos ensayos restantes fueron realizados en verano y sin aireación.



Tabla 1. Se presentan los tres ensayos consecutivos y las dosis de los insumos usados en cada prueba para la reducción de la carga de dinoflagelados.

Ensayo	DI (kg/ha)	CaO-A (kg/ha)	H ₂ O ₂ (l/ha)	CuSO ₄ (kg/ha)	TD (kg/ha)	CaO-B (kg/ha)	SiO ₂ (l/ha)
1	125	125	8	6	6	-	-
2	125	125	8	6	6	125	10
3	250	250	16	12	12	250	20

TD=tierra de diatomeas - DI=detergente industrial

Los ensayos detallados en la **Tabla 1** fueron realizados con diferentes concentraciones de dinoflagelados, el primero de ellos con 120 000 células/ml, el segundo con 84.000 células/ml y el ensayo final con 400.000 células/ml. De todas las pruebas realizadas, solamente el experimento 1 tuvo aireación debido a que se realizó en invierno y se simularon las condiciones de camaronera en esta época.

3. Resultados y discusión

3.1. Caso 1:

Ensayo llevado a cabo en invierno con aireación

Los resultados de la aplicación de los diferentes insumos sobre la concentración de dinoflagelado se detallan en la **Figura 2**.

En este ensayo, con una carga de 120 000 células/ml, el mayor porcentaje de reducción de dinoflagelados (100%) se consiguió usando 6 kg/ha sulfato de cobre (CuSO₄), mientras que el segundo tratamiento más efectivo fue el peróxido de hidrógeno (H₂O₂ a 8 l/ha), con un porcentaje de reducción del 85% (Figura 1). La cal viva CaO-A dosificada a razón de 125 kg/ha tuvo un menor efecto que los anteriores pero siguió siendo superior al detergente industrial y al uso de tierras de diatomeas como se observa en la **figura 2**. Al adicionar al agua detergente industrial (DI) equivalente a 1 kg/ha y en otro tanque tierra de diatomeas (TD) una dosis de 125 kg/ha se pudo cuantificar una reducción del 62% y 59%, respetivamente. El control que no fue tratado con nada, como se esperaba, tuvo una disminución natural del 17%.

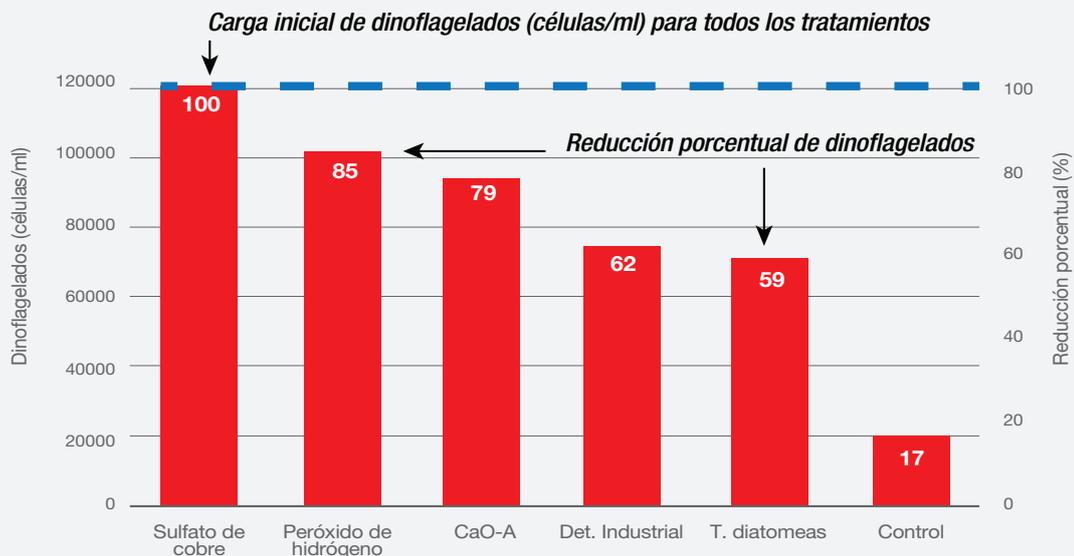


Figura 2. Concentración inicial (línea entrecortada), final (barras roja) y reducción porcentual de dinoflagelados (números dentro de las barras) por adición de diferentes insumos a distintas concentraciones.

3.2. Caso 2:

Ensayo llevado a cabo en verano sin aireación

En el segundo ensayo la carga inicial de dinoflagelados fue de 84.000 células/ml, que al término de 2 horas de la aplicación se observó una reducción >96% con óxido de calcio (CaO-B), peróxido de hidrógeno y sulfato de cobre (CuSO₄) dosificados a razón 125 kg, 8 l y 6 kg, respectivamente por el equivalente a una hectárea.

En contraste, el detergente industrial (DI) a 1 kg/ha, CaO-A (125 kg/ha), dióxido de silicio (SiO₂) a 10 kg/ha y tierra de diatomeas (TD) a 125 kg/ha tuvieron un pobre efecto sobre la población de dinoflagelados, llegando a un valor que, siendo mayor al control, no sobrepasó el 40% de reducción.

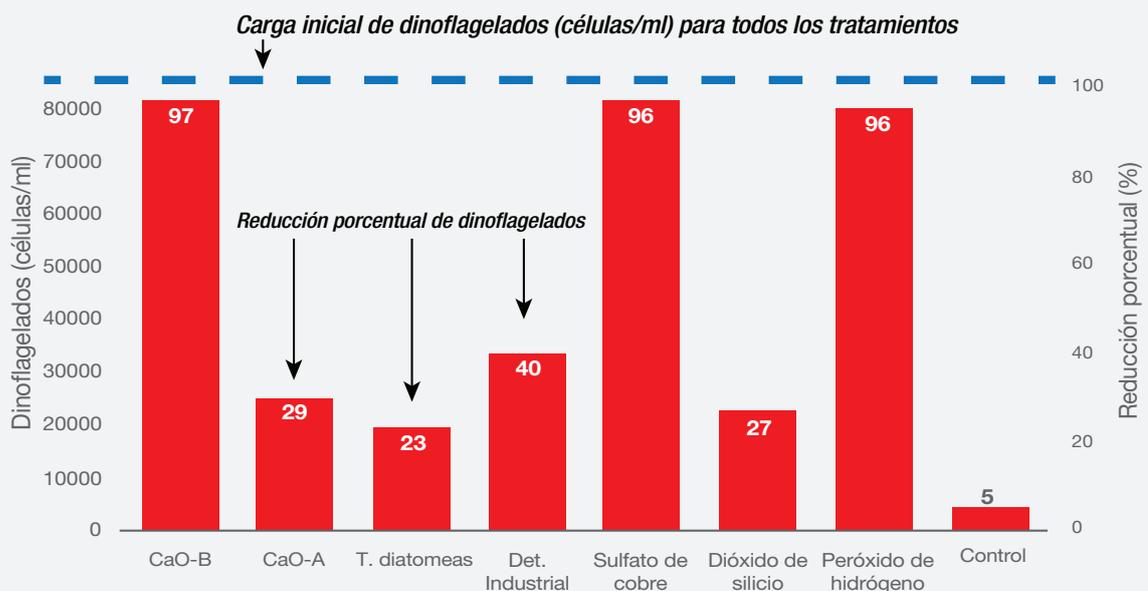


Figura 3. Concentración inicial (línea entrecortada), final (barras rojas) y reducción porcentual de dinoflagelados (números dentro de la barra) por dosificación de los diferentes productos a distintas concentraciones. Realizada en verano sin aireación con una concentración inicial de 84.000 cel./ml

3.3. Caso 3:

Ensayo llevado a cabo en verano sin aireación a doble dosis de los insumos

En tercer ensayo con 400.000 células/ml y adicionando el doble de cantidades de insumos, se logró reducir a 84.000 células/ml equivalente al 21% de la concentración inicial de dinoflagelados aplicando 250 kg/ha óxido de calcio (CaO-B), mientras que usando 12 kg/ha sulfato de cobre (CuSO₄) se redujo a 96 000 células/ml es decir sobrevivió un 24% de la población inicial de dinoflagelados.

Con el uso de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a razón de 16 l/ha se alcanzó una reducción de 52%. Adicionalmente 250 kg/ha cal viva (CaO-A) bajó la carga en un 48%, mientras que 2 kg/ha detergente industrial (DI) logró eliminar el 21%. Finalmente 20 kg/ha dióxido de silicio (SiO₂) redujo el 4% de dinoflagelados. En el recipiente control como era de esperarse hubo una reducción mínima del 1%.

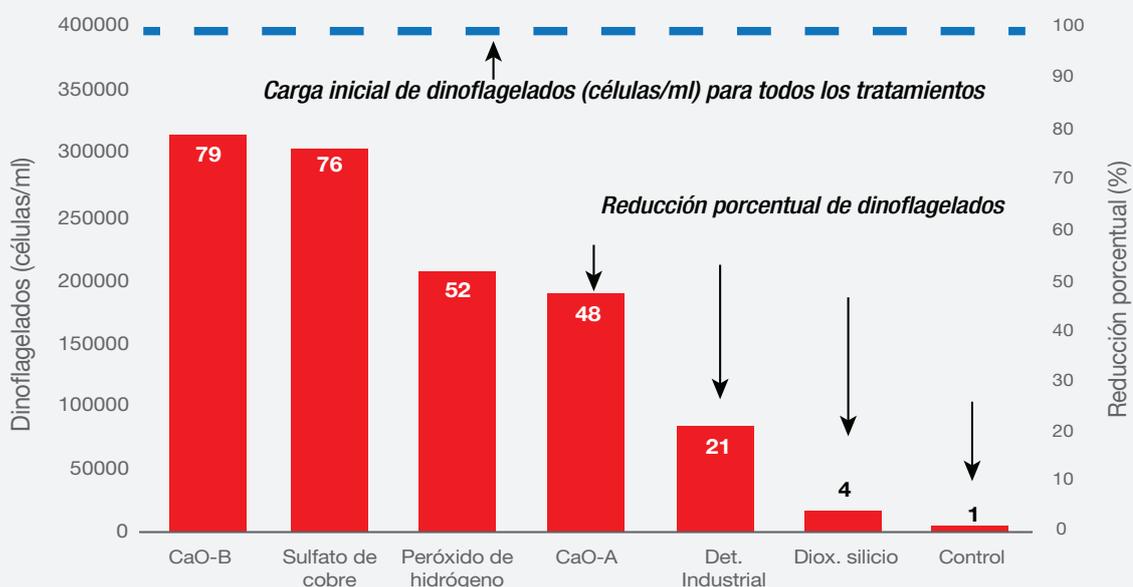


Figura 4. Concentración inicial (línea entrecortada), concentración final (barras rojas) y reducción porcentual (números dentro de las barras) de dinoflagelados por adición de diferentes productos a distintas concentraciones. (Conteo inicial de dinoflagelados: 400 000 cel./ml).

El camarón blanco *L. vannamei* requiere de seguimiento sanitario constante, principalmente aquellos referentes a la calidad del agua. Para ello muchas fincas han establecido en base a su propia experiencia protocolos prácticos de desinfección, floculación y biorremediación. Sin embargo, a medida que el cultivo avanza, las condiciones del medio acuícola cambian volviéndose más desafiantes, acentuándose los efectos según la temporada del año.



A pesar de haber tenido la mayor tasa de reducción de dinoflagelados, el uso excesivo y constante de sulfato de cobre (CuSO₄.5H₂O) tiene efectos negativos en el ecosistema. Al ser un alguicida provoca la reducción de otras especies deseables como las diatomeas, potencial daño a especies silvestres (Scotto, 2019) y al camarón dependiendo de los cambios que

genere en el pH de agua. Cuando hay pH bajo, se incrementa la solubilidad del cobre y por ende la concentración de este en el agua favorece a una alta toxicidad para el fitoplancton, pero con el riesgo de también afectar a los camarones que se encuentran en ese estanque. Yeh et al. (2004) han reportado que el sulfato de cobre disminuye el conteo total de hemocitos, la actividad de fenoloxidasas, la actividad fagocítica y la eficiencia de eliminación en *L. vannamei* volviéndolo susceptible al *Vibrio alginoliticus*.

De los compuestos que han sido usados como alternativas al sulfato de cobre, el agua oxigenada (H₂O₂) constituye una alternativa promisoriosa cuya efectividad se basa en la producción de radicales que afectan las paredes celulares de los microorganismos por la oxidación de las proteínas, lípidos y DNA (Fan et al., 2013). El óxido de calcio también ha sido usado como herramienta para controlar el fitoplancton ya que al ponerse en contacto con el agua de la piscina en lugar de disolverse como se esperaría reacciona para formar hidróxido de calcio, y el hidróxido de calcio formado es el que se disocia en calcio y dos iones de hidroxilo (OH⁻), los cuales tienen un efecto inmediato en la calidad del agua al aumentar el pH, reducir el fósforo soluble y el dióxido de carbono, limitando la fotosíntesis del fitoplancton. A su vez, el aumento del pH causa la precipitación de las partículas suspendidas y del fitoplancton lo que baja su concentración en el agua.

En la **tabla 2** se presenta la comparación costo beneficio con relación a los precios del insumo vs la reducción de cantidad de dinoflagelados.

Tabla 2. Comparación costo beneficio con relación a los precios del insumo vs el promedio de reducción de cantidad de dinoflagelados.

Reducción (%) de dinoflagelados	Producto	Cantidad /ha	Precio producto	Costo/ha
100	Sulfato de cobre	125 kg/ha	\$ 4,80/kg	\$ 600
96,43	Sulfato de cobre	125 kg/ha	\$ 4,80/kg	\$ 600
75,83	Sulfato de cobre	250 kg/ha	\$ 4,80/kg	\$ 1.200
84,50	Peróxido de hidrógeno	8 l/ha	\$ 1,40/l	\$ 11
96,13	Peróxido de hidrógeno	8 l/ha	\$ 1,40/l	\$ 11
51,67	Peróxido de hidrógeno	16 l/ha	\$ 1,40/l	\$ 77
97,02	Óxido de calcio (CaO-B)	125 kg/ha	\$ 0,21/kg	\$ 26
78,68	Óxido de calcio (CaO-B)	250 kg/ha	\$ 0,21/kg	\$ 53

Las reducciones de dinoflagelados no son necesariamente proporcionales a las dosis de los insumos usados (**Tabla 2**). Una de las principales razones de este hecho es la carga inicial de dinoflagelados, que es distinta para cada caso de estudio. En los dos primeros estudios la carga inicial es de aproximadamente 102.000 células/ml mientras que en el estudio 3 esta carga se cuadruplica (400.000 células/ml).

Otras variables que también influyeron para que las disminuciones no sean proporcionales a la concentración del insumo fueron las distintas condiciones ambientales entre los casos de estudio, por ejemplo, la temperatura y la aireación que varió entre invierno y verano.

Tabla 3. Promedio ponderado de la reducción de dinoflagelados (%) en los tres casos de estudio.

Caso de estudio	Promedio ponderado (%)*
1	99,72
2	96,44
3	74,54

Producto	Promedio ponderado (%)*
Sulfato de cobre	87,01
Peróxido de hidrógeno	60,02
Óxido de calcio B	85,71

*Medía ponderada tomando los precios como “pesos” para el cálculo.

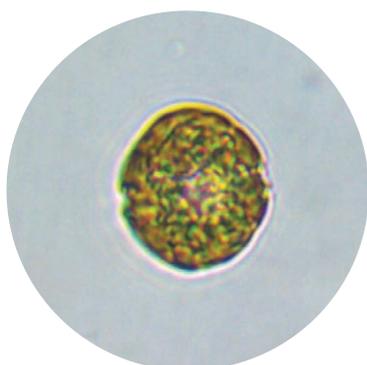
Para una carga de dinoflagelados en un rango de 84.000-120.000 células/ml (Casos 1 y 2) un resultado muy similar de reducción fue encontrado (96-100%) aplicando las dosis indicadas en la **Tabla 2**. Sin embargo, cuando la carga subió a 400.000 células/ml, el porcentaje de reducción de dinoflagelados disminuyó considerablemente (**Tabla 3**), esto se explica porque la carga de células aumentó 4 veces pasando de 102.000 hasta 400.000 células/ml, mientras que la dosis se incrementó solamente al doble.

Los resultados indican que a medida que se incrementa la carga de dinoflagelados, el porcentaje de efectividad de los insumos se ve reducido.



Al ponderar los promedios de los tres casos de estudios para los tres insumos evaluados se confirma que los dos tratamientos que demuestran mayor eficiencia para reducir la población de dinoflagelados son el sulfato de cobre y óxido de calcio B (**Tabla 3**). Los costos por hectárea del sulfato de cobre son los más altos (**Tabla 2**) en todos los casos estudiados. Aunque este compuesto mostró una considerable eficiencia en el rango de 84.000-120.000 células/ml, su utilización es una solución no idónea y poco sostenible, lo cual constituye una limitante mayor, además su costo no justifica la aplicación a la dosis estudiada.

El uso de peróxido de hidrógeno en concentración de 84.000 células/ml parece ser una buena alternativa, sin embargo, si la carga se incrementa a 120.000 células/ml, no existe una reducción considerable de dinoflagelados. Si la carga es aún mayor (400.000 células /ml), la eficiencia de este insumo se reduce todavía más.

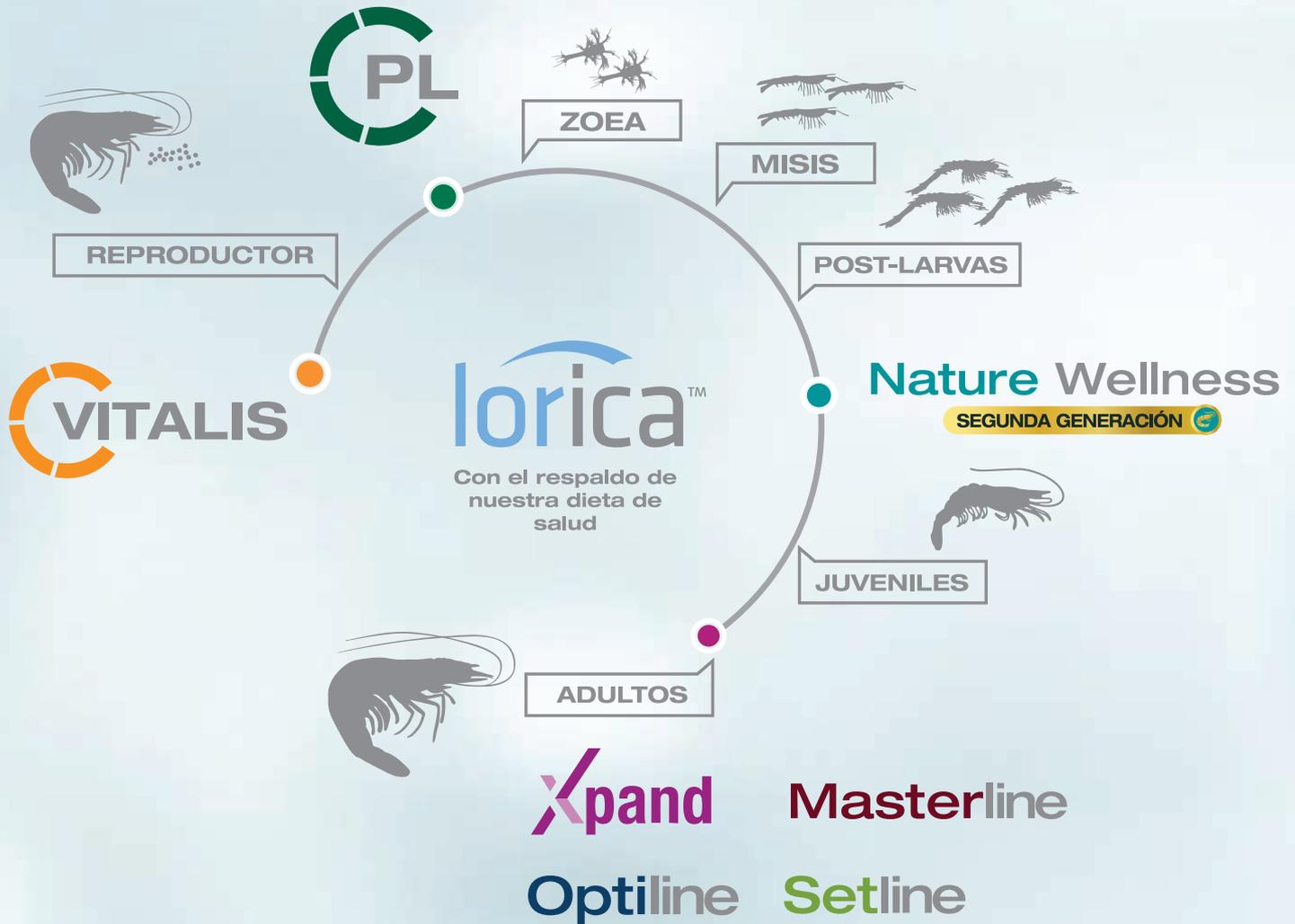


Bajo las condiciones en las cuales se desarrolló este estudio, el óxido de calcio B mostró ser la alternativa más eficiente con relación a costos, debido a que se demostró una mayor reducción en los conteos de esta especie incluyendo en escenarios con alta carga de dinoflagelados (400.000 células/ml), por lo que esta opción es una de las que se consideran ambientalmente más amigables y sostenibles.

Bibliografías

- Fan, J., Ho, L., Hobson, P., & Brookes, J. (2013). Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.057>
- Keawtawee, T., Fukami, K., & Songsangjinda, P. (2012). Nutrient , phytoplankton and harmful algal blooms in the shrimp culture ponds in Thailand, 129–136.
- Acevedo-González, A., Siqueiros-Beltrones, D.A., Gárate-Lizárraga, I., 2010. Dinoflagellates in shrimp culture ponds under typical production conditions. *CICIMAR Oceanides* 25, 83–88. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v25i1.83>
- Alonso-Rodríguez, R., Páez-Osuna, F., 2003. Nutrients, phytoplankton, and harmful algal blooms in shrimp ponds: A review with special reference to the situation in the Gulf of California. *Aquaculture* 219, 317–336. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00509-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00509-4)
- Dall, W. H. B. J., Hill, J., Rothlisberg, P. C., Sharples, D. J., Blaxter, J. H., & Southward, A. J. (1990). *Advances in marine biology*. Academic press
- Keawtawee, T., Fukami, K., Songsangjinda, P., Muangyao, P., 2012. Nutrient, phytoplankton, and harmful algal blooms in the shrimp culture ponds in Thailand. *Kuroshio Science* 5, 129–136.
- Llario, F., Rodilla, M., Escrivá, J., Falco, S., Sebastiá-Frasquet, M.T., 2019. Phytoplankton evolution during the creation of a biofloc system for shrimp culture. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16, 211–222. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-1655-5>
- Reyes, E., Krauss, E., Barniol, R., Espin, M., Intriago, P., 2001. *Gymnodinium catenatum*, Microalga Tóxica aislada en la costa ecuatoriana y sus efectos sobre larvas de *Litopenaeus vannamei* 2–3. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2592.0405>
- Scotto, C., 2019. *Ciencia y Desarrollo*. 22, 49–57.
- Steidinger, K.A., Landsberg, J.H., Truby, E.W., Roberts, B.S., 1998. First report of *Gymnodinium Pulchellum* (Dinophyceae) In North America and associated fish kills in the indian river, Florida. 437, 431–437.
- Towers, L., 2014. Harmful Effects on Toxin Harmful Effects on Toxin Dinoflagellates in Shrimp Culture Ponds. thefishsite.com.
- Yeh, S.-T., Liu, Ch.-H., Chen, J.-Ch. 2004. Effect of copper sulfate on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 17: 437-446

SOLUCIONES NUTRICIONALES PARA CADA ETAPA DE CULTIVO DEL CAMARÓN



OUR PURPOSE

Feeding the Future

SKRETTING
a Nutreco company

- **Ventas:** andrea.marin@skretting.com / 0981523250 - juan.ayala@skretting.com / 0999524696
- **Servicio Técnico:** marita.monserrate@skretting.com / 0980364317 - maximo.quispe@skretting.com / 0967639666