



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto de un consorcio microbiano sobre la concentración de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras.**

**SAAVEDRA JUMBO JUAN CARLOS  
INGENIERO ACUICOLA**

**ROMERO OROZCO GABRIELA DENNISSE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto de un consorcio microbiano sobre la concentración de  
nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas  
camaroneras.**

**SAAVEDRA JUMBO JUAN CARLOS  
INGENIERO ACUICOLA**

**ROMERO OROZCO GABRIELA DENNISSE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Efecto de un consorcio microbiano sobre la concentración de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras.**

**SAAVEDRA JUMBO JUAN CARLOS  
INGENIERO ACUICOLA**

**ROMERO OROZCO GABRIELA DENNISSE  
INGENIERA ACUICOLA**

**VELASQUEZ LOPEZ PATRICIO COLON**

**MACHALA  
2023**

# Tesis Gabriela Romero y Juan Saavedra

*por* Juan Saavedra

---

**Fecha de entrega:** 02-oct-2023 10:58p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2184079403

**Nombre del archivo:** TRABAJO\_DE\_TITULACION\_PARA\_TURNITIN.docx (341.27K)

**Total de palabras:** 11976

**Total de caracteres:** 61873

# Tesis Gabriela Romero y Juan Saavedra

## INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1 Submitted to Universidad Técnica de Machala 1%  
Trabajo del estudiante

2 repositorio.utn.edu.ec 1%  
Fuente de Internet

3 OPCIONES SOSTENIBLES S.A.C.. "EIA-SD para <1%  
Ampliación y Mejora Tecnológica de los  
Campos Cerro Negro y Ventarrón con un  
Área Total Acumulada de 348 ha para el  
Desarrollo Completo e Integral del Ciclo  
Productivo de Langostino Blanco Incluyendo  
la Producción de Larvas, en el Distrito de  
Zarumilla, Tumbes-IGA0007702", R.D. N° 166-  
2018-PRODUCE/DGAAMPA, 2020  
Publicación

4 www.sabiia.cnptia.embrapa.br <1%  
Fuente de Internet

5 nbn-resolving.de <1%  
Fuente de Internet

6 www.nicovita.com.pe <1%  
Fuente de Internet

|    |   |      |
|----|---|------|
| 7  | <a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a><br>Fuente de Internet  | <1 % |
| 8  | Juan Manuel Carricondo Antón. "Utilización de residuos vegetales para la eliminación de fósforo en aguas residuales mediante procesos de adsorción", Universitat Politecnica de Valencia, 2020<br>Publicación | <1 % |
| 9  | <a href="http://repository.ub.ac.id">repository.ub.ac.id</a><br>Fuente de Internet  | <1 % |
| 10 | <a href="http://qdoc.tips">qdoc.tips</a><br>Fuente de Internet  | <1 % |
| 11 | <a href="http://repositorio.upeu.edu.pe">repositorio.upeu.edu.pe</a><br>Fuente de Internet  | <1 % |
| 12 | <a href="http://jurnal.fkmumi.ac.id">jurnal.fkmumi.ac.id</a><br>Fuente de Internet  | <1 % |

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, SAAVEDRA JUMBO JUAN CARLOS y ROMERO OROZCO GABRIELA DENNISSE, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Efecto de un consorcio microbiano sobre la concentración de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

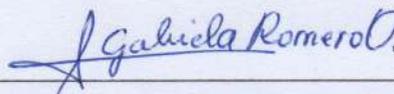
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



SAAVEDRA JUMBO JUAN CARLOS

1105334633



ROMERO OROZCO GABRIELA DENNISSE

0707030565

## AGRADECIMIENTOS

Quiero iniciar expresando mi agradecimiento a Dios por ser mi guía en este largo trayecto de mi formación académica, brindándome sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

A mis padres Walter Romero y Lucia Orozco por ser ese pilar fundamental en mi vida y haberme siempre apoyado de manera incondicional en todas mis etapas.

Agradezco a nuestro tutor de tesis Dr. Patricio Colón Velázquez, quien, quien nos brindó orientación constante y nos motivó en nuestra investigación gracias a su vasto conocimiento y experiencia. También, quiero agradecer al Ing. Eudaldo Jadán por su valiosa colaboración, la cual fue fundamental para el éxito de nuestro trabajo experimental.

También agradezco a todos los profesores de la Universidad Técnica de Machala, quienes, con su sabiduría, experiencia y apoyo constante, fueron una fuente de motivación para mi desarrollo como futuro profesional.

¡¡Muchas Gracias!!

*Gabriela Dennisse Romero Orozco*

Primeramente, agradezco al rey todo poderoso, a Dios por darme la vida, la salud y sobre todo la sabiduría para poder llegar a culminar una de las etapas más importantes en mi vida, en convertirme un profesional.

Agradezco a las personas que son lo más preciado en mi vida, a mi padre Juan Carlos Saavedra Novillo y a mi madre Mayra Rosalía Jumbo Oviedo por aportarme siempre ese apoyo fraterno y ser mi pilar fundamental en el transcurso de toda mi vida ya que también ellos son parte de este largo trayecto que transcurrí para poder culminar esta etapa.

De la misma manera agradezco a mi tutor de tesis al Dr. Patricio Colón Velázquez López por ser el guía en ese trabajo de investigación, quien supo darnos una orientación eficaz para culminar con éxito dicho trabajo. Igualmente agradezco al Ingeniero Agrónomo Eudaldo Fales Jadán Veriñas por ser quien nos ayudó con su aporte y espacio para desarrollar la parte experimental de este trabajo y, más aún por brindarnos su valiosa amistad en todos los momentos compartidos.

Por último, agradezco a todos los profesores de la UTMACH quienes supieron aportarme su conocimiento profesional y ser quienes nos dieron la mejor de las motivaciones para seguir adelante. De la misma manera agradezco a mi amiga, compañera de carrera y tesis, y más que eso mi enamorada Gabriela Dennisse Romero Orozco por ser esa persona que a pesar de las derrotas, ha estado junto a mi lado siempre.

¡¡Muchas Gracias!!

*Juan Carlos Saavedra Jumbo*

## DEDICATORIA

Este presente trabajo de titulación lo dedico primero a Dios por acompañarme en este arduo caminar bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer. A mis padres quienes con mucho esfuerzo y sacrificio supieron brindarme todo su apoyo incondicional en todo momento tanto económico como moral, permitiéndome llegar a culminar mi carrera profesional.

A mi amigo, compañero y novio Juan Saavedra ha estado a mi lado en todo momento, ofreciéndome su apoyo inquebrantable.

A mis familiares y amigos que de una u otra manera creyeron en mí y me brindaron su apoyo.

*Gabriela Dennisse Romero Orozco*

Este trabajo de titulación que refleja toda mi vida universitaria, se lo dedico a Dios por que gracias a él sé que voy a cumplir esta meta que me propuse desde un inicio. De la misma manera a mis padres, a mi hermana, a mis abuelos que siempre me apoyaron y lo más importante que me supieron dar todo ese aliento y esfuerzo para lograr mis metas.

De igual manera le dedico este trabajo a mi enamorada y compañera de tesis ya que juntos luchamos con mucho esfuerzo para culminar con éxito nuestro trabajo de titulación. También a mis amigos de toda la vida y a los amigos que la carrera universitaria me supo brindar.

*Juan Carlos Saavedra Jumbo*

## RESUMEN

El amonio es el principal compuesto nitrogenado presente en los estanques acuícolas generado por el alimento y la excreción de los animales. En determinadas condiciones, el amonio puede resultar tóxico para los camarones. Varias granjas camaroneras capturan agua rica en nutrientes, incluidos fosfatos. Para reducir la cantidad de amonio y fosfatos, los camaroneros utilizan la técnica de biorremediación basada al uso de productos microbianos.

Se implementó un trabajo de investigación para evaluar el efecto de un consorcio microbiano autóctono sobre la concentración de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras. El consorcio microbiano se preparó con subproductos locales como residuos vegetales, melaza y leche bovina. Los microorganismos se aplicaron en un intervalo de 2 horas hasta completar 4 horas. El estudio analizó la concentración de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos.

Los resultados obtenidos indicaron que la biodegradación fue negativa al aplicar microorganismos benéficos en agua esterilizada con aireación más adición química de nitrógeno y fósforo. En cambio, al aplicar una concentración de microorganismos benéficos en agua procedente de un sistema de cultivo extensivo, la biodegradación fue del 60,36% para el amonio y del 100% para los fosfatos a las 4 horas. Así mismo, al aplicar microorganismos benéficos en agua provenientes de un sistema de cultivo semi-intensivo mantenida con aireación y camarones, la biodegradación fue del 87,33% sólo para los fosfatos. En el mismo experimento al volver a aplicar los microorganismos benéficos, la biodegradación fue del 98,9% para el amonio y del 96,75% para los fosfatos a las 4 horas.

Finalmente, en agua de laboratorio mantenida con aireación y post-larvas, luego de 2 horas de aplicación de microorganismos benéficos las concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos disminuyeron, pero la concentración de estos parámetros aumentó a las 4 horas. Por esta razón, se concluye que la aplicación de consorcio microbiano autóctono en aguas de cultivo de camarón contribuyó significativamente al flujo de compuestos nitrogenados y fosfatos, favoreciendo su conversión a compuestos más simples y menos tóxicos en cortos períodos de tiempo.

**Palabras clave:** consorcio microbiano, biodegradación, amonio, nitritos, nitratos y fosfatos.

## ABSTRACT

Ammonium is the main nitrogenous compound present in aquaculture ponds generated by feed and animal excretion. Under certain conditions ammonium can be toxic for shrimp. Several shrimp farms capture rich nutrients water, including phosphates. To reduce the amount of ammonium and phosphates, the shrimp farmers use the bioremediation technique which contains several microbial products.

This research was implemented to evaluate the effect of an autochthonous microbial consortium on the concentration of nitrogen and inorganic phosphorus in the water. The microbial consortium was prepared with local subproducts such as plant waste, molasses, and bovine milk. The microorganisms were applied in an interval of 2 hours until completing 4 hours. The study analyzed the concentration of ammonium, nitrites, nitrates, and phosphates.

The results indicated that the biodegradation was negative when applying beneficial microorganisms in sterilized water with aeration plus chemical addition of nitrogen and phosphorous. On the other hand, when applying a concentration of beneficial microorganisms in water from an extensive culture system, the biodegradation was 60,36% for ammonium and 100% for phosphates at 4 hours. Likewise, when applying the beneficial microorganisms in water from semi-intensive culture system maintained with aeration and shrimp, the biodegradation was 87,33% only for phosphates. In the same experiment when re-applying the beneficial microorganisms, the biodegradation was 98,9% for ammonium and 96,75% for phosphates at 4 hours.

Finally, in water from laboratory maintained with aeration and post-larvae, after 2 hours of applying beneficial microorganisms the concentrations of ammonium, nitrites, nitrates and phosphates decreased, but the concentration of these parameters increased at 4 hours. For this reason, it is concluded that the application of autochthonous microbial consortium in shrimp culture water significantly contributed to the flux nitrogenous compounds and phosphates, favoring their conversion to simpler and less toxic compounds in short periods of time.

**Keywords:** microbial consortium, biodegradation, ammonium, nitrites, nitrates and phosphates.

## CONTENIDO

|   |     |
|---|-----|
| <b>AGRADECIMIENTOS</b> .....                                    | i   |
| <b>DEDICATORIA</b> .....  | iii |
| <b>RESUMEN</b> .....  | iv  |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | v   |
| <b>CAPÍTULO I</b> .....   | 1   |
| <b>1.1 INTRODUCCIÓN</b> .....                                   | 1   |
| <b>1.2 PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....               | 3   |
| <b>1.3 JUSTIFICACIÓN</b> .....                                  | 4   |
| <b>1.4 OBJETIVOS</b> .....                                      | 5   |
| 1.4.1 Objetivo general.....                                     | 5   |
| 1.4.2 Objetivos específicos.....                                | 5   |
| 1.4.3 Hipótesis.....  | 5   |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....  | 6   |
| <b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....                          | 6   |
| 2.1 Calidad de agua en la producción acuícola.....              | 6   |
| 2.2 Parámetros de la calidad de agua en cultivo de camarón..... | 6   |
| 2.3 Disponibilidad de nutrientes en estanques acuícolas.....    | 7   |
| 2.3.1 Fertilización en estanques acuícolas.....                 | 7   |
| 2.3.1.1 Tasa nitrógeno a fósforo.....                           | 7   |
| 2.3.2 Disponibilidad de nitrógeno.....                          | 8   |
| 2.3.2.1 Alimentación en el cultivo de camarón.....              | 8   |
| 2.3.2.2 Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas.....         | 9   |
| 2.3.2.2.1 Nitrificación.....                                    | 10  |
| 2.3.2.2.2 Desnitrificación.....                                 | 10  |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.3 Disponibilidad de fósforo.....  | 10 |
| 2.3.3.1 Ciclo del fósforo en estanques acuícolas .....                              | 11 |
| 2.4 Compuestos nitrogenados que afectan a la calidad de agua .....                  | 12 |
| 2.4.1 Nitrógeno amoniacal total (TAN) .....   | 12 |
| 2.4.2 Nitritos (NO <sub>2</sub> ).....  | 12 |
| 2.4.3 Nitratos (NO <sub>3</sub> ).....  | 13 |
| 2.5 Efectos del amoniaco en camarones .....   | 13 |
| 2.5.1 Incidencia del amoniaco en el cultivo de camarón.....                         | 14 |
| 2.6 Efectos e incidencia de fosfatos en el cultivo de camarón .....                 | 14 |
| 2.7 Formas de remoción del amoniaco y fosfatos del agua en estanques acuícolas..... | 15 |
| 2.7.1 Biorremediación en acuicultura.....   | 16 |
| 2.7.1.1 Uso de la biorremediación en estanques acuícolas .....                      | 16 |
| 2.7.1.1.1 Rol de los microorganismos utilizados en la biorremediación.....          | 17 |
| 2.7.1.1.1.1 Bacillus.....   | 17 |
| 2.7.1.1.1.2 Levaduras.....  | 18 |
| 2.7.1.1.1.3 Enzimas.....  | 18 |
| <b>CAPÍTULO III</b> .....   | 19 |
| <b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....  | 19 |
| 3.1 Materiales.....   | 19 |
| 3.1.1 Materiales de campo.....  | 19 |
| 3.1.2 Materiales de laboratorio.....  | 19 |
| 3.1.3 Equipos.....  | 19 |
| 3.1.4 Sustancias, reactivos e insumos.....  | 20 |
| 3.1.5 Materiales de oficina.. ..  | 20 |
| 3.2 Metodología.....  | 20 |

|  |    |
|--|----|
| 3.2.1 Sitios de estudio .....  | 20 |
| 3.2.2 Propagación y análisis microbiológico del crecimiento del cultivo microbiano.....  | 21 |
| 3.2.2.1 Control del crecimiento microbiano .....   | 22 |
| 3.2.3 Diseño experimental.....   | 22 |
| 3.2.4 Variables a medir.....   | 24 |
| 3.2.5 Descripción de los tratamientos .....  | 25 |
| 3.2.6 Prueba de desafío de los tratamientos sobre las variables en estudio .....   | 26 |
| 3.2.6.1 Experimentos con agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal.....  | 26 |
| 3.2.6.2 Experimento con agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón .....  | 27 |
| 3.2.6.3 Experimentos con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos .....   | 27 |
| 3.2.6.4 Experimento con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón .....   | 28 |
| 3.2.7 Cálculo de la eficiencia de biodegradación sobre las variables .....   | 28 |
| <b>CAPÍTULO IV</b> .....   | 29 |
| <b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....   | 29 |
| <b>4.1 Resultados</b> .....  | 29 |
| 4.1.1 Crecimiento exponencial de microorganismos benéficos.....  | 29 |
| 4.1.2 Variación de pH del cultivo microbiano .....   | 30 |
| 4.1.3 Análisis de la eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre las concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos.....   | 31 |
| 4.1.3.1 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de NH <sub>4</sub> y PO <sub>4</sub> en agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal..... | 31 |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.1.3.2 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de $\text{NH}_4$ y $\text{PO}_4$ en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón.....  | 32        |
| 4.1.3.3 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de $\text{NH}_4$ y $\text{PO}_4$ con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos .....      | 34        |
| 4.1.3.4 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de $\text{NH}_4$ , $\text{NO}_2$ , $\text{NO}_3$ y $\text{PO}_4$ con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón ..... | 37        |
| <b>4.2 Discusiones.....</b>   | <b>39</b> |
| 4.2.1 Crecimiento de microorganismos benéficos y sus beneficios en acuicultura .....  | 39        |
| 4.2.2 Acción de los microorganismos benéficos ante la ausencia de materia orgánica .....  | 39        |
| 4.2.3 Acción de los microorganismos benéficos en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón.....   | 40        |
| 4.2.4 Eficiencia de biodegradación de $\text{NH}_4$ y $\text{PO}_4$ en agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo.....  | 41        |
| 4.2.5 Eficiencia de la acción de los microorganismos benéficos sobre las concentraciones de amonio ( $\text{NH}_4$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4$ ).....  | 41        |
| 4.2.6 Eficiencia de la conversión de nitrógeno inorgánico en el agua .....  | 42        |
| <b>CAPÍTULO V.....</b>  | <b>44</b> |
| <b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>  | <b>44</b> |
| <b>5.1 Conclusiones.....</b>  | <b>44</b> |
| <b>5.2 Recomendaciones.....</b>   | <b>46</b> |
| <b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>  | <b>47</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>  | <b>56</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Destino del alimento en el camarón. ....   | 9  |
| <b>Figura 2.</b> Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas. ....   | 9  |
| <b>Figura 3.</b> Procesos de nitrificación y desnitrificación en el ciclo del nitrógeno. ....   | 10 |
| <b>Figura 4.</b> Ciclo del fósforo en estanques acuícolas. ....   | 11 |
| <b>Figura 5.</b> Reacción del amonio total “suma del amonio no ionizado o amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y el amonio ionizado ( $\text{NH}_4$ )”. ....  | 12 |
| <b>Figura 6.</b> Toxicidad del amonio frente al pH del agua: El amonio se presenta ionizado a pH bajos sin causar toxicidad en el agua, mientras que a pH altos mayores a 8,5 se presenta en su forma tóxica el amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) .... | 14 |
| <b>Figura 7.</b> Principios de eutrofización en piscinas camaroneras. ....  | 15 |
| <b>Figura 8.</b> Acción del <i>Bacillus</i> sp. en la mejora de la calidad de agua. ....  | 17 |
| <b>Figura 9.</b> Ubicación geográfica de los sitios de estudio. ....  | 21 |
| <b>Figura 10.</b> Croquis del diseño experimental. ....   | 23 |

## ÍNDICE DE GRAFICOS

|  |    |
|--|----|
| <b>Gráfico 1.</b> Curva de crecimiento exponencial de microorganismos benéficos autóctonos.  | 29 |
| <b>Gráfico 2.</b> Variación del pH del medio del cultivo microbiano.....   | 30 |
| <b>Gráfico 3.</b> Porcentajes de biodegradación de a) $\text{NH}_4$ y b) $\text{PO}_4$ en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón. ....  | 33 |
| <b>Gráfico 4.</b> Porcentaje de biodegradación de $\text{PO}_4$ con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el durante 7 días con aireación y camarones adultos. ....                                 | 35 |
| <b>Gráfico 5.</b> Porcentajes de biodegradación de a) $\text{NH}_4$ y b) $\text{PO}_4$ con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos. .... | 36 |
| <b>Gráfico 6.</b> Porcentajes de biodegradación de a) $\text{NH}_4$ , $\text{NO}_2$ , $\text{NO}_3$ y b) $\text{PO}_4$ con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón.....   | 38 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Parámetros en general de la calidad del agua para camarones y peces con sus valores estándar. ....  | 7  |
| <b>Tabla 2.</b> Valores admisibles de la calidad del agua acuícola para parámetros nitrogenados tóxicos en estanque de cultivo de camarón blanco. ....  | 13 |
| <b>Tabla 3.</b> Experimentos con sus variables a medir y técnica analítica utilizada. ....  | 24 |
| <b>Tabla 4.</b> Descripción de los tratamientos en cada experimento. ....   | 25 |
| <b>Tabla 5.</b> Tasa de crecimiento y decrecimiento microbiano en diferentes horas. ....  | 30 |
| <b>Tabla 6.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH en agua dulce esterilizada con aireación más 1 ml de N:P y 30 gramos de sal. ....  | 31 |
| <b>Tabla 7.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH en agua dulce esterilizada con aireación más 0,5 ml de N:P y 30 gramos de sal. ....  | 32 |
| <b>Tabla 8.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón. ....   | 32 |
| <b>Tabla 9.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 7 días con aireación y camarones adultos. ....   | 34 |
| <b>Tabla 10.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos. .... | 35 |
| <b>Tabla 11.</b> Concentraciones promedio y DS de $\text{NH}_4$ , $\text{NO}_2$ , $\text{NO}_3$ , $\text{PO}_4$ , $\text{O}_2$ y pH con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón. ....  | 37 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|  |    |
|--|----|
| <b>Anexo a.</b> Cultivo microbiano.....  | 56 |
| <b>Anexo b.</b> Siembra en placa.....  | 56 |
| <b>Anexo c.</b> Incubación de cajas Petri sembradas.....                                 | 56 |
| <b>Anexo d.</b> Conteo de colonias.....  | 56 |
| <b>Anexo e.</b> Muestra del cultivo microbiano.....                                      | 57 |
| <b>Anexo f.</b> Toma del pH del cultivo microbiano.....                                  | 57 |
| <b>Anexo g.</b> Productos químicos puros.....  | 57 |
| <b>Anexo h.</b> Kits colorimétricos.....   | 57 |
| <b>Anexo i.</b> Fotómetro con sus reactivos.....   | 57 |
| <b>Anexo j.</b> Experimento con agua dulce esterilizada y adición de N:P.....            | 58 |
| <b>Anexo k.</b> Estanque para la recolección de muestra de agua.....                     | 58 |
| <b>Anexo l.</b> Desarrollo del experimento.....  | 58 |
| <b>Anexo m.</b> Análisis de variables.....   | 58 |
| <b>Anexo n.</b> Agua de camaronera madurada en acuarios con aireación y camarones.....   | 59 |
| <b>Anexo o.</b> Montaje de UE.....   | 59 |
| <b>Anexo p.</b> Aplicación de las diferentes dosis.....                                  | 59 |
| <b>Anexo q.</b> Resultados después del tiempo de exposición.....                         | 59 |
| <b>Anexo r.</b> Agua de laboratorio madurada con aireación y post-larvas de camarón..... | 60 |
| <b>Anexo s.</b> Análisis de variables antes de aplicar las dosis de bacterias.....       | 60 |
| <b>Anexo t.</b> Análisis de variables después de aplicar las dosis de bacterias.....     | 60 |

# CAPÍTULO I

## 1.1 INTRODUCCIÓN

La producción de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Ecuador es una de las actividades más importantes dentro del ámbito acuícola, pues es uno de los países con mayor exportación de dicho crustáceo que existe actualmente a nivel mundial. De acuerdo con la revista de la Cámara Nacional de Acuicultura (2022) manifiesta que, en el periodo comprendido desde el mes de enero hasta diciembre del año 2021, la exportación de camarón aumento, según datos estadísticos, fueron exportadas un total de 1.855.634.851 libras, representando un valor de \$ 5.078.825.249 con un 34% más de diferencia que años anteriores.

La producción de camarón se realiza en diferentes sistemas de cultivo y es importante tener en cuenta que, las condiciones ambientales, deben ser las óptimas, de lo contrario producirán un efecto negativo en el cultivo. Para ello se debe controlar todo el proceso de cultivo, desde el adecuado suministro de alimento balanceado hasta los factores físico-químicos del agua para que en el momento menos esperado no exista algún detonante que pueda intervenir en los procesos a llevar durante el ciclo de cultivo del camarón (Gonzabay et al., 2021).

Como afirma Valencia et al., (2019), en el agua durante el desarrollo de un cultivo de camarón existen compuestos nitrogenados, siendo el amonio el más crítico, ya que mientras más se intensifique el cultivo, mayor cantidad de dichos compuestos se presentarán en el agua. El amonio posee rangos considerables, los cuales deben ser controlados y mantenerlos a un nivel más mínimo posible para evitar la toxicidad en los animales a causa del amonio.

Debe señalarse que, dentro de un estanque acuícola, el nitrógeno está presente como nitrógeno orgánico (fertilización y alimento balanceado) y también como nitrógeno inorgánico (nitratos, nitritos, amoniaco y amonio) que se le denomina “nitrógeno inorgánico disuelto” o “nitrógeno total inorgánico”. Todos esos productos forman parte del ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas (Egna & Boyd, 1997).

Según Boyd (2015) menciona que, el amonio en un estanque de cultivo se genera principalmente por la excreción de los camarones y por la descomposición de la materia orgánica compuesta por nitrógeno en presencia de oxígeno (aérobica) y sin oxígeno (anaeróbica) donde debe existir bacterias para lograr su descomposición. El amonio también

se genera mediante el suministro de alimento balanceado, aumenta la aglomeración de amonio total ( $\text{NH}_4$ ) y del amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) el cual es liberado al ambiente.

Sin embargo, se debe conocer cuáles son los niveles considerables de los compuestos nitrogenados que el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* puede llegar a tolerar; tanto el amonio ( $\text{NH}_4$ ) y amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) generan sustancias tóxicas presentes en el agua; por el cual se los debe siempre mantener en concentraciones menores a 0,5 mg/L (Valencia et al., 2018). Para sistemas de cultivo semi-intensivos e intensivos, concentraciones de 0,45 mg/L de  $\text{NH}_4$ , generan un 50% de disminución en el crecimiento de *L. vannamei* (Frías & Páez, 2001).

El fósforo también es de suma importancia y es considerado en calidad de agua, donde muchas de las veces no se realiza un análisis de agua para conocer la concentración de dicho nutriente y optar si usar o no una relación equilibrada de fósforo al momento de fertilizar el agua de los estanques de cultivo. Al igual que el amonio, este parámetro tiene un rango admisible, se lo debe mantener siempre a niveles menores de 0,5 mg/L (Saldías et al., 2002).

Es por ello que, actualmente existen productos biorremediadores que actúan de manera rápida y son usados con fines de emergencia o de prevención para mejorar la calidad del agua (Villamil & Martínez, 2009). Los productos biorremediadores están compuestos de microorganismos benéficos, especialmente *Bacillus* siendo los más competentes y que se caracterizan específicamente porque cumplen varias funciones, como por ejemplo degradan compuestos tóxicos presentes en el agua, materia orgánica del suelo, y demás metabolitos tóxicos para ayudar a la transformación del amonio y del nitrito (Edna et al., 2014).

Sin duda, todos esos productos biorremediadores se los puede encontrar de diferente estado, es decir, de manera solida en pastillas liofilizadas que tienen una acción instantánea y no necesitan activación para ser aplicados en el agua. Otra presentación solida es a manera de polvo que necesitan melaza para activar biológicamente los microorganismos que dicho producto contiene y también de manera líquida que son de aplicación directa. En fin, todos los productos tienen la finalidad de degradar esos compuestos tóxicos como el amonio, nitrito, nitratos, sulfuros e incluso fosfatos, que además tienen la capacidad de promover un ambiente adecuado al camarón sin alterar su metabolismo (Rodríguez et al., 2015).

## 1.2 PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN

Para la producción de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, el agua es uno de los principales recursos indispensables dentro de los diferentes sistemas de cultivo que se llevan a cabo en la actualidad, siendo así, el agua un factor relevante en dichos sistemas ya que debe tener una buena calidad para dar las condiciones necesarias al animal para que este pueda desarrollarse adecuadamente sin tener la presencia de alguna alteración en el medio.

Es cierto que, a medida que se intensifica el sistema, se introduce mayor cantidad de alimento balanceado debido a la alta biomasa existente, por el cual, se generan mayor cantidad de compuestos nitrogenados y desechos producto de la excreción de los animales dando como resultados compuestos tóxicos, siendo el amonio el más letal, llegando a causar la muerte por intoxicación a los camarones cuando se presenta en altas concentraciones.

Por otro lado, muchos efluentes donde las camaroneras captan el agua, tienen presencia excesiva de nutrientes como el fósforo que da origen a floraciones algales (eutrofización), donde especialmente prevalecen las cianofitas o cianobacterias. Estas microalgas producen toxinas y consumen gran cantidad de oxígeno disuelto produciendo un agotamiento del mismo siendo fatal para los camarones llegando a causarles la muerte.

De esta manera, ahora en la actualidad se comercializan productos biorremediadores que son de alto costo. Dichos productos contienen microorganismos benéficos, enzimas y levaduras que son muy utilizados porque aportan mejores condiciones al agua tratando de reducir o degradar los compuestos nitrogenados y fosfatos en donde también influye la falta de alternativas de biorremediación y toma de decisiones en optar por la adquisición de los productos debido a su alto costo.

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

La producción de camarón blanco en Ecuador es uno de los principales productos de exportación no petroleros después del banano. Para desarrollar la producción, se emplean diferentes sistemas de cultivo, a medida que más se intensifica el sistema con el propósito de obtener más cantidad de biomasa en un espacio determinado, también se debe llevar un control total por parte de los técnicos y obreros de campo cumpliendo diferentes protocolos para poder producir el mejor camarón a nivel mundial (Landivar, 2023).

Cabe considerar que, muchos acuicultores aun no tienen claro conocimiento de los diversos productos y alternativas de biorremediación porque resultan ser costosas, pero ayudan a controlar desechos y compuestos tóxicos que alteren la calidad de agua provocando efectos negativos en la producción del camarón. Sin embargo, la biorremediación es un conjunto de técnicas que implican el uso de productos elaborados a base de microorganismos que ayudan a degradar o reducir tanto compuestos nitrogenados y además fosfatos presentes en el agua, los cuales dichos microorganismos ayudan a brindar un ambiente adecuado para el crustáceo en lo que respecta a una buena calidad de agua (Fernández et al., 2023).

Por consiguiente, la presente investigación se realiza con la finalidad de buscar alternativas menos costosas para controlar las concentraciones de nitrógeno y fósforo inorgánico en el agua mediante la elaboración de un consorcio microbiano que ayude a degradar o controlar de una manera inmediata los compuestos tóxicos (amonio, nitrito, nitrato) e incluso fosfatos, para que puedan ser aplicados en sistemas intensivos donde no se realizan recambios de agua o donde este sea mínimo, ya que en dichos sistemas se tiene el mayor riesgo de tener la presencia elevada de dichos compuestos en cualquier momento durante el ciclo de cultivo.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de un consorcio microbiano sobre la concentración de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Determinar el porcentaje de biodegradación de amonio y fosfatos después de aplicar el consorcio microbiano en agua dulce esterilizada con adición química de nutrientes y en agua de piscinas camaroneras.
- Determinar el porcentaje de biodegradación de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos después de aplicar el consorcio microbiano en agua de laboratorio de post-larvas.
- Encontrar una dosis del consorcio microbiano para la efectiva degradación de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos en relación al tiempo.

### **1.4.3 Hipótesis**

Se busca determinar el efecto de un consorcio microbiano con el propósito de que, al transcurrir más tiempo después de aplicar una dosis, se espera que los microorganismos ayuden a degradar mayor cantidad de amonio para poder llevar a cabo la transformación de nitrógeno inorgánico y que de igual manera contribuyan a la degradación de fosfatos tanto en agua esterilizada como en piscinas camaroneras.

## CAPÍTULO II

### 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Calidad de agua en la producción acuícola

Según Egna y Boyd (1997) definen que, el término “calidad de agua” se utiliza para detallar a todas las características o a los parámetros físico-químicos y biológicos que se encuentran disueltos en el agua, los cuales deben medirse para conocer su desarrollo en sus propiedades naturales, ya que al combinarse forman una agrupación dando origen a la “calidad de agua” por ser atributos de aquella.

La calidad de agua en sistemas acuícolas juega un rol importante para desarrollar con éxito el cultivo de especies acuáticas debido a que, todos los parámetros que comprende la calidad de agua, de alguna manera llegan a influir en el desarrollo de dichas especies acuáticas. Como por ejemplo en camarones y peces cuando las concentraciones de oxígeno disuelto, temperatura, pH, amonio, nitrito, nitrato, entre otros, no son las adecuadas, se produce un estrés lo que luego puede presentarse el origen de enfermedades (Mayer, 2020).

#### 2.2 Parámetros de la calidad de agua en cultivo de camarón

Dentro de la calidad de agua existen parámetros que están implicados en la producción de camarón, entre ellos se tienen a dos grupos de mayor importancia, los parámetros físicos y los químicos los cuales se presentan en el agua siempre en diferentes concentraciones, lo que se denominan rangos (Carbajal et al., 2021).

Según Vinatea (2003) manifiesta que, para el cultivo de camarón blanco *L. vannamei*, los parámetros físico-químicos son indispensables, ya que, por medio de su lectura o concentración a la que se encuentren se puede conocer si están dentro de los rangos óptimos, y en caso de no estarlo, se puede corregir de manera rápida, ya que un buen manejo brinda excelentes condiciones al medio (Tabla 1).

**Tabla 1.** *Parámetros en general de la calidad del agua para camarones y peces con sus valores estándar.*

| <b>Parámetro</b>            | <b>Valores estándar</b>    |
|-----------------------------|----------------------------|
| Oxígeno disuelto            | >4 mg/L                    |
| Temperatura                 | Dependiendo de la especie  |
| pH                          | 7,5 a 8,5                  |
| Salinidad                   | Agua dulce: <0,5 ppm       |
|                             | Agua salobre: 0,5 a 30 ppm |
|                             | Agua salada: >30 ppm       |
| Amonio (NH <sub>4</sub> )   | 0 a 0,5 mg/L               |
| Nitritos (NO <sub>2</sub> ) | <0,1 mg/L                  |
| Nitratos (NO <sub>3</sub> ) | 0,4 a 0,8 mg/L             |
| Fosfatos (PO <sub>4</sub> ) | 0,28 a 0,5 mg/L            |
| Dureza                      | 40 a 400 mg/L              |
| Alcalinidad                 | 50 a 300 mg/L              |
| DBO                         | <50 mg/L                   |

**Fuente:** (Mayer, 2020).

## **2.3 Disponibilidad de nutrientes en estanques acuícolas**

### **2.3.1 Fertilización en estanques acuícolas**

El proceso de fertilización en estanques acuícolas se lo realiza con el fin de ayudar a obtener una buena presencia de algas las cuales mejoran la concentración de oxígeno en el agua de los estanques, pero, también el exceso de fertilización puede llegar a incrementar los costos de producción y, también pueden generar alteraciones en la calidad del agua formando un exceso de algas (Boyd et al., 2005).

#### **2.3.1.1 Tasa nitrógeno a fósforo**

El nitrógeno y el fósforo son dos componentes relevantes en el agua de los estanques acuícolas, ya que de ellos dependen significativamente la cantidad de fitoplancton o productividad primaria presente o que se logre alcanzar en el agua (Boyd, 2018). Bajas concentraciones de nitrógeno y fósforo producirán una baja tasa de productividad primaria, por ende, va a existir una baja concentración de oxígeno disuelto y poco alimento natural. Por otro lado, cuando se presenta altas cantidades de esos dos nutrientes, va a existir altas concentraciones de fitoplancton, generando alta concentración de oxígeno disuelto en el día,

pero en la noche lo consumirán en cuestión de minutos, para ello se recomienda tener una igualdad entre N:P (Boyd & Tucker, 1998).

Se debe tener conocimiento la cantidad de fertilizante a adicionar para tener un equilibrio entre nitrógeno y fósforo para obtener una tasa intermedia de fitoplancton ya que, la cantidad de N a P presente en el agua desempeña un predominio a las algas dominantes del estanque. Cuando la concentración de N:P es de  $< 5:1$  predominan dinoflagelados y flagelados; cuando la tasa alcanza  $15-20:1$  es adecuado para el crecimiento de diatomeas, pero cuando la cantidad de nitrógeno es más alta frente a la cantidad de fósforo, se induce al crecimiento de algas azul-verdosas (Cuellar, et al., 2010).

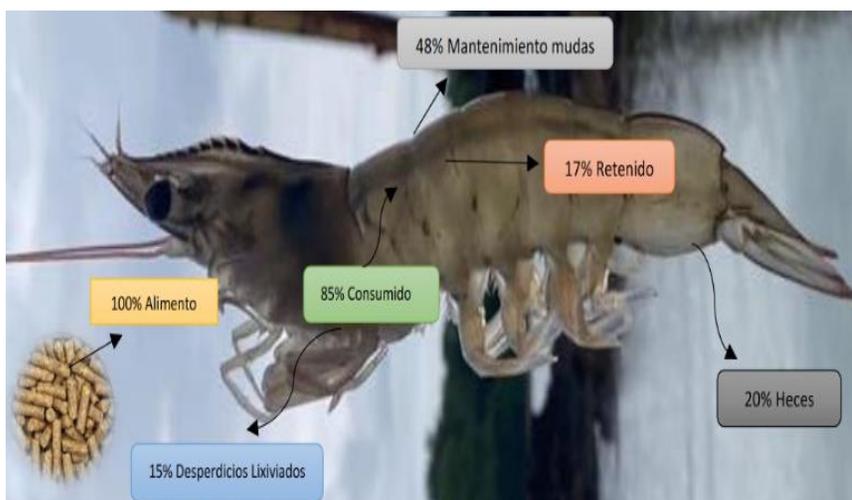
### **2.3.2 Disponibilidad de nitrógeno**

La presencia de nitrógeno en estanques acuícolas es indispensable para la productividad primaria, es un nutriente aprovechado por las células algales y por el fitoplancton que incorporan el nitrógeno en cualquiera de todas sus formas ( $\text{NH}_4^-$ -  $\text{NH}_3$ - $\text{NO}_2^-$ - $\text{NO}_3^-$ ) puesto a que dentro de un estanque la principal fuente de nitrógeno que ingresa es por medio del balanceado y de los fertilizantes (nitrógeno orgánico) y los productos de excreción por parte de los animales que dan origen al amoníaco, amonio, nitritos y nitratos (nitrógeno inorgánico) que se convierten por medio del ciclo del nitrógeno, por el cual, algunos sistemas de cultivo no pueden llegar a transformar en biomasa todo el aporte de nitrógeno (Park et al., 2018).

#### **2.3.2.1 Alimentación en el cultivo de camarón**

Según Ullman et al., 2018 manifiestan que, La alimentación que se le suministra al camarón consta de alimento artificial (balanceado) a partir de raciones o dietas diarias. Este proceso de alimentación se lo realiza con el propósito de obtener un crecimiento significativo diario y semanal en el camarón. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el alimento balanceado cuando ingresa al estanque aporta gran cantidad de nitrógeno y es el principal causante de la mayoría de todos los productos de desecho dentro del estanque de cultivo, ya que muchas de las veces todo el alimento balanceado no es consumido para ello es indispensable conocer el destino del alimento cuando ingresa al estanque de cultivo (Figura 1).

**Figura 1.** Destino del alimento en el camarón.



**Fuente:** (Ullman et al., 2018).

### 2.3.2.2 Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas

Según Arteaga et al., 2019 indican que, el ciclo del nitrógeno es un proceso biológico de la transformación de algunos compuestos que de no imponerse van a conservar la calidad del agua. Los compuestos son el amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) que se transforma a nitrito ( $\text{NO}_2$ ) y luego a nitrato ( $\text{NO}_3$ ) mediante la presencia de algunas bacterias beneficiosas (Figura 2).

**Figura 2.** Ciclo del nitrógeno en estanques acuícolas.



**Fuente:** (Arteaga et al., 2019).

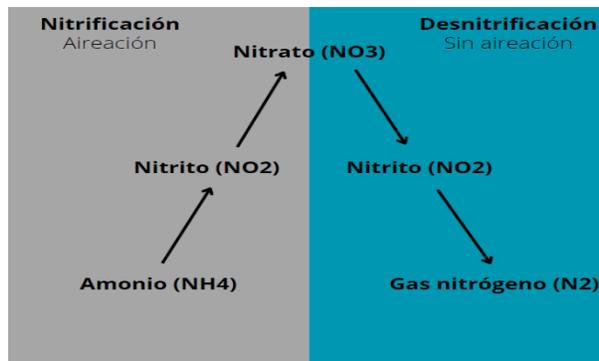
### 2.3.2.2.1 Nitrificación

La nitrificación necesita presencia de oxígeno para poder efectuarse, este proceso se divide en dos fases. La primera fase lo realizan las bacterias *Nitrosomonas* que transforman el amonio total ( $\text{NH}_4$ ) en nitrito ( $\text{NO}_2$ ). La segunda fase lo realizan las bacterias *Nitrobacter* que transforman el nitrito ( $\text{NO}_2$ ) en nitrato ( $\text{NO}_3$ ), estas bacterias que intervienen en la segunda fase utilizan  $\text{CO}_2$  y  $\text{HCO}_3$  por ser quimioautotróficas (Vaca, 2018).

### 2.3.2.2.2 Desnitrificación

La desnitrificación se lleva a cabo sin la presencia de oxígeno, lo que se denomina como un medio anóxico, en donde, los nitratos ( $\text{NO}_3$ ) se transforman en nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y estos se transforman en nitrógeno libre o atmosférico (Figura 3). Este proceso es significativo en estanques acuícolas y lo realizan las bacterias autotróficas y heterotróficas (Vaca, 2018).

**Figura 3.** Procesos de nitrificación y desnitrificación en el ciclo del nitrógeno.



**Fuente:** (Vaca, 2018).

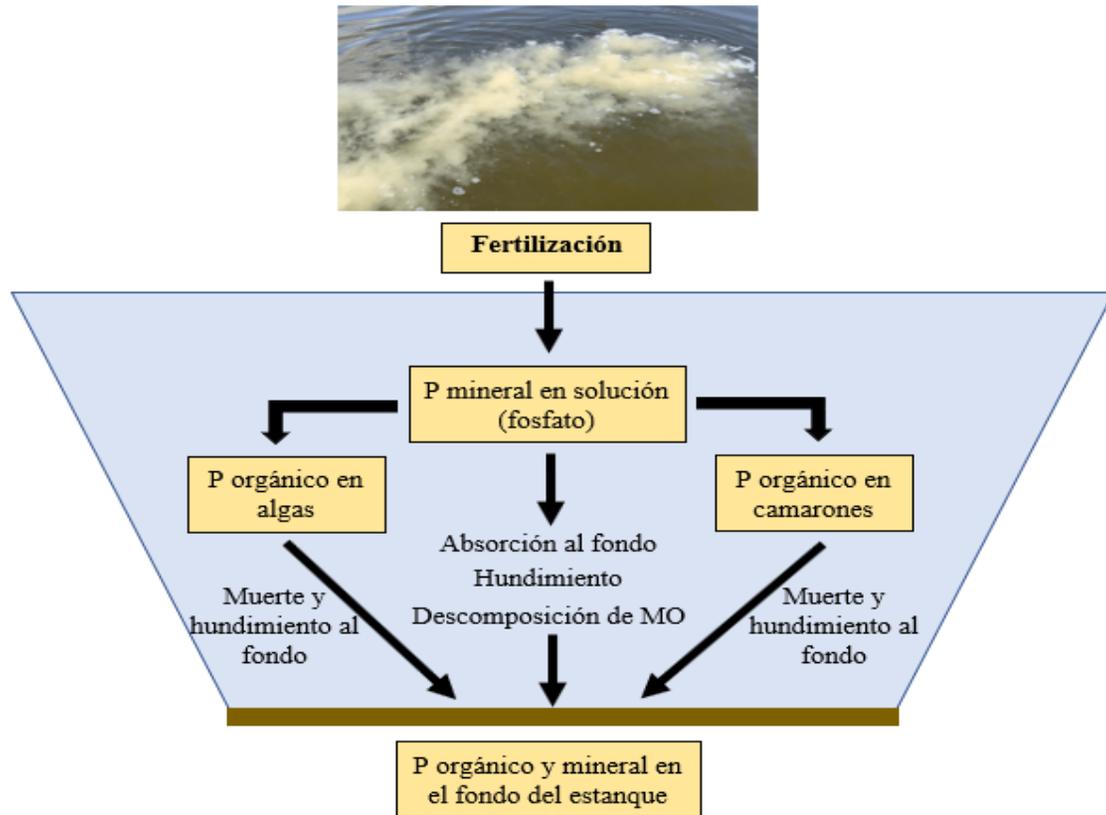
### 2.3.3 Disponibilidad de fósforo

El fósforo es el nutriente limitante en aguas dulces y su presencia también ayuda a la multiplicación de la producción primaria (fitoplancton) tanto en sistemas naturales o sistemas de cultivo. Este nutriente al igual que el nitrógeno también genera problemas, a menos que exista una abundante presencia de fósforo y se genere un alto florecimiento algal dando como resultado falta de oxígeno y mortalidad a los animales de cultivo. Este nutriente está disponible en su gran parte para las algas como ortofosfatos, aunque en otras ocasiones, está presente también y puede ser diagnosticado como fósforo total (Egna & Boyd, 1997).

### 2.3.3.1 Ciclo del fósforo en estanques acuícolas

El ciclo es lento, en el agua se encuentra como iones fosfato  $PO_4$ , es por eso que, el agua que ingresa a los estanques de cultivo contiene fósforo inorgánico producto de las aguas lluvias. El fósforo ingresa con el agua que es tomada de los afluentes cercanos a las granjas, en la cual, las aguas son de color verde (Rodríguez & Anzola, 2001). Es ahí donde los estanques reciben altas cargas de nutrientes, producto de desechos agrícolas, aguas servidas y minería, aparte de fertilizantes y alimento balanceados que se utilizan en las granjas acuícolas, luego las piscinas son otra vez vertidas a los esteros o afluentes y es así como se repite el ciclo (Figura 4).

**Figura 4.** Ciclo del fósforo en estanques acuícolas.



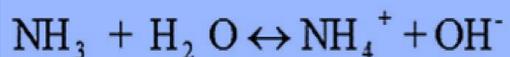
**Fuente:** (Boyd & Tucker, 1998).

## 2.4 Compuestos nitrogenados que afectan a la calidad de agua

### 2.4.1 Nitrógeno amoniacal total (TAN)

De acuerdo con Kathyayani et al., 2019 manifiestan que, el amoniaco se presenta de manera ionizada ( $\text{NH}_4$ ) y también de manera no ionizada ( $\text{NH}_3$ ), los cuales la suma de ellos dos dan resultado al amoniaco total, lo que se conoce como nitrógeno amoniacal total (TAN) que puede ser expresado en ppm o mg/L. Su presencia o concentración en el agua dependen del pH y la temperatura, ya que para la oxidación química del TAN debe tomarse en cuenta también la salinidad (Figura 5).

**Figura 5.** Reacción del amonio total “suma del amonio no ionizado o amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y el amonio ionizado ( $\text{NH}_4$ )”.



**Fuente:** (Kathyayani et al., 2019).

El amonio es uno de los principales parámetros o compuesto nitrogenado que afecta la calidad de agua en los cultivos acuícolas. El amoniaco no ionizado es el más toxico cuando el oxígeno disuelto disminuye y la temperatura aumenta, pues este afecta al crecimiento, alimentación, supervivencia y más aún hace que sean los camarones más susceptibles a enfermedades (González, 2013).

Los camarones pueden llegar a asimilar concentraciones de amoniaco de 0,6 a 2,0 mg/L solo por tiempos cortos de exposición, pero si se trata de sistemas semi-intensivos e intensivos ese tiempo corto de exposición resulta ser fatal para los camarones ya que se produciría una alta tasa de mortalidad por intoxicación del amoniaco (Valencia et al., 2018).

### 2.4.2 Nitritos ( $\text{NO}_2$ )

Los nitritos son otros de los compuestos nitrogenados que afectan la calidad de agua, debido a que, aún sigue siendo toxico y son absorbidos desde el intestino y se unen a la hemoglobina (peces) y hemocianina (camarones) oxidando sus moléculas acortando la amplitud de transportar oxígeno en la sangre. Los nitritos aún siguen siendo tóxicos y su valor aceptable es <0,1 mg/L (García et al., 2018).

### 2.4.3 Nitratos (NO<sub>3</sub>)

El nitrato es otro compuesto nitrogenado, pero poco tóxico, es por eso que para los camarones o peces a concentraciones elevadas puede ser soportada sin ningún problema ya que también es fuente de alimento para el fitoplancton, por el cual sus valores son de 0,4-0,8 mg/L (Tabla 2). Es muy fácil eliminar el nitrato del sistema acuícola ya que es la última transformación para poder completar el ciclo del nitrógeno, ya que, del nitrato pasaría nada más a ser nitrógeno gaseoso (Vinatea, 2020).

**Tabla 2.** Valores admisibles de la calidad del agua acuícola para parámetros nitrogenados tóxicos en estanque de cultivo de camarón blanco.

| Parámetros                | Forma de expresar      | Rangos admisibles |
|---------------------------|------------------------|-------------------|
| Temperatura               | °C                     | 18 a 25           |
| Turbidez                  | cm con disco secchi    | 25 a 60           |
| pH                        | acido/base             | 7 a 9             |
| Oxígeno disuelto          | mg/L                   | 5 a 15            |
| Nitrógeno amoniacal total | mg/L N-NH <sub>3</sub> | > 0,1             |
| Nitritos                  | mg/L N-NO <sub>2</sub> | > 0,23            |
| Nitratos                  | mg/L N-NO <sub>3</sub> | 0,2 a 10          |

**Fuente:** (Boyd et al., 2021).

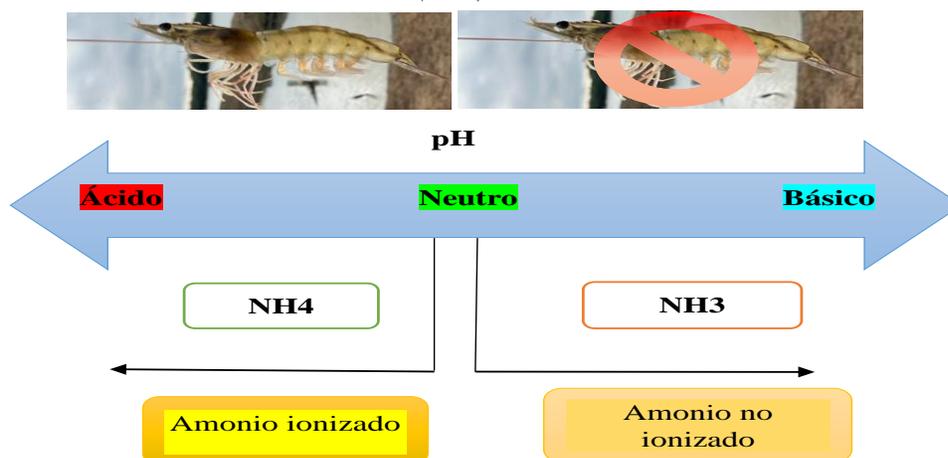
### 2.5 Efectos del amoniacal en camarones

El amoniacal en los camarones afecta directamente en algunos órganos y tejidos, en sus procesos fisiológicos como el crecimiento. Los camarones poseen un rango adecuado del cual pueden tolerar la concentración de amonio total presente en el agua, ese rango tiene que estar siempre menor a 0,45 mg/L cuando se encuentran en sistemas de cultivo semi-intensivos e intensivos. Sin embargo, estudios realizados indican que una concentración de 0,09 mg/L de amonio genera un lento crecimiento en la especie *M. rosenbergi*, entre tanto *L. vannamei* expuesto a una concentración de 0,45 mg/L de amonio generan un 50% de disminución de crecimiento (Frías & Páez, 2001).

### 2.5.1 Incidencia del amoniaco en el cultivo de camarón

El amoniaco en el agua del cultivo de camarón se presenta de forma toxica como  $\text{NH}_3$  y no tóxica como  $\text{NH}_4$  que se su concentración se ve influenciada por la temperatura y el pH del agua, ya que, al aumentar estos dos parámetros, mayor será la concentración de amonio tóxico o amonio no ionizado  $\text{NH}_3$  (Figura 6). En piscinas camaroneras si se tiene una alta concentración de amonio no ionizado  $\text{NH}_3$ , interfiere en las actividades metabólicas del camarón causando la muerte en la población (Hernández, 2016).

**Figura 6.** Toxicidad del amonio frente al pH del agua: El amonio se presenta ionizado a pH bajos sin causar toxicidad en el agua, mientras que a pH altos mayores a 8,5 se presenta en su forma tóxica el amonio no ionizado ( $\text{NH}_3$ )



**Fuente:** (Frías & Páez, 2001).

### 2.6 Efectos e incidencia de fosfatos en el cultivo de camarón

Una excesiva cantidad de fósforo en el agua genera enormes afloramientos de fitoplancton, que a su vez producen altas cantidades de oxígeno en el día, pero en cambio por la noche ellos mismo lo consumen rápidamente. Hay que conocer que el fósforo es un nutriente indicador de eutrofización, es decir, se relacionan con la concentración de fitoplancton en cuerpos de agua y que en 1g de fosfato se admite el crecimiento de 100g de algas por estanque tal como lo muestra la Figura 7 (Balci & Balkis, 2017).

**Figura 7.** Principios de eutrofización en piscinas camaroneras.



**Fuente:** (Balci & Balkis, 2017).

Cabe recalcar que, altos afloramientos de fitoplancton generan serios problemas de toxicidad en el cultivo ya que, microalgas como las cianofitas tienen la capacidad de producir toxinas, uno de esos problemas es el mal sabor en el camarón provocado por desechos metabólicos de la *Anabaena sp.* y *Oscillatoria sp.* que expulsan toxinas orgánicas como la geosmina (sabor a tierra) y el metilisoborneol (sabor a moho). Además, dichos microorganismos ingresan al camarón por vía oral o por las branquias que recorren la hemolinfa y terminan alojándose en parte de los músculos y del tejido adiposo del camarón lo que más adelante puede surgir alguna patología (Lemonnier et al., 2017).

Según Boyd et al., (2021) indican que, la manera más frecuente del fósforo en la columna de agua de los estanques es el  $PO_4$ , el cual siempre debe estar presente a concentraciones menores de 0,5 mg/L y fósforo total menor a 0,28 mg/L y que las concentraciones de dicho nutriente están relacionadas al fosfato inorgánico disuelto y materia orgánica presente en el suelo o también al fósforo orgánico particulado que contiene el fitoplancton.

### **2.7 Formas de remoción del amoníaco y fosfatos del agua en estanques acuícolas**

En la actualidad, existen algunos métodos los cuales ayudan a disminuir la concentración de nitrógeno tóxico presentes en el agua de cultivo de camarón, a su vez conservando los parámetros de calidad de agua dentro de los rangos apropiados para el animal. Una de las alternativas para las altas concentraciones de nitrógeno amoniacal en los sistemas de cultivo, es la biorremediación que con la ayuda de sustratos sirven en el aumento de conglomerados

bacterianos como bacterias, enzimas, levaduras que lograran disminuir de manera drástica y efectiva su elevada concentración (Torres, 2019).

Para disminuir la cantidad de fosfatos, se puede realizar de manera biológica usando bacterias que permiten la captación de nitrógeno y fósforo que se encuentran presentes en el agua y por medio de la interacción de bacterias como las *Bacillus licheniformis* se llegan a eliminar los elevados porcentajes de fosfatos (Flores & Aracena 2018).

### **2.7.1 Biorremediación en acuicultura**

Según Lizarazo (2020) menciona que, en acuicultura la biorremediación es conocida como un proceso degradador de material orgánico de estanques acuícolas, que se realizan de carácter biológico y en condiciones controladas. Se conoce que en la biorremediación se utiliza a microorganismos vivos conocidos como bacterias que tienen como función degradar sustancias tóxicas que se encuentran dentro del ecosistema acuático. La biorremediación mejora la calidad de agua, debido a la poca aglomeración de materia orgánica del suelo y se consigue una mejor entrada de oxígeno en el sedimento. Por otra parte, se afirma que la biorremediación biológica llega a tener varios sistemas los cuales permiten su uso en espejo de agua, suelo y lodo (Divya et al., 2015).

#### **2.7.1.1 Uso de la biorremediación en estanques acuícolas**

Las comunidades bacterianas aplicadas en ambientes acuícolas tienen como objetivo principal mantener una buena calidad del agua que se encuentre dentro de su rango óptimo en los estanques. La materia orgánica suspendida en el agua está compuesta por cadenas cortas de carbono que por lo general son polipéptidos que favorecen a la comunidad microbiana en su reproducción. Su hábitat se encuentra en la parte del fondo (sedimentos) del estanque en cultivo, apoyando a la disminución de materia orgánica que favorece a la capacidad enzimática que a su vez reduce el impacto negativo de la contaminación del agua causada por la formación de metabolitos tóxicos (Brutti et al., 2018).

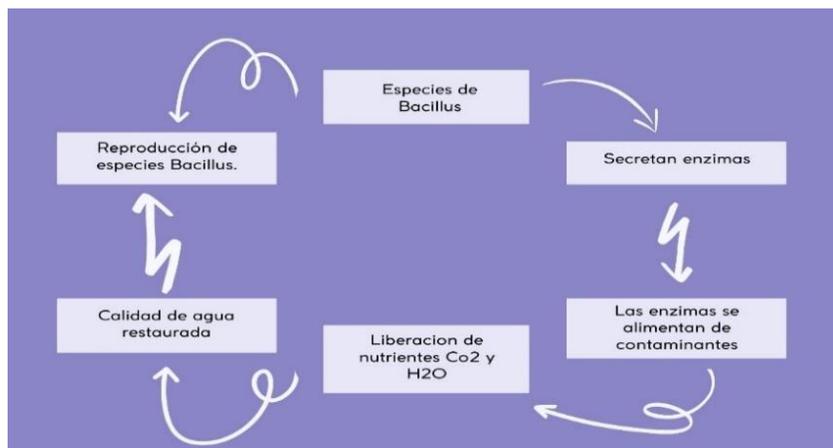
### 2.7.1.1.1 Rol de los microorganismos utilizados en la biorremediación

Según Li & Boyd (2016) indican que, el papel principal de los microorganismos es la biorremediación, causando un efecto favorable en la disminución de los contaminantes y permitiendo mejorar los estanques en cultivo. Las actividades de biorremediación se realizan por medio de la utilización de microorganismos beneficiosos, donde se alcanza la estimulación de nutrientes complementarios como el nitrógeno y fósforo, captadores de electrones de oxígeno, sustrato o mediante la incorporación de microorganismos que tienen la capacidad de descomponer los desechos presentes en el estanque de cultivo (Toledo et al., 2018).

#### 2.7.1.1.1.1 Bacillus

En la Figura 8 se observa la acción de las bacterias *Bacillus sp*, que son vinculadas por mantener una buena calidad del agua en los cultivos. La razón por la cual las bacterias Gram-positivas presentan una mejor capacidad de transformar la materia orgánica en CO<sub>2</sub>, se distinguen de las Gram-negativas por transformar la materia orgánica en biomasa bacteriana o limo, también indican que los *Bacillus* tienen la capacidad de reducir los nitritos, nitratos y amonio del agua de cultivo de *Litopenaeus vannamei* (Kumar et al., 2016).

**Figura 8.** Acción del *Bacillus sp.* en la mejora de la calidad de agua.



**Fuente:** (Kumar et al., 2016).

Las bacterias del género *Bacillus sp* llegan a ser partícipes en la biorremediación, porque mejoran la calidad del medio que lo integra agua y suelo. Por ello el camarón al encontrarse en un ambiente óptimo logra un mejor crecimiento, supervivencia y un buen estado de salud previniendo la incidencia de patógenos como los vibrios (Kewcharoen & Srisapoom, 2019).

#### **2.7.1.1.1.2 Levaduras**

*Saccharomyces cerevisiae* es la levadura más estudiada y utilizada, comúnmente se la conoce como levadura de panadería. Las levaduras en acuicultura, por lo general son usadas para la remoción de nitrógeno amoniacal total (TAN), mejoran la calidad del agua y suelo (fondo) y a su vez controla las enfermedades presentes en el animal. Los productos de *S. cerevisiae* causan un efecto natural en los estanques, reduciendo el nitrógeno amoniacal total y los niveles de pH en el agua (Largo et al., 2021).

Las levaduras comúnmente producen biomasa microbiana que ocurren por medio de compuestos nitrogenados que son excretados por los camarones. La levadura usa mucho nitrógeno en su proceso de fermentación y la levadura lo toma como microbios reparadores de amonio (Pérez et al., 2020).

#### **2.7.1.1.1.3 Enzimas**

González, (2019) indica que, en los procesos de biorremediación las enzimas actúan como catalizadores que aceleran las reacciones bioquímicas presentes en el agua y suelo de las piscinas, Cuando estas son añadidas en el agua de las piscinas o se quedan en el fondo, estas son capaces de descomponer el material orgánico presente en los cultivos de peces y camarones.

Las enzimas extracelulares como la celulasa, proteasa y amilasa se originan de la fermentación aeróbica del material orgánico y son producidas por microorganismos como las bacterias del género *Bacillus* que por lo general las encontramos en los sedimentos de los estanques, pero también se incorporan al agua. Los *Bacillus sp* tienen la capacidad de destruir compuestos nitrogenados y variedad de enzimas excretadas que ayudan a agilizar la degradación de material orgánico y compuestos tóxicos (Romero & Salazar, 2016).

## **CAPÍTULO III**

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

##### **3.1.1 Materiales de campo**

- Botellas plásticas de 1 litro
- Recipientes plásticos de 100 ml
- Jeringas de 10 ml
- Jeringas de insulina de 10 microlitros (1 ml)
- Baldes
- Tubo recolector de agua
- Saco de cabuya

##### **3.1.2 Materiales de laboratorio**

- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Erlenmeyer
- Gradilla
- Cajas Petri
- Asa Digralsky
- Mechero de bunsen
- Mandil
- Guantes

##### **3.1.3 Equipos**

- Espectrofotómetro YSI 9300
- pHchímetro
- Salinómetro
- Balanza digital
- Incubadora

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar

### **3.1.4 Sustancias, reactivos e insumos**

- Agua de piscinas camaroneras y de laboratorio de postlarvas de camarón
- Agua lluvia
- Agua dulce esterilizada Pure Water
- Consorcio de microorganismos benéficos autóctonos
- Acondicionador para agua salada
- Pastillas (Amonio #1 y #2; Nitricol; Fósforo #1 y #2)
- Kit de amonio de la marca Api y kit de fosfatos de la marca Seachem
- Tryptone Soya Agar (TSA)
- Melaza de uso acuícola
- Leche de vacuno
- Sal marina en grano
- Cloruro de amonio y Tripolifosfato de sodio
- Agua destilada

### **3.1.5 Materiales de oficina**

- Esferográficos y marcadores
- Cuaderno de apuntes
- Computadora
- Microsoft Excel

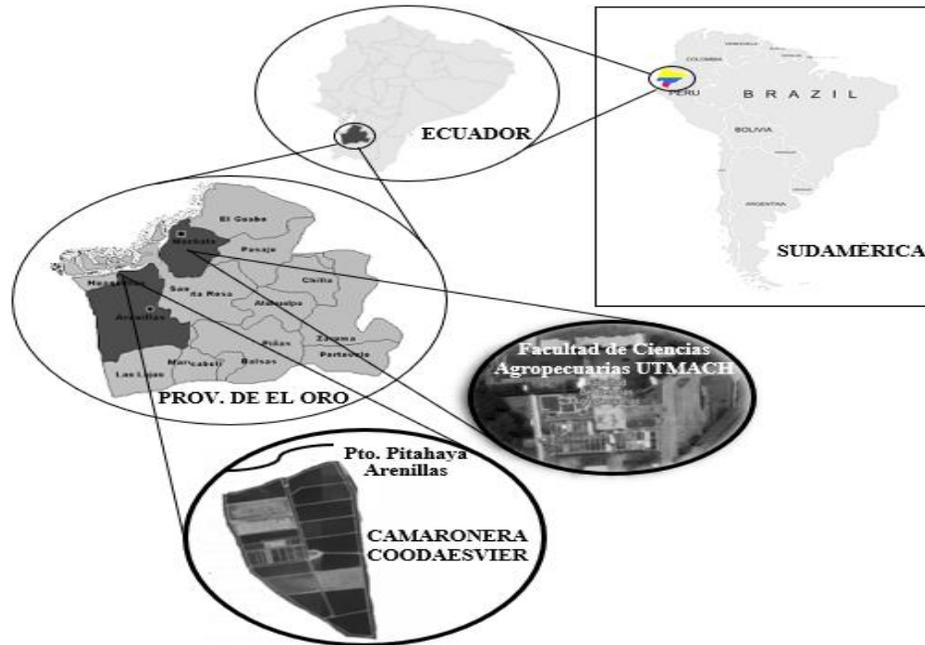
## **3.2 Metodología**

### **3.2.1 Sitios de estudio**

El estudio de laboratorio se lo realizó en el Laboratorio de Bioquímica y de Sanidad Vegetal ubicados en la Facultad de Ciencias Agropecuarias (UTMACH) de la ciudad de Machala, El Oro, Ecuador con las coordenadas, 3°17'29"S 79°54'52"W. Mientras que el estudio de campo

se lo realizó en la camaronera “COODAESVIER” ubicada en La Pitahaya, Arenillas, El Oro, Ecuador con las coordenadas, 3°26'15"S 80°04'44"W (Figura 9).

**Figura 9.** Ubicación geográfica de los sitios de estudio.



*Elaborado por los autores.*

### **3.2.2 Propagación y análisis microbiológico del crecimiento del cultivo microbiano**

Se recolectaron 30 litros de agua lluvia en un balde en los predios de la FCA-UTMACH y se la transportó hacia el laboratorio de Bioquímica. Seguidamente, en un saco de cabuya se colocaron desechos vegetales y se los introdujeron en el mismo balde donde se encontraba el agua lluvia. Luego se añadió 2 litros de melaza y 4 litros de leche de vacuno mezclando todo homogéneamente. Para conseguir una fermentación del cultivo microbiano se tapó el balde y se analizó diariamente el pH desde ese instante.

Para el análisis microbiológico que se realizó a diario, se extrajo una muestra del cultivo microbiano desde el día 0 para realizar dicho análisis en el laboratorio de Sanidad Vegetal en donde se desinfectó con alcohol industrial al 90% los materiales y el área a utilizar. Como medio de cultivo se utilizó el “Tryptone Soya Agar (TSA)” siguiendo las indicaciones de producto para su preparación con esterilización en autoclave y rayos UV.

Con la muestra del cultivo microbiano se realizaron diluciones seriadas hasta la  $10^{-10}$  para realizar la siembra en el medio de cultivo solidificado en las cajas Petri. Luego de la siembra, las cajas Petri fueron colocadas en una incubadora a una temperatura de  $32^{\circ}\text{C}$  por un periodo de entre 24 a 48 horas para luego contabilizar las colonias formadas y estimar las UFC/ml.

### 3.2.2.1 Control del crecimiento microbiano

Para evaluar el crecimiento microbiano por hora, se aplicó la siguiente fórmula:

$$K = \frac{\ln(N_f) - \ln(N_i)}{T_f - T_i}$$

Donde:

**K**= crecimiento microbiano (UFC/ml/h).

**N<sub>i</sub>**= concentración inicial.

**N<sub>f</sub>**= concentración final.

**T<sub>i</sub>**= tiempo inicial.

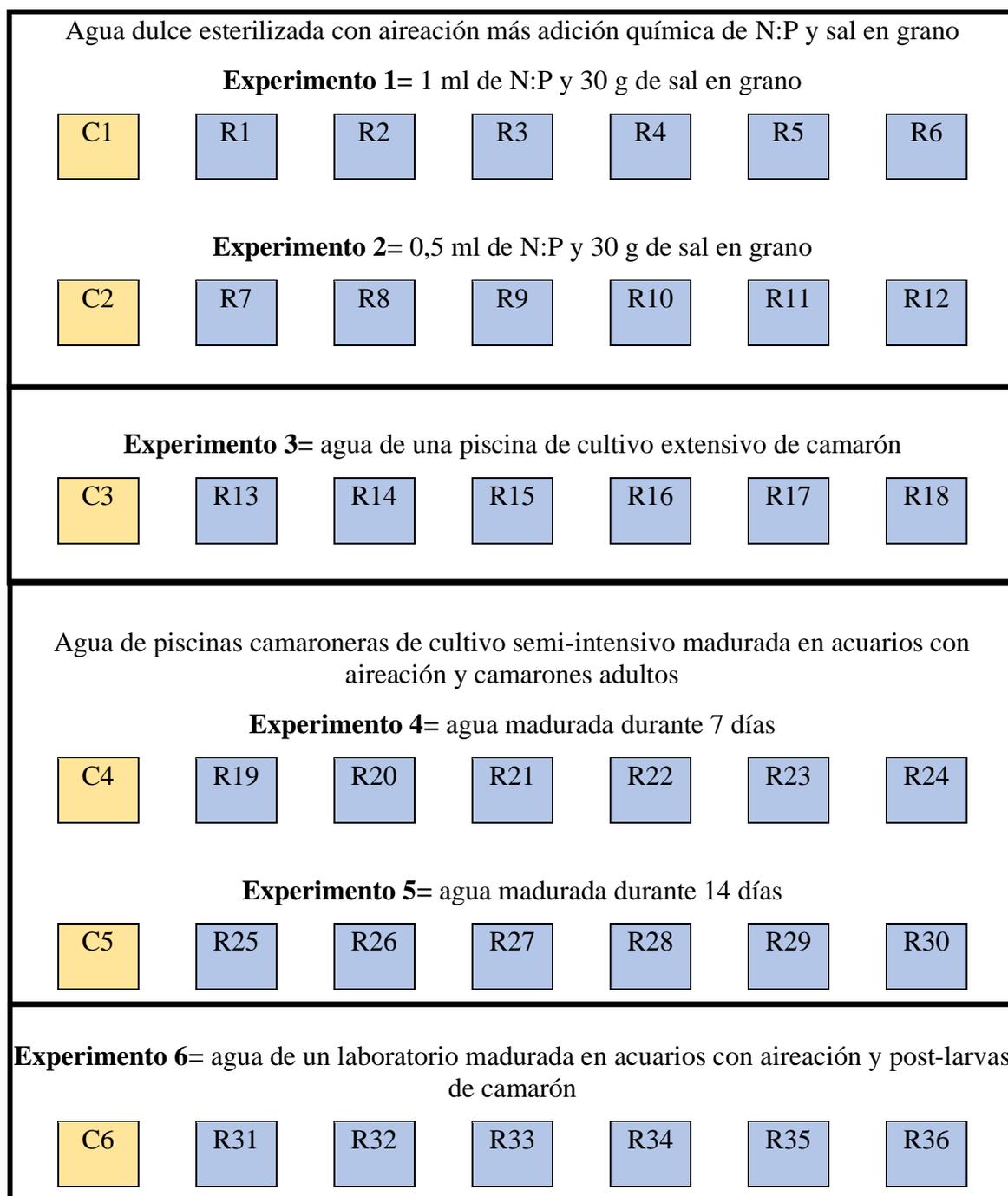
**T<sub>f</sub>**= Tiempo final.

### 3.2.3 Diseño experimental

Para el desarrollo del presente estudio, se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA), en el cual se utilizaron un total de 42 unidades experimentales (6 controles y 36 réplicas) y como unidades muestrales se utilizó agua dulce esterilizada con aireación más una adición química de N:P y sal. También se utilizó agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón. Adicional agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo la cual fue madurada en acuarios con camarones adultos con aireación y por último agua de un laboratorio madurada con post-larvas de camarón con aireación (Figura 10).

Además, se trabajó con un factor de estudio que fue evaluar la eficiencia del consorcio microbiano sobre la reducción de nitrógeno y fósforo inorgánico en agua esterilizada y de piscinas camaroneras. También se trabajó con dos tratamientos que fueron las dosis del consorcio microbiano y los intervalos de tiempos establecidos en 2 y 4 horas en donde se lo desarrolló con un material y entorno experimental homogéneo.

**Figura 10.** Croquis del diseño experimental.



*Elaborado por los autores.*

### Códigos de las unidades experimentales

C= control de cada experimento.

R= réplicas de cada experimento.

### 3.2.4 Variables a medir

Las variables a medir fueron amonio ( $\text{NH}_4$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ), nitratos ( $\text{NO}_3$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) mediante técnicas analíticas que fueron la colorimetría y fotometría. Cabe recalcar que, en cada experimento se midió las variables con su técnica analítica correspondiente (Tabla 3).

*Tabla 3. Experimentos con sus variables a medir y técnica analítica utilizada.*

| Experimentos  | Variables  | Técnica analítica |
|---|--|-------------------|
| Con agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal                                     | Amonio ( $\text{NH}_4$ )<br>Fosfatos ( $\text{PO}_4$ )   | Colorimetría      |
| Con agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón   | Amonio ( $\text{NH}_4$ )<br>Fosfatos ( $\text{PO}_4$ )   | Fotometría        |
| Con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos | Amonio ( $\text{NH}_4$ )<br>Fosfatos ( $\text{PO}_4$ )   | Colorimetría      |
| Con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón                            | Amonio ( $\text{NH}_4$ )<br>Nitritos ( $\text{NO}_2$ )<br>Nitratos ( $\text{NO}_3$ )<br>Fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) | Fotometría        |

*Elaborado por los autores.*

La ejecución de la técnica analítica de la colorimetría, se la realizó siguiendo las indicaciones de cada uno de los kits, como se lo indica a continuación.

- **Determinación de  $\text{NH}_4$  con kit de la marca Api:** 5 ml de muestra de agua + 8 gotas de solución 1 y 2.
- **Determinación de  $\text{PO}_4$  con kit de la marca Seachem:** 1 ml de muestra de agua + 1 gota de solución 1 y 2 gotas de solución 2.

En cambio, la ejecución de la técnica analítica de la fotometría, se la realizó con el Espectrofotómetro YSI 9300 siguiendo sus instrucciones y utilizando sus reactivos, como se lo indica a continuación.

- **Determinación de  $\text{NH}_4$ :** 10 ml de muestra de agua + acondicionador (si se trata de agua salada) + pastilla de amonio 1 y 2.

- **Determinación de NO<sub>2</sub> y NO<sub>3</sub>:** 10 ml de muestra de agua + pastilla nítricol.
- **Determinación de PO<sub>4</sub>:** 10 ml de muestra de agua + pastilla de fosfato 1 y 2.

### 3.2.5 Descripción de los tratamientos

Cabe recalcar que, se aplicaron dos dosis diferentes de microorganismos benéficos en cada unidad experimental denominada réplica, en donde, al aplicar la primera dosis se esperó un tiempo de 2 horas para analizar las variables. Luego de eso se reaplicó otra segunda dosis en las mismas réplicas y se esperó un tiempo de 2 horas más para analizar las variables, es decir, en total un transcurso de tiempo de 4 horas de prueba de desafío del consorcio microbiano frente a las variables (Tabla 4).

**Tabla 4.** Descripción de los tratamientos en cada experimento.

| Experimentos  |               | Dosis                               | Tiempo             |
|---|---------------|-------------------------------------|--------------------|
| Con agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal                                     | Experimento 1 | Dosis 1= 0,1 ml<br>Dosis 2= 0,5 ml  | 2 horas<br>4 horas |
|   | Experimento 2 | Dosis 1= 0,25 ml<br>Dosis 2= 1 ml   | 2 horas<br>4 horas |
| Con agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón   | Experimento 3 | Dosis 1= 0,1 ml<br>Dosis 2= 1 ml    | 2 horas<br>4 horas |
| Con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos | Experimento 4 | Dosis 1= 0,1 ml<br>Dosis 2= 0,25 ml | 2 horas<br>4 horas |
|   | Experimento 5 | Dosis 1= 2,5 ml<br>Dosis 2= 5 ml    | 2 horas<br>4 horas |
| Con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón                            | Experimento 6 | Dosis 1= 0,5 ml<br>Dosis 2= 1 ml    | 2 horas<br>4 horas |

*Elaborado por los autores.*

Para la dosificación del consorcio microbiano que se aplicó en cada experimento, se realizó un cálculo de la concentración de microorganismos benéficos en las dosis a aplicar en cada experimento, el cual se lo realizó mediante la fórmula que se presenta a continuación.

$$Cf = \frac{\text{Concentración microbiana} * \text{Dosis requerida}}{\text{Volumen}}$$

Donde:

**Cf**= concentración final de microorganismos por dosis (UFC/ml).

**Concentración microbiana**= concentración promedio del cultivo microbiano (UFC/ml).

**Dosis requerida**= dosis que se requiere aplicar.

**Volumen**= volumen del agua en donde se va a aplicar la dosis (ml).

### **3.2.6 Prueba de desafío de los tratamientos sobre las variables en estudio**

#### **3.2.6.1 Experimentos con agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal**

Se realizaron 2 experimentos en los que se utilizó agua dulce esterilizada de la marca Pure Water en donde se ubicó las unidades experimentales y se les colocó 1 litro de dicha agua a cada una y aireación. Para la adición de nutrientes en el agua, se preparó una solución de N con 1 gramo de cloruro de amonio diluido en 10 ml de agua destilada y para P se preparó otra solución aparte con 1 gramo de tripolifosfato de sodio diluido en 10 ml de agua destilada. Para el experimento 1, se aplicó 1 ml de la solución N y P a todas las unidades experimentales. De igual manera, para el experimento 2, se aplicó 0,5 ml de las mismas soluciones a todas las unidades experimentales. Por último, para obtener una salinidad de 30 ppt, se aplicó 30 gramos de sal en grano a todas las unidades experimentales tal como lo muestra la Figura 10.

Luego de haber aplicado las soluciones de N:P, se realizó el análisis de las variables amonio y fosfatos para conocer su concentración inicial tal como lo muestra la Tabla 3 con su respectiva técnica analítica y la ejecución de la misma. De igual manera, para la dosificación del consorcio microbiano, después de conocer la concentración inicial de las variables, se aplicó las dosis de microorganismos benéficos en relación al tiempo de exposición tal como lo muestra la Tabla 4.

### **3.2.6.2 Experimento con agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón**

El experimento 3 se lo desarrollo en la camaronera COODAESVIER de cultivo extensivo ubicada en la Pitahaya, Arenillas. En ella se obtuvo muestras de agua de la piscina 6 en la compuerta de salida mediante un tubo que tenía acoplado en un extremo una botella con un orificio para obtener agua del fondo de la piscina. Las muestras de agua fueron transportadas hasta el laboratorio de la camaronera. Luego se ubicó las unidades experimentales a las cuales se colocó como unidad muestral 1 litro del agua que fue obtenida de la piscina 6 tal como lo muestra la Figura 10.

Luego se realizó el análisis de las variables amonio y fosfatos para conocer su concentración inicial tal como lo muestra la Tabla 3 con su respectiva técnica analítica y la ejecución de la misma. De igual manera, para la dosificación del consorcio microbiano, después de conocer la concentración inicial de las variables, se aplicó las dosis de microorganismos benéficos en relación al tiempo de exposición tal como lo muestra la Tabla 4.

### **3.2.6.3 Experimentos con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos**

Para el experimento 4 y 5, se utilizó agua de camaroneras de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala. El agua permaneció con aireación en un acuario, se mantuvo 50 litros de dicha agua con 50 camarones de  $\pm 15,5$  gramos, es decir, una relación de 1 camarón/1 litro de agua. Los animales permanecieron en el acuario durante 14 días recibiendo alimento balanceado y sin recambio de agua. Luego, se ubicó las unidades experimentales del experimento 4 y se les colocó como unidad muestral 1 litro de agua del acuario al cumplir 7 días de maduración. De igual manera, se ubicó las unidades experimentales del experimento 5 y se les colocó como unidad muestral 1 litro de agua del acuario al cumplir 14 días de maduración, tal como lo muestra la Figura 10.

Luego se realizó el análisis de las variables amonio y fosfatos para conocer su concentración inicial tal como lo muestra la Tabla 3 con su respectiva técnica analítica y la ejecución de la misma. De igual manera, para la dosificación del consorcio microbiano, después de conocer la concentración inicial de las variables, se aplicó las dosis de microorganismos benéficos en relación al tiempo de exposición tal como lo muestra la Tabla 4.

### **3.2.6.4 Experimento con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón**

Para el experimento 6 se utilizó agua de laboratorio de post-larvas de camarón. Se mantuvo 30 litros de dicha agua en un acuario con aireación y con 50 post-larvas de aproximadamente  $\pm 0,028$  gramos, es decir, una relación de 1,5 post-larvas/1 litro de agua. Los animales permanecieron en la pecera desde aproximadamente 14 días recibiendo alimento balanceado. Luego, se ubicó las unidades experimentales y se les colocó como unidad muestral 1 litro de dicha agua tal como lo muestra la Figura 10.

Luego se realizó el análisis de las variables amonio, nitritos, nitratos y fosfatos para conocer su concentración inicial tal como lo muestra la Tabla 3 con su respectiva técnica analítica y la ejecución de la misma. De igual manera, para la dosificación del consorcio microbiano, después de conocer la concentración inicial de las variables, se aplicó las dosis de microorganismos benéficos en relación al tiempo de exposición tal como lo muestra la Tabla 4.

### **3.2.7 Cálculo de la eficiencia de biodegradación sobre las variables**

Luego de haber realizado el análisis de las variables después de aplicar cada dosis de microorganismos benéficos y esperar el tiempo establecido en cada experimento, se procedió a evaluar la eficiencia de biodegradación sobre las variables. Para dicho proceso, se aplicó la siguiente fórmula:

$$E = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Donde:

**E**= eficiencia de biodegradación (%).

**C<sub>i</sub>**= concentración inicial.

**C<sub>f</sub>**= concentración final.

## CAPÍTULO IV

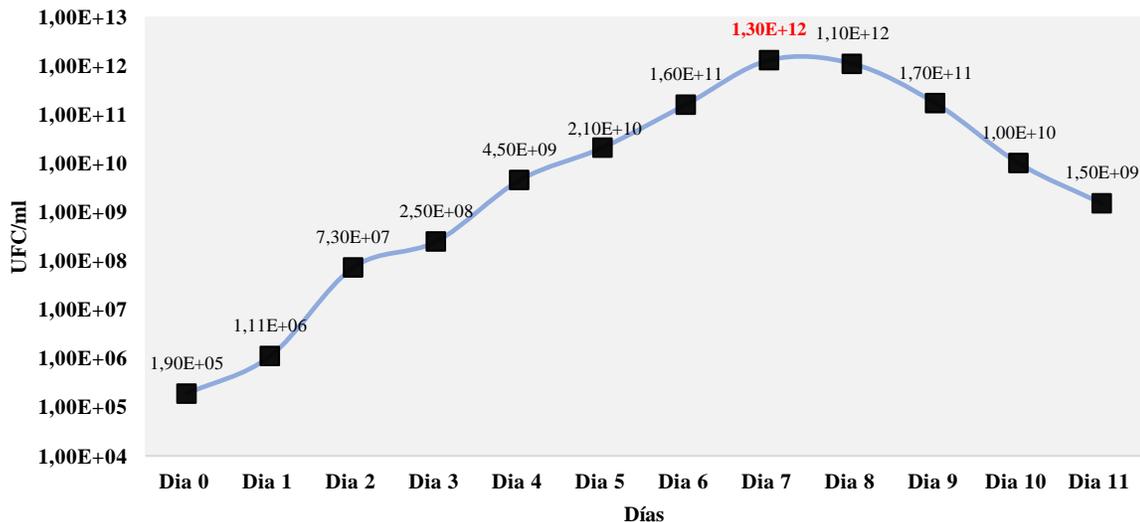
### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Crecimiento exponencial de microorganismos benéficos

En el Gráfico 1, se observa la curva de crecimiento de los microorganismos en un transcurso de 11 días. En el día inicial de la activación se cuantificó  $1,9 \times 10^5$  UFC/ml. Después de 24 horas la concentración aumentó a  $1,11 \times 10^6$  UFC/ml. El crecimiento máximo se alcanzó al séptimo día, a una concentración de  $1,3 \times 10^{12}$  UFC/ml indicando un crecimiento del 99,99% en relación al valor inicial. En cambio, desde el octavo día, la concentración de microorganismos disminuyó, se cuantificó  $1,5 \times 10^9$  UFC/ml representando un 11,53% de decrecimiento en el último día en relación al valor máximo de crecimiento. De acuerdo al crecimiento microbiano en los 11 días, el crecimiento promedio fue de  $2,3 \times 10^{11}$  UFC/ml.

*Gráfico 1. Curva de crecimiento exponencial de microorganismos benéficos autóctonos.*



*Elaborado por los autores.*

En la Tabla 5, se muestra el crecimiento microbiano cada 24 horas. El valor máximo de crecimiento fue de 0,17 UFC/ml/h a las 48 horas. Posteriormente, desde las 192 horas hasta las 264 horas, se puede observar un decrecimiento de bacterias, en el cual, el máximo valor de decrecimiento fue de -0,12 UFC/ml/h a las 240 horas.

**Tabla 5.** Tasa de crecimiento y decrecimiento microbiano en diferentes horas.

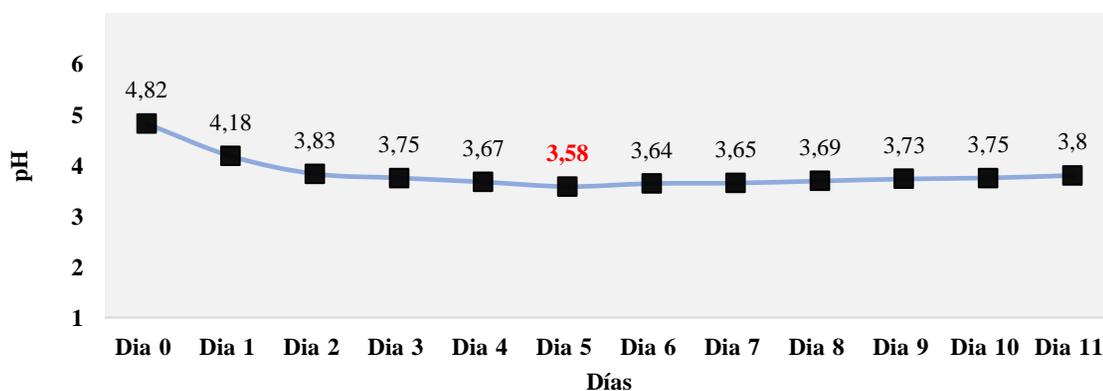
| TASA DE CRECIMIENTO MICROBIANO |                        |                          |
|--------------------------------|------------------------|--------------------------|
| Tiempo (horas)                 | Crecimiento (UFC/ml/h) | Decrecimiento (UFC/ml/h) |
| 24                             | 0,074                  | -----                    |
| 48                             | <b>0,17</b>            | -----                    |
| 72                             | 0,051                  | -----                    |
| 96                             | 0,12                   | -----                    |
| 120                            | 0,064                  | -----                    |
| 144                            | 0,085                  | -----                    |
| 168                            | 0,087                  | -----                    |
| 192                            | -----                  | -0,0069                  |
| 216                            | -----                  | -0,078                   |
| 240                            | -----                  | <b>-0,12</b>             |
| 264                            | -----                  | -0,079                   |

*Elaborado por los autores.*

#### 4.1.2 Variación de pH del cultivo microbiano

En el Gráfico 2, se observa la variación del pH del cultivo microbiano en un transcurso de 11 días. En el día inicial de la activación, se presentó un pH de 4,82. El pH más bajo fue de 3,58 que se obtuvo en el día 5 demostrando una reducción del 25,72% en relación al valor inicial. A partir desde el día 5 el pH se mantuvo entre 3,5 a 4; aunque se presentó un aumento poco significativo del 4,21% en relación al nivel más bajo de pH que se alcanzó, llegando a obtener al día 11 un pH de 3,8. Cabe indicar que, el pH del cultivo microbiano resultó ser un medio ácido con un pH promedio de 3,84.

**Gráfico 2.** Variación del pH del medio del cultivo microbiano.



*Elaborado por los autores.*

### 4.1.3 Análisis de la eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre las concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos

#### 4.1.3.1 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de $\text{NH}_4$ y $\text{PO}_4$ en agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de N:P y sal

En el experimento 1 en agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de 1 ml de amonio y fosfato con 30 gramos de sal, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 8mg/L de  $\text{NH}_4$  y 3mg/L de  $\text{PO}_4$ . Luego, se aplicó una primera dosis de 0,1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^7$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, las concentraciones seguían igual para  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . En vista de que no hubo reducción, se reaplicó una segunda dosis de 0,5ml/L de microorganismos con una concentración de  $1,2 \times 10^8$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, de igual manera, las concentraciones fueron iguales durante el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 6). Por lo tanto, la eficiencia de biodegradación fue nula.

**Tabla 6.** Concentraciones promedio y DS de  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$ ,  $\text{O}_2$  y pH en agua dulce esterilizada con aireación más 1 ml de N:P y 30 gramos de sal.

| Variables            | 0 horas | 2 horas         | 4 horas         |
|----------------------|---------|-----------------|-----------------|
| $\text{NH}_4$ (mg/L) | 8       | 8 $\pm$ 0       | 8 $\pm$ 0       |
| $\text{PO}_4$ (mg/L) | 3       | 3 $\pm$ 0       | 3 $\pm$ 0       |
| $\text{O}_2$ (mg/L)  | 7,73    | 7,84 $\pm$ 0,14 | 6,61 $\pm$ 0,21 |
| pH                   | 8,1     | 8,18 $\pm$ 0,19 | 7,93 $\pm$ 0,05 |

*Elaborado por los autores.*

De igual manera, en el experimento 2 en agua dulce esterilizada con aireación más la adición química de 0,5 ml de amonio y fosfato con 30 gramos de sal, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 4mg/L de  $\text{NH}_4$  y 1,5mg/L de  $\text{PO}_4$ . Luego, se aplicó una primera dosis de 0,25ml/L de microorganismos con una concentración de  $5,8 \times 10^7$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, las concentraciones seguían igual para  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ . En vista de que no hubo reducción, se reaplicó una segunda dosis de 1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^8$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, de igual manera, las concentraciones fueron iguales durante

el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 7). Por lo tanto, la eficiencia de biodegradación fue nula.

**Tabla 7.** Concentraciones promedio y DS de  $NH_4$ ,  $PO_4$ ,  $O_2$  y pH en agua dulce esterilizada con aireación más 0,5 ml de N:P y 30 gramos de sal.

| Variables     | 0 horas | 2 horas    | 4 horas    |
|---------------|---------|------------|------------|
| $NH_4$ (mg/L) | 4       | 4 ±0       | 4 ±0       |
| $PO_4$ (mg/L) | 1,5     | 1,5 ±0     | 1,5 ±0     |
| $O_2$ (mg/L)  | 5,1     | 4,99 ±0,10 | 5 ±0,26    |
| pH            | 6,85    | 8,62 ±0,17 | 7,16 ±0,12 |

*Elaborado por los autores.*

#### 4.1.3.2 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de $NH_4$ y $PO_4$ en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón

En el experimento 3 realizado en la camaronera COODAESVIER de cultivo extensivo, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 1,11mg/L de  $NH_4$  y 0,07mg/L de  $PO_4$ . Luego se aplicó una primera dosis de 0,1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^7$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, se observó una reducción, llegando a concentraciones de 0,84 mg/L de  $NH_4$  y 0,01 mg/L de  $PO_4$ . Igualmente, se reaplicó una segunda dosis de 1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^8$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, se siguió observando una mayor reducción en donde las concentraciones fueron de 0,44 mg/L de  $NH_4$  y 0 mg/L de  $PO_4$  durante el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 8).

**Tabla 8.** Concentraciones promedio y DS de  $NH_4$ ,  $PO_4$ ,  $O_2$  y pH en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón.

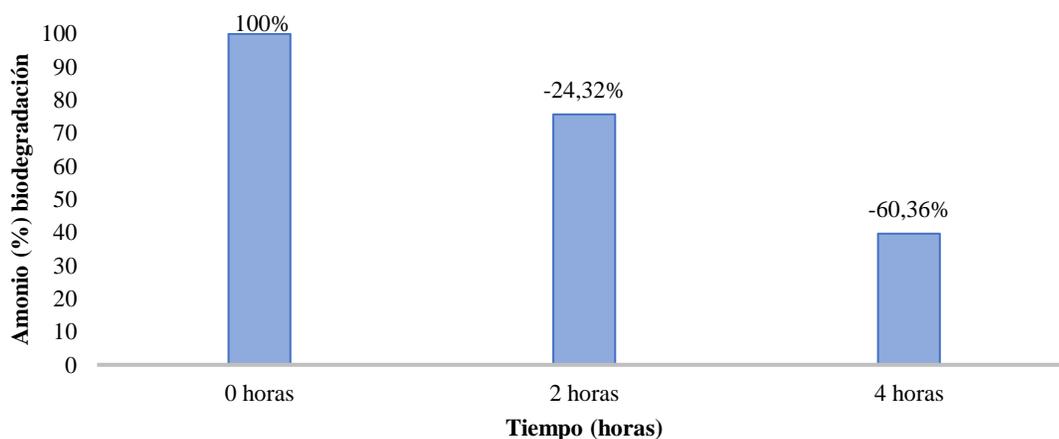
| Variables     | 0 horas | 2 horas    | 4 horas    |
|---------------|---------|------------|------------|
| $NH_4$ (mg/L) | 1,11    | 0,84 ±0,18 | 0,44 ±0,2  |
| $PO_4$ (mg/L) | 0,07    | 0,01 ±0,05 | 0 ±0       |
| $O_2$ (mg/L)  | 3,8     | 3,44 ±0,12 | 3,02 ±0,21 |
| pH            | 8,13    | 8,18 ±0,29 | 7,93 ±0,08 |

*Elaborado por los autores.*

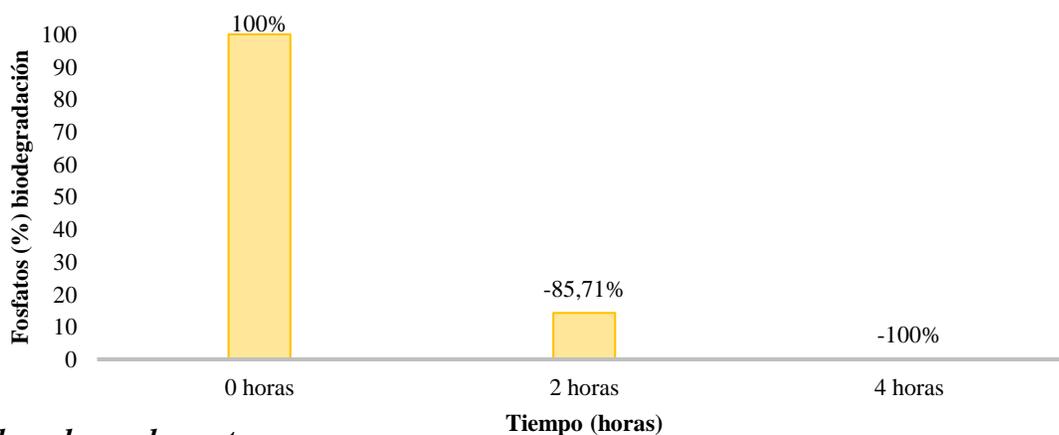
La eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre dichas concentraciones iniciales de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , se observó a las dos horas después de la aplicación de la primera dosis alcanzando una eficiencia de biodegradación en  $\text{NH}_4$  del 24,32% y en  $\text{PO}_4$  del 85,71%. De igual manera, se observó a las dos horas después de la aplicación de la segunda dosis alcanzando una mayor eficiencia de biodegradación en  $\text{NH}_4$  del 60,36% y en  $\text{PO}_4$  del 100% durante el transcurso de las 4 horas en total en relación al valor inicial (Gráfico 3).

**Gráfico 3.** Porcentajes de biodegradación de a)  $\text{NH}_4$  y b)  $\text{PO}_4$  en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón.

**a)  $\text{NH}_4$**



**b)  $\text{PO}_4$**



*Elaborado por los autores.*

#### 4.1.3.3 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de NH<sub>4</sub> y PO<sub>4</sub> con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos

En el experimento 4 con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada durante 7 días con aireación y camarones adultos, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 8mg/L de NH<sub>4</sub> y 3mg/L de PO<sub>4</sub>. Luego se aplicó una primera dosis de 0,1ml/L de microorganismos con una concentración de 2,3x 10<sup>7</sup> UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, se observó una reducción solo en PO<sub>4</sub>, llegando a una concentración de 1,38 mg/L de PO<sub>4</sub>, mientras que, la concentración de NH<sub>4</sub> seguía igual. En vista de que no hubo reducción en NH<sub>4</sub>, se reaplicó una segunda dosis de 0,25ml/L de microorganismos con una concentración de 5,8x 10<sup>7</sup> UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, se siguió observando una mayor reducción solo para PO<sub>4</sub> en donde las concentraciones fueron de 0,38 mg/L de PO<sub>4</sub> y NH<sub>4</sub> siguió igual durante el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 9).

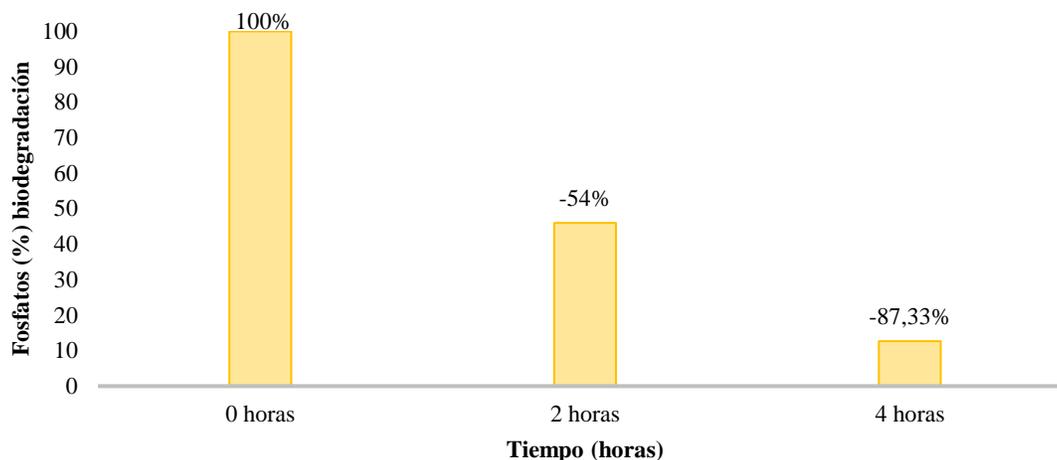
**Tabla 9.** Concentraciones promedio y DS de NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, O<sub>2</sub> y pH con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 7 días con aireación y camarones adultos.

| Variables              | 0 horas | 2 horas    | 4 horas   |
|------------------------|---------|------------|-----------|
| NH <sub>4</sub> (mg/L) | 8       | 8 ±0       | 8 ±0      |
| PO <sub>4</sub> (mg/L) | 3       | 1,38 ±0,22 | 0,38 ±0,2 |
| O <sub>2</sub> (mg/L)  | 6,16    | 6,04 ±0,21 | 6 ±0,18   |
| pH                     | 8,15    | 8,05 ±0,09 | 7,94 ±0,1 |

*Elaborado por los autores.*

La eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre dichas concentraciones iniciales de NH<sub>4</sub> y PO<sub>4</sub>, se observó a las dos horas después de la aplicación de la primera dosis alcanzando una eficiencia de biodegradación solo para PO<sub>4</sub> del 54%. De igual manera, se observó a las dos horas después de la aplicación de la segunda dosis alcanzando una mayor eficiencia de biodegradación solo para PO<sub>4</sub> del 87,33% durante el transcurso de las 4 horas en total en relación al valor inicial (Gráfico 4).

**Gráfico 4.** Porcentaje de biodegradación de  $PO_4$  con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el durante 7 días con aireación y camarones adultos.



*Elaborado por los autores.*

Para el experimento 5 con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 10mg/L de  $NH_4$  y 4mg/L de  $PO_4$ . Luego se aplicó una primera dosis de 2,5ml/L de microorganismos con una concentración de  $5,8 \times 10^8$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, se observó una reducción, llegando a concentraciones de 4,63 mg/L de  $NH_4$  y 1,13 mg/L de  $PO_4$ . Igualmente, se reaplicó una segunda dosis de 5ml/L de microorganismos con una concentración de  $1,2 \times 10^9$  UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, se siguió observando una mayor reducción en donde las concentraciones fueron de 0,11 mg/L de  $NH_4$  y 0,13 mg/L de  $PO_4$  durante el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 10).

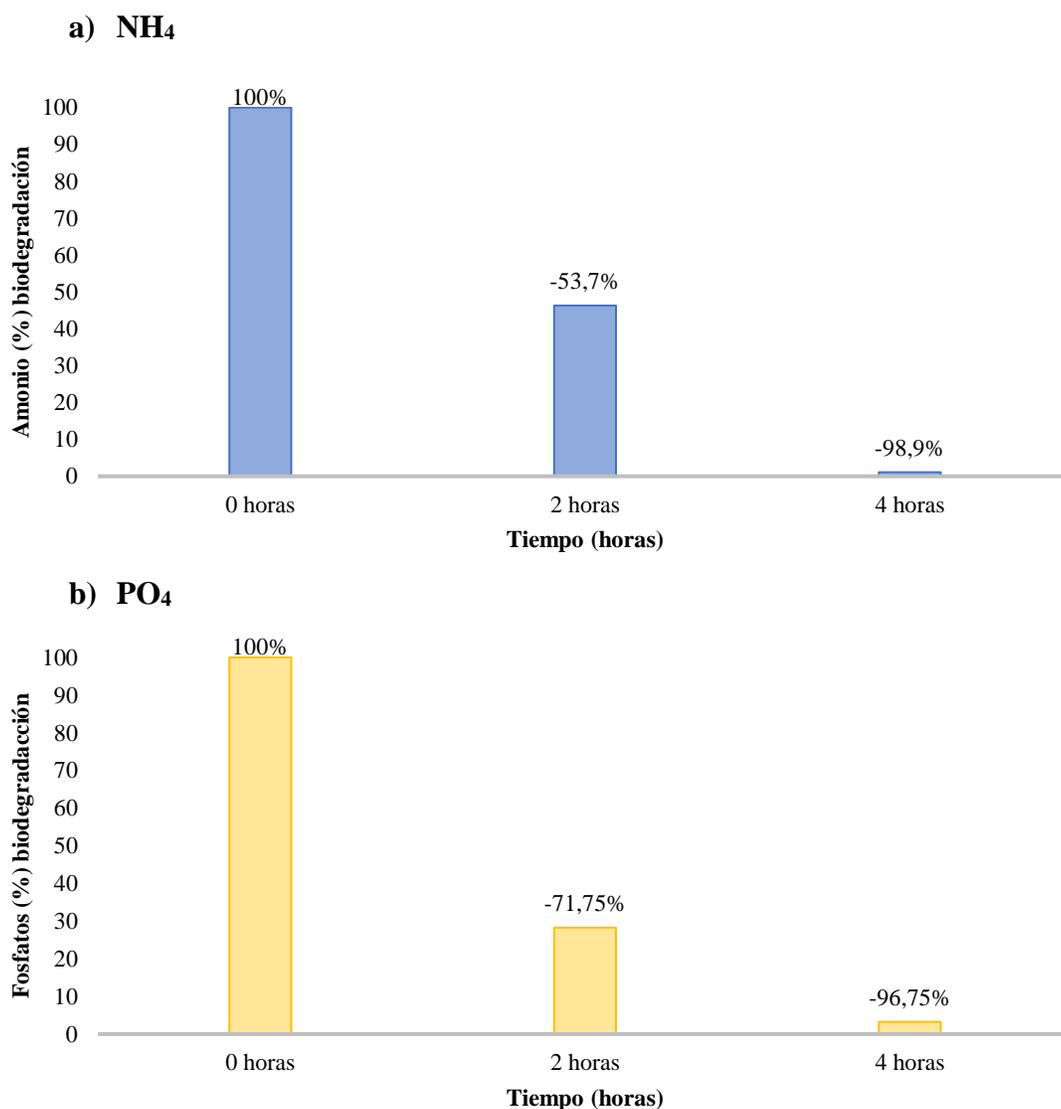
**Tabla 10.** Concentraciones promedio y DS de  $NH_4$ ,  $PO_4$ ,  $O_2$  y pH con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos.

| Variables     | 0 horas | 2 horas         | 4 horas         |
|---------------|---------|-----------------|-----------------|
| $NH_4$ (mg/L) | 10      | 4,63 $\pm$ 0,31 | 0,11 $\pm$ 0,19 |
| $PO_4$ (mg/L) | 4       | 1,13 $\pm$ 0,09 | 0,13 $\pm$ 0,15 |
| $O_2$ (mg/L)  | 4,1     | 4,27 $\pm$ 0,3  | 4 $\pm$ 0,19    |
| pH            | 7,68    | 7,44 $\pm$ 0,11 | 7,34 $\pm$ 0,1  |

*Elaborado por los autores.*

La eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre dichas concentraciones iniciales de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , se observó a las dos horas después de la aplicación de la primera dosis alcanzando una eficiencia de biodegradación en  $\text{NH}_4$  del 53,7% y en  $\text{PO}_4$  del 71,75%. De igual manera, se observó a las dos horas después de la aplicación de la segunda dosis alcanzando una mayor eficiencia de biodegradación en  $\text{NH}_4$  del 98,9% y en  $\text{PO}_4$  del 96,75% durante el transcurso de las 4 horas en total en relación al valor inicial (Gráfico 5).

**Gráfico 5.** Porcentajes de biodegradación de a)  $\text{NH}_4$  y b)  $\text{PO}_4$  con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos.



*Elaborado por los autores.*

#### 4.1.3.4 Eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre concentraciones de NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub> con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón

En el experimento 6 con agua de laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón, en el tiempo 0 se determinó concentraciones iniciales de 7,8mg/L de NH<sub>4</sub>; 1,58 mg/L de NO<sub>2</sub>; 2,48 mg/L de NO<sub>3</sub> y 3,85mg/L de PO<sub>4</sub>. Luego se aplicó una primera dosis de 0,5ml/L de microorganismos con una concentración de 1,2x 10<sup>8</sup> UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la primera dosis, se observó una reducción, llegando a concentraciones de 3,74 mg/L de NH<sub>4</sub>; 0,79 mg/L de NO<sub>2</sub>; 1,21 mg/L de NO<sub>3</sub> y 1,51mg/L de PO<sub>4</sub>. Igualmente, se reaplicó una segunda dosis de 1ml/L de microorganismos con una concentración de 2,3x 10<sup>8</sup> UFC/ml. Dos horas después de la aplicación de la segunda dosis, se siguió observando una mayor reducción solo en NH<sub>4</sub> y PO<sub>4</sub> en donde las concentraciones fueron de 0,03 mg/L de NH<sub>4</sub> y 0,16 mg/L de PO<sub>4</sub>. Mientras que las concentraciones de NO<sub>2</sub> y NO<sub>3</sub> aumentaron a 1,59 mg/L y 2,79 mg/L respectivamente durante el transcurso de las 4 horas en relación al valor inicial (Tabla 11).

**Tabla 11.** Concentraciones promedio y DS de NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>, O<sub>2</sub> y pH con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón.

| Variables              | 0 horas     | 2 horas    | 4 horas    |
|------------------------|-------------|------------|------------|
| NH <sub>4</sub> (mg/L) | <b>7,8</b>  | 3,74 ±0,17 | 0,03 ±0,16 |
| NO <sub>2</sub> (mg/L) | <b>1,58</b> | 0,79 ±0,28 | 1,59 ±0,12 |
| NO <sub>3</sub> (mg/L) | <b>2,58</b> | 1,21 ±0,35 | 2,79 ±0,2  |
| PO <sub>4</sub> (mg/L) | <b>3,85</b> | 1,51 ±0,25 | 0,16 ±0,13 |
| O <sub>2</sub> (mg/L)  | <b>6,35</b> | 5,69 ±0,16 | 6 ±0,21    |
| pH                     | <b>7,9</b>  | 7,87 ±0,11 | 7,85 ±0,22 |

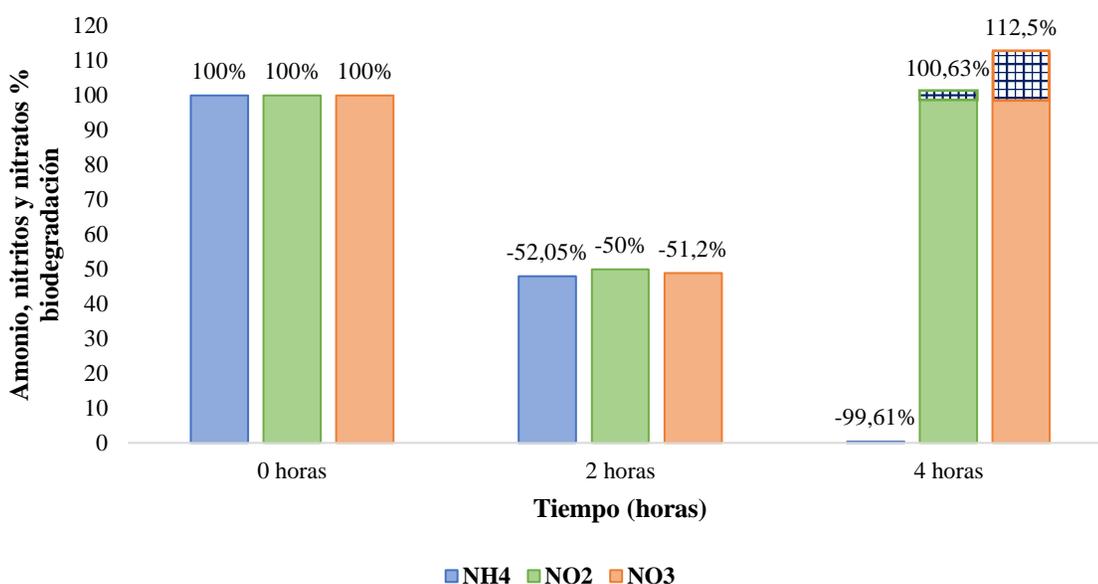
*Elaborado por los autores.*

La eficiencia de biodegradación de los microorganismos benéficos sobre dichas concentraciones iniciales de NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> y PO<sub>4</sub>, se observó a las dos horas después de la aplicación de la primera dosis alcanzando una eficiencia de biodegradación en NH<sub>4</sub> del 52,05%, en NO<sub>2</sub> del 50%, en NO<sub>3</sub> del 51,20% y en PO<sub>4</sub> del 60,77%. De igual manera, se observó a las dos horas después de la aplicación de la segunda dosis alcanzando una mayor

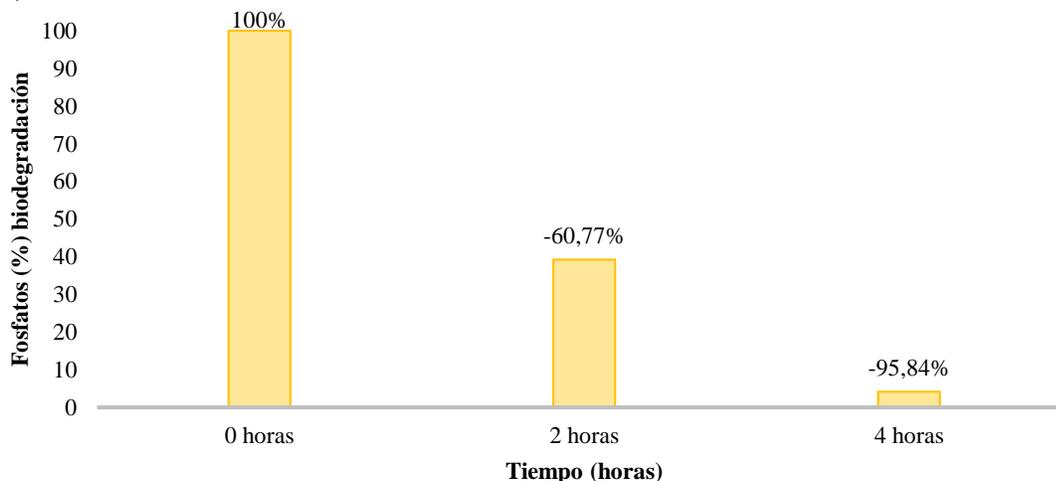
eficiencia de biodegradación solo en  $\text{NH}_4$  del 99,61% y en  $\text{PO}_4$  del 95,84% durante el transcurso de las 4 horas en total en relación al valor inicial. En cambio, la eficiencia de biodegradación de  $\text{NO}_2$  y  $\text{NO}_3$  ya no se efectuó, fue nula a partir de las 2 horas en adelante (Gráfico 6).

**Gráfico 6.** Porcentajes de biodegradación de a)  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  y b)  $\text{PO}_4$  con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón.

**a)  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$  y  $\text{NO}_3$**



**b)  $\text{PO}_4$**



*Elaborado por los autores.*

## **4.2 Discusiones**

### **4.2.1 Crecimiento de microorganismos benéficos y sus beneficios en acuicultura**

En lo que respecta al cultivo microbiano, el medio en el que se encontraban los microorganismos benéficos autóctonos que fueron propagados para el estudio, tuvo un pH < 4 el cual fue enriquecido con melaza y leche de vacuno. Con esto se demuestra que los microorganismos inoculados en los diferentes experimentos fueron bacterias ácido-lácticas (BAL). Los resultados en base a los datos obtenidos del pH de medio de cultivo microbiano de este estudio concuerdan con Duar et al., 2017 donde afirman que, las BAL son bacterias Gram-positivas que están adaptadas a crecer bajo diferentes condiciones ambientales en donde sus condiciones óptimas en ecosistemas acuáticos oscilan a temperaturas que van desde los 15°C a los 45°C y un pH ≤ 4.

El agar TSA (Tryptona-Soja Agar) mide concentraciones de bacterias heterótrofas y ácido lácticas, esto indica que dentro de estas bacterias están presentes las cepas de *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp*, *Thiobacillus spp* que son resistentes y tolerantes a contaminantes tóxicos presentes en el agua, por lo cual, han sido utilizadas en la remoción de compuestos tóxicos en sistemas acuáticos, en sistemas de tratamiento de agua residuales y además han sido los géneros más estudiados por sus beneficios en los tratamientos causados por los trastornos de la microflora intestinal en diversas investigaciones (Nanda et al., 2019).

Además, el uso de *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp*, *Thiobacillus spp* (BAL), ha resultado ser beneficioso cuando los estanques de cultivo tienen la presencia excesiva de nitrógeno, pues, dichos microorganismos mejoran la calidad de agua al reducir compuestos nitrogenados e incluso fosfatos, que inciden directamente en la concentración de OD y que actúan como nutrientes para la producción de patógenos (Luna & González, 2021).

### **4.2.2 Acción de los microorganismos benéficos ante la ausencia de materia orgánica**

Los resultados de los experimentos 1 y 2 con agua dulce esterilizada y adición química de nutrientes y sal, permitieron determinar un efecto negativo de biodegradación al aplicar las dosis de microorganismos benéficos en ausencia de materia orgánica, ya que para dichos experimentos se utilizó agua totalmente esterilizada sin presencia de materia orgánica ni

plancton, aspecto que se constituyó en un factor limitante para la acción y respuesta de los microorganismos que en este caso fueron bacterias ácido-lácticas.

La nula efectividad de los microorganismos benéficos inoculados en agua esterilizada, concuerdan como lo que explica Laurencez (2000) & Ren et al., (2019) quienes afirman que, los microorganismos o bacterias no actúan ante la nula presencia de carbono y materia orgánica disuelta en el agua. De igual manera, los resultados de estos experimentos, también se puede relacionar con Romero & Vargas (2017), en donde manifiestan que, los microorganismos utilizados en la biorremediación absorben sustancias orgánicas disueltas en el agua que son una fuente carbono las cuales son necesarias para el crecimiento y funciones metabólicas de los microorganismos para poder neutralizar sustancias toxicas.

Así mismo, según Cydzik & Zielińska, (2016), en su estudio con aguas residuales, observó que el crecimiento de microorganismos es propicio cuando existen componentes orgánicos disueltos en un cuerpo de agua. Esto también explica que, la nula reducción de amonio y fosfato de los presentes experimentos fue totalmente negativa por la nula presencia de materia orgánica ya que solo contenía una concentración de N:P inoculada en forma de cloruro de amonio y de tripolifosfato de sodio que son componentes inorgánicos químicamente puros.

#### **4.2.3 Acción de los microorganismos benéficos en agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón**

Los resultados del experimento 3 con agua de una piscina de cultivo extensivo de camarón, en base a la aplicación de una dosis de 0,1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^7$  UFC/ml y la replicación de otra dosis de 1ml/L de microorganismos con una concentración de  $2,3 \times 10^8$  UFC/ml, permitieron obtener una biodegradación de amonio ( $\text{NH}_4$ ) de alrededor del 60% y para fosfato ( $\text{PO}_4$ ) del 100%.

Indudablemente, el agua para desarrollar este experimento fue de una camaronera de cultivo extensivo, en la cual existe la presencia de camarones recibiendo alimento balanceado diariamente, por ende, ya existe presencia de materia orgánica disuelta en el agua, lo cual favorece a la acción de los microorganismos que mediante un mecanismo autótrofo emplean el  $\text{CO}_2$  como fuente de carbono y oxidan el  $\text{NH}_4$  a  $\text{NO}_2$  empleando el  $\text{O}_2$  como aceptor de electrones que obtienen energía de la oxidación del  $\text{NH}_4$  (Soliman & Eldyasti, 2018). La

importancia del oxígeno disuelto ( $O_2$ ) se evidencia en este experimento ya que, la concentración de oxígeno disuelto fue de  $\pm 4$  mg/L, por lo que se asume que la disponibilidad de  $O_2$  favoreció a la oxidación del  $NH_4$  por parte de los microorganismos.

#### **4.2.4 Eficiencia de biodegradación de $NH_4$ y $PO_4$ en agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo**

En los resultados del experimento 4 con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 7 días con aireación y camarones adultos, solo resultó ser efectiva en la biodegradación de fosfatos ( $PO_4$ ). La aplicación de la dosis fue de 0,1ml/L con una concentración de microorganismos de  $2,3 \times 10^7$  UFC/ml y otra dosis de 0,25ml/L con una concentración de microorganismos de  $5,8 \times 10^7$  UFC/ml, lo que permite asumir que, los fosfatos fueron asimilados más rápidamente por dichas concentraciones de microorganismos y que, sin embargo, no hubo efecto sobre el amonio ( $NH_4$ ). Esto conllevó a ejecutar nuevos experimentos con diferentes dosis de microorganismos que sea efectiva para reducir la concentración de amonio.

Los resultados previamente descritos, concuerdan con Douterelo et al., (2014), quienes en su estudio de ecología microbiana afirman que, si se tiene una elevada cantidad de microorganismos se les va a hacer más fácil comunicarse entre sí mediante el “quorum sensing” (vía de comunicación de microorganismos) generando beneficio en donde los microorganismos van a ser aislados o inoculados, llegando a la discusión de que en un agua residual con baja concentración de microorganismos benéficos y alta presencia de nutrientes influye en la existencia de microorganismos bacterianos que degradan el  $NH_4$ , siendo estas las nitrificadoras, desnitrificadoras y heterótrofas.

#### **4.2.5 Eficiencia de la acción de los microorganismos benéficos sobre las concentraciones de amonio ( $NH_4$ ) y fosfatos ( $PO_4$ )**

Los resultados obtenidos en el experimento 5 con agua de una piscina camaronera de cultivo semi-intensivo del sector El Coco, Machala madurada en el acuario durante 14 días con aireación y camarones adultos, permitieron obtener una biodegradación altamente significativa de  $NH_4$  del 98,9% y en  $PO_4$  del 96,75% en tan solo 4 horas. Estos resultados se pueden comparar con un estudio que fue realizado por Anangono & Lloacana, (2022), en

donde evaluaron la eficiencia de un biofiltro a base de consorcios bacterianos autóctonos de aguas residuales obtenidas de la descarga de una piscina de cultivo de tilapias para la degradación de fosfatos y amoníaco. Estos investigadores, generaron una estimulación de las bacterias autóctonas que contenían 16 cepas heterótrofas degradadoras pertenecientes a los géneros *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp* y *Flavobacterium spp*. La biodegradación de los compuestos lo iniciaron el día 39 en donde obtuvieron como resultado una eficiencia de remoción de 98,61% en el  $\text{NH}_3/\text{NH}_4$  y para  $\text{PO}_4$  no se evidenció ninguna reducción. Esto demuestra que, los resultados en el experimento 5 antes descritos, fueron más efectivos en menor tiempo un alto porcentaje de reducción de  $\text{NH}_4$  y  $\text{PO}_4$ , del cual Anangono & Lloacana no obtuvieron reducción alguna de  $\text{PO}_4$ .

De igual manera, en el experimento 6 con agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón, se determinó la biodegradación más alta de amonio ( $\text{NH}_4$ ), la cual fue de 99,61% y para fosfato ( $\text{PO}_4$ ) del 95,84%. Estos resultados se pueden comparar con un estudio realizado por Navarrete et al., (2022), en donde evaluaron la eficiencia de consorcios microbianos autóctonos en la biorremediación del efluente de una finca camaronera ubicada en el sector Cabello Manabí, Ecuador en donde obtuvieron una reducción del 84,8%  $\text{NH}_4$  y 96,7% en la reducción de  $\text{PO}_4$  a los 14 días a escala de laboratorio con el T1 compuesto por *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus plantarum*, demostrando así que, los resultados del experimento 6 alcanzaron una mayor eficiencia en la reducción de amonio ( $\text{NH}_4$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) con la utilización de microorganismos benéficos autóctonos cultivados en el laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

#### **4.2.6 Eficiencia de la conversión de nitrógeno inorgánico en el agua**

La degradación de nitrógeno en el agua se efectúa por la acción de bacterias por un proceso que se denomina nitrificación, es decir, la conversión de amonio a nitritos y a nitratos, en donde la temperatura y el oxígeno disuelto son importantes para dicho proceso (Daims et al., 2016). Para corroborar la degradación del nitrógeno, se efectuó un experimento incluyendo el análisis de nitritos y nitratos, de tal manera que en este experimento permita determinar la conversión del amonio en otros compuestos nitrogenados, tal cual ocurre en la naturaleza. Los resultados del experimento 6 con agua de un laboratorio madurada en acuarios con

aireación y post-larvas de camarón, permitieron determinar la conversión de amonio a nitritos. Se presentó una concentración inicial de 1,58 mg/L de  $\text{NO}_2$  y a las 2 horas después de aplicar una primera dosis de microorganismos la concentración se redujo a 0,79 mg/L de  $\text{NO}_2$ , pero a las 4 horas aumentó a 1,59 mg/L de  $\text{NO}_2$ .

De acuerdo con Soliman & Eldyasti, (2018), indican que, una temperatura inferior a 24°C no es ideal para la tasa metabólica de las bacterias nitrato oxidantes “BNO” que oxidan el nitrógeno en un medio acuático. En este experimento realizado, se obtuvo una temperatura promedio de 28°C a 29°C, la cual favoreció a las actividades metabólicas de las bacterias durante las horas de exposición frente a las concentraciones de amonio y nitritos. Cabe recalcar que, la temperatura no tuvo variaciones y fue estable en este estudio.

En concordancia con Rajta et al., (2020) afirman que, la relación del oxígeno disuelto y las bacterias es importante, estas oxidan el amonio y nitrato en ambientes con concentraciones de oxígeno disuelto de 3 a 4 mg/L por excelencia. En este experimento sucedió algo similar, se presentaron concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 5 mg/L, por el cual, se asume que las bacterias de igual manera convirtieron el amonio en nitritos en condiciones aerobias.

Igualmente, los resultados de este mismo experimento permitieron determinar la presencia de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) como producto de la conversión de nitrógeno en el agua. Según Claros, (2012) manifiesta que, la conversión de nitritos a nitratos se realiza mediante el proceso de nitrificación en presencia de oxígeno y es llevado a cabo por microorganismos bacterianos como *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*, *Citrobacter sp* y *Acinetobacter sp*.

Según Mekuto et al., (2019) afirman que, existen microorganismos heterótrofos capaces de realizar procesos de nitrificación y desnitrificación en condiciones aeróbicas, aunque un poco lento debido a la baja tasa de crecimiento de los microorganismos que se adaptan a esas condiciones en donde necesitan más tiempo y depende mucho de la carga orgánica presente en el agua. Dentro de ciertos grupos de bacterias heterótrofas de nitrificación y desnitrificación aeróbica, están los *Bacillus sp* que han aislado de suelos y sistemas de tratamiento de aguas residuales (Qian & Jinren, 2011). En este experimento se obtuvo una concentración inicial de 2,48 mg/L de  $\text{NO}_3$  en donde a las 2 horas se redujo a 1,21 mg/L, pero a las 4 horas aumentó a 2,79 mg/L, por el cual se puede asumir que la presencia de  $\text{NO}_3$  fue producto de la degradación del  $\text{NO}_2$ .

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

Los microorganismos benéficos autóctonos presentes dentro del cultivo microbiano en este estudio fueron bacterias heterótrofas y ácido lácticas, el mismo que permaneció con un pH promedio de 3,84. Dichas bacterias son pertenecientes a los géneros *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp* y *Thiobacillus spp*, que presentaron un crecimiento máximo a una concentración de  $1,3 \times 10^{12}$  UFC/ml en un transcurso de 7 días después de la activación. Es por ello que, por su sublime habilidad de poder eliminar o degradar compuestos nitrogenados en el agua y además por su rápido crecimiento y respuesta metabólica son unas de los microorganismos más utilizados en la actualidad para procesos de biorremediación de agua e incluso de suelo dentro del cultivo de camarón.

Los resultados en los experimentos para determinar la eficiencia de amonio ( $\text{NH}_4$ ) en agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurara en acuarios con aireación y camarones adultos, demostraron que al aplicar una dosis de bacterias sobre las concentraciones de amonio iniciales que fueron de 10 mg/L y 7,8mg/L, se obtuvo un elevado porcentaje de biodegradación de amonio, que alcanzó el 98,9% y 99,61%, obteniendo de tal manera concentraciones finales de 0,11 mg/L y 0,03 mg/L respectivamente en un tiempo determinado de 4 horas después de haberse aplicado las dosis de microorganismos, concluyendo de tal manera que, fueron efectivos frente a altas concentraciones de amonio.

Para la conversión de amonio a nitritos y nitratos, en el experimento para determinar la eficiencia de biodegradación de amonio ( $\text{NH}_4$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3$ ) en agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón, los resultados demostraron que al aplicar una dosis de microorganismos sobre concentraciones iniciales que fueron de 7,8 mg/L de  $\text{NH}_4$ ; 1,58 mg/L de  $\text{NO}_2$  y 2,48 mg/L de  $\text{NO}_3$  se evidenció una conversión de dichos compuestos, ya que al cumplir 2 horas de exposición de los microorganismos inoculados mediante una primera dosis, las concentraciones fueron de 3,74 mg/L de  $\text{NH}_4$ ; 0,79 mg/L de  $\text{NO}_2$  y 1,21 mg/L de  $\text{NO}_3$ . Luego al reaplicar una segunda dosis de microorganismos y esperar 2 horas más de exposición, es decir, al cumplirse un tiempo

de 4 horas de exposición de los microorganismos inoculados, la concentración final de  $\text{NH}_4$  fue de 0,03 mg/L, mientras que las concentraciones finales de  $\text{NO}_2$  y  $\text{NO}_3$  fueron de 1,59 mg/L y 2,79 mg/L respectivamente en relación a las concentraciones iniciales, por lo que se concluye que los microorganismos inoculados fueron efectivos la conversión de nitrógeno en el agua, aunque un factor externo que sí tuvo mucho que ver fue el tiempo, pues se necesitaba más tiempo para lograr una total conversión de nitritos y nitratos ya que solo el experimento fue puesto a prueba durante 4 horas, de las cuales a las 2 horas se observó una alta reducción, de tal manera que, lo importante fue que las conversiones de amonio a nitritos y a nitratos se efectuaron.

Para las concentraciones de fosfatos, los resultados en los experimentos con agua de piscinas camaroneras de cultivo semi-intensivo madurada en acuarios con aireación y camarones adultos y también en agua de un laboratorio madurada en acuarios con aireación y post-larvas de camarón, demostraron de igual manera que, al aplicar una dosis de microorganismos sobre concentraciones iniciales que fueron de 0,07 mg/L; 4 mg/L y 3,85 mg/L de  $\text{PO}_4$  se obtuvieron diferentes porcentajes de biodegradación de amonio, que alcanzó el 100%; 96,75% y 95,84% obteniendo de tal manera concentraciones finales de 0 mg/L; 0,13 mg/L y 0,16 mg/L respectivamente en un tiempo determinado de 4 horas después de haberse aplicado las dosis de microorganismos, concluyendo de tal manera que, también fueron efectivos para controlar concentraciones de fosfatos.

## 5.2 Recomendaciones

Si se requiere realizar el mismo tipo de cultivo microbiano en futuras investigaciones referentes a biorremediación de agua o suelo, se recomienda utilizar un agar que sea idóneo y específico solamente para crecimiento de *Bacillus* y *Lactobacillus* para de esa manera poder identificar con exactitud que especie de dichos géneros predominan en el cultivo microbiano.

Realizar un seguimiento del crecimiento microbiano por más tiempo, hasta que el crecimiento final decrezca lo suficiente o este sea igual que el crecimiento inicial para conocer hasta cuantos días los microorganismos siguen activos dentro del cultivo microbiano.

Desarrollar el mismo estudio, pero teniendo en cuenta el tiempo, para ello se recomienda incrementar más intervalos de tiempo, es decir, para realizar las determinaciones de parámetros después de inocular los microorganismos se lo puede hacer en varias horas hasta completar 24 horas o incluso hasta en más de un día, ya que, en el caso de las concentraciones de nitritos y nitratos, los microorganismos benéficos autóctonos no fueron capaces de biodegradarlas en un lapso de 4 horas, por lo que el factor tiempo tuvo influencia en este estudio para dichos nutrientes.

Para futuros experimentos, aplicar las mismas dosis, las que fueron más efectivas, agregando un tratamiento adicional, en presencia y ausencia de aireación. Esto para conocer el comportamiento de las bacterias frente a concentraciones de compuestos nitrogenados en condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Anangono, A., & Lloacana, E. (2022). *Evaluación de la eficiencia de un biofiltro a base de un consorcio bacteriano para degradar fosfatos y amoníaco en aguas residuales de la acuicultura* (Bachelor's thesis). Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/12978>
- Arteaga, V., Quevedo, A., Valle, D., Castro, M., Bravo, Á., & Ramírez, J. (2019). Estado del arte: una revisión actual a los mecanismos que realizan los humedales artificiales para la remoción de nitrógeno y fósforo. *Tecnología y ciencias del agua*, 10(5), 319-343. Obtenido de <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2019-05-12>
- Balci, M., & Balkis, N. (2017). Assessment of phytoplankton and environmental variables for water quality and trophic state classification in the Gemlik Gulf, Marmara Sea (Turkey). *Marine Pollution Bulletin*. 115 (1-2), 172-189. Obtenido de [doi:10.1016/j.marpolbul.2016.12.007](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.007)
- Boyd, C., & Tucker, C. (1998). Water Quality Requirements. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Obtenido de [doi:10.1007/978-1-4615-5407-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3_3)
- Boyd, C., Lin, C., Pantoja, C., Brock, J., Johnson, K., & Treece, G. (2005). Manual de buenas prácticas para el cultivo de camarón. Obtenido de [https://www.crc.uri.edu/download/PKD\\_good\\_mgt\\_field\\_manual.pdf](https://www.crc.uri.edu/download/PKD_good_mgt_field_manual.pdf)
- Boyd, C. (2015). Water quality in ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. *Ecuquímica*. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3>
- Boyd, C. (2018). Aquaculture pond fertilization. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutri. Nat. Res*, 13, 1–12. Obtenido de [doi: 10.1079/PAVSNNR201813002](https://doi.org/10.1079/PAVSNNR201813002)
- Boyd, C., Davis, R., & Gonzalez, A. (2021). Uso de recursos en la cría de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Ecuador. Obtenido de DOI: [10.1111/jwas.12818](https://doi.org/10.1111/jwas.12818)
- Brutti, L., Beltrán, M., & Giardina, E. (2018). Biorremediación de suelos afectado por residuos. Obtenido de <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/4487>

- Cámara Nacional de Acuicultura. (2022). Estadísticas- Reporte de Exportaciones Ecuatorianas Totales. Obtenido de <https://www.cna-ecuador.com/estadisticas/>
- Carbajal, J., Sánchez, L., Hernández, I., & Hernández, J. (2021). A model based on an artificial neural network for assessing water quality on large shrimp farms. *Tecnología y ciencias del agua*, 8(5), 71-89. Obtenido de doi: <https://doi.org/10.24850/j-tyca2017-05-05>
- Claros, J. (2012). *Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València). Obtenido de <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/17653>
- Cuéllar, J., Lara, C., Morales, V y García, O. (2010). Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*. OIRSA OSPESCA, C.A. 132p. Obtenido de <http://aquaticcommons.org/16644/1/86.%20Various%20Institutions.%20MBP%202010%5B1%5D.pdf>
- Cydzik, A., & Zielińska, M. (2016). Bacterial communities in full-scale wastewater treatment systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(4), 1– 8. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2012-9>
- Daims, H., Lücker, S., & Wagner, M. (2016). Review A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Trends in Microbiology*, 24(9), 699– 712. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>
- Divya, M., Aanand, S., Srinivasan, A., & Ahilan, B. (2015). Bioremediation—an eco-friendly tool for effluent treatment: a review. *International Journal of Applied Research*, 1(12), 530-537. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/S-Aanand-2/publication/315802463\\_Bioremediation\\_-\\_An\\_eco-friendly\\_tool\\_for\\_effluent\\_treatment\\_A\\_Review/links/58e6776b45851598a2aced9b/Bioremediation-An-eco-friendly-tool-for-effluent-treatment-A-Review.pdf](https://www.researchgate.net/profile/S-Aanand-2/publication/315802463_Bioremediation_-_An_eco-friendly_tool_for_effluent_treatment_A_Review/links/58e6776b45851598a2aced9b/Bioremediation-An-eco-friendly-tool-for-effluent-treatment-A-Review.pdf)

- Douterelo, I., Boxall, J. B., Deines, P., Sekar, R., Fish, K. E., & Biggs, C. A. (2014). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water Research*, 65, 134–156. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.008>
- Duar, R., Lin, X., Zheng, J., Martino, M.E., Grenier, T., Perez-Munoz, M., Leulier, F., Walter, J. (2017). Lifestyles in transition: Evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Reviews* 41. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/femsre/fux030>
- Edna, M., Roets, Y., Gardiner, N., & Lalloo, R. (2014). The Use and Benefits of Bacillus Based Biological Agents in Aquaculture. In *Sustainable Aquaculture Techniques*. Obtenido de <https://doi.org/10.5772/57198>
- Egna, H., & Boyd, C. (1997). Dinámica de los estanques en acuicultura. *Dirección de Acuicultura*. Obtenido de [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_peces/piscicultura/05-acuicultura\\_sagpya.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_peces/piscicultura/05-acuicultura_sagpya.pdf)
- Fernández, A., Arrieta, D., & Martínez, N. (2023). Biorremediación en Aguas Residuales Acuícolas: Una Revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 8538-8568. Obtenido de [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i4.7577](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i4.7577)
- Flores, S., & Aracena, D. (2018). Sistema de monitoreo remoto de acuicultura en estanques para la crianza de camarones. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 26, 55-64. Obtenido de [https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-33052018000500055&script=sci\\_arttext#:~:text=http%3A//dx.doi.org/10.4067/S0718%2D33052018000500055%C2%A0](https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-33052018000500055&script=sci_arttext#:~:text=http%3A//dx.doi.org/10.4067/S0718%2D33052018000500055%C2%A0)
- Frías, M., & Páez, F. (2001). *Toxicidad de los compuestos del nitrógeno en camarones*. [Posgrado en Ciencias del mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias del Mar. Laboratorio de Estudios Ambientales]. Obtenido de <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Toxicidad%20de%20los%20compuestos%20del%20nitrogeno%20en%20camarones.pdf>

- García, S., Juárez, A., Olivier, S., Rivas, M., & Zeferino, J. (2018). Variables fisicoquímicas ambientales que inciden en el cultivo de camarón *Litopenaeus vannamei*, en Coyuca De Benitez, Guerrero, México. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 5(2), 135-155. Obtenido de [https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/7-2018\\_RMAE-20-camaron-to-edit.pdf](https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/7-2018_RMAE-20-camaron-to-edit.pdf)
- Gonzabay, Á., Vite, H., Garzón, V., & Quizhpe, P. (2021). Análisis de la producción de camarón en el Ecuador para su exportación a la Unión Europea en el período 2015-2020. *Polo del Conocimiento*, 6(9), 1040-1058. Obtenido de doi:10.23857/pc.v6i9.3093
- González, L. (2013). Nitrógeno amoniacal, importancia de su determinación. *Mente & Materia*, 4(1), 12-13. Obtenido de <https://revistas.utp.ac.pa/index.php/mente-y-materia/article/view/334>
- González, S. (2019). *Evaluación del potencial del salvado de arroz fermentado con cepas probióticas para reducir los niveles de amonio en acuicultura* (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas). Obtenido de <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/26281>
- Hernández, J. (2016). “Caracterización de La Calidad de Agua En Un Sistema Intensivo de Cultivo de Camarón Blanco *Litopenaeus Vannamei*, En Condiciones de Alta Salinidad Con Recambio de Agua Limitado.” Obtenido de <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2408>
- Kathyayani, S., Poornima, M., Sukumaran, S., Nagavel, S., Muralidhar, M. (2019). Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184(30), 109626. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109626>
- Kuebutornye, F., Abarike, E., & Lu, Y. (2019). A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 87, 820–828. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.010>

- Kumar, V., Roy, S., Kumar, D., & Kumar, U. (2016). Application of Probiotics in Shrimp Aquaculture: Importance, Mechanisms of Action, and Methods of Administration. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 24(4), 342-368. Obtenido de doi: 10.1080/23308249.2016.1193841
- Landivar, L. (2023). *Gestión estratégica para la sostenibilidad en empresas del sector camaronero* (Master's thesis, Guayaquil: ULVR, 2023.). Obtenido de epositorio.ulvr.edu.ec/bitstream/44000/6330/1/TM-ULVR-0614
- Largo, Y., Wang, W., Li, Y., Xie, M., Chen, T., Hu, C., . . . Li, D. (2021). Valores de aplicación potenciales de una levadura roja marina, *Rhodospiridium sphaerocarpum* YLY01, en acuicultura y tratamiento de aguas residuales evaluados mediante la eliminación de nitrógeno amoniacal, la inhibición de *Vibrio spp.* y la composición de. National Library of Medicine. Obtenido de doi:10.1371/journal.pone.0246841
- Laurencez, V. (2000). *Comportamiento de nutrientes: materia orgánica y materiales en estanques de cultivo semi-intensivo de camarón azul *Litopenaeus stylirostris* en Sonora México* (Master's Tesis, en Cultivo de Crustáceos). Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12984/443>
- Lemonnier, H., Hochard, S., Nakagawa, K., Courties, C., & Rodier, M. (2017). Response of phytoplankton to organic enrichment and shrimp activity in tropical aquaculture ponds: a mesocosm study. *Aquatic Microbial Ecology*, 80, 105-122. Obtenido de doi:10.3354/ame01841
- Lizarazo, K. (2020). Técnicas de biorremediación para tratamiento de efluentes en acuicultura. Obtenido de <http://repositorio.uts.edu.co:8080/xmlui/handle/123456789/3808>
- Li, Y., & Boyd, C. (2016). Laboratory tests of bacterial amendments for accelerating oxidation rates of ammonia, nitrite and organic matter in aquaculture pond water. *Aquaculture*, 460, 45-58. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848616301703>

- Luna, C., & Gonzalez, L. (2021). Potencial aplicación de bacterias ácido lácticas en sistemas de tratamiento de agua. *Ecosistemas*, 30(2), 2224-2224. Obtenido de <https://doi.org/10.7818/ECOS.2334>
- Mayer, E. (2020). Monitoreo de la calidad de agua del estanque para mejorar la producción de camarones. BIOMIN Holding GmbH, Buenos Aires. Obtenido de <https://cap.auburn.edu/blog/2012/05/control-de-la-calidad-del-agua-de-estanques-para-mejorar-la-produccion-de-camarones-y-peces/?lang=es>
- Mekuto, L., Kim, Y. M., Ntwampe, S. K. O., Mewa-Ngongang, M., Mudumbi, J. B. N., Dlangamandla, N., Itoba-Tombo, E. F., & Akinpelu, E. A. (2019). Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification potential of cyanide and thiocyanate degrading microbial communities under cyanogenic conditions. *Environmental Engineering Research*, 24(2), 254–262. Obtenido de <https://doi.org/10.4491/EER.2018.147>
- Nanda, M., Kumar, V., & Sharma, D. (2019). Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to ‘clean-up’ heavy metal contaminants from water. *Aquatic Toxicology* 212:1-10. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.011>
- Navarrete, J., Noles, P., Delgado, C., Hernández, N., & Guerrero, R. (2022). Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador. *Aquatechnica*, 4(1), 53–65. Obtenido de <https://doi.org/10.5281/zenodo.6536004>
- Park T., Lee T., Lee M., Park C., Lee C., Moon S., Chung J., Cu, R., An Y., Yeom D., Lee S., Lee J., Zoh J. (2018). Development of water quality criteria of ammonia for protecting aquatic life in freshwater using species sensitivity distribution method. *Science of The Total Environment* 634, 934-940. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.018>
- Pérez, M., Álvarez, Y., Soriano, J., & Pérez, M. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93-105. Obtenido de DOI: [10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/ Perez](https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/Perez)

- Qian C., & Jinren, N. (2011). Nitrificación heterotrófica-desnitrificación aeróbica mediante nuevas bacterias aisladas, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, volumen 38, número 9, páginas 1305-1310. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0911-6>
- Rajta, A., Bhatia, R., Setia, H., & Pathania, P. (2020). Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater. *Journal of Applied Microbiology*, 128(5), 1261–1278. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/jam.14476>
- Ren, W., Li, L., Dong, S., Tian, X., & Xue, Y. (2019). Effects of C/N ratio and light on ammonia nitrogen uptake in *Litopenaeus vannamei* culture tanks. *Aquaculture*, 498, 123-131. Obtenido de doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.043
- Rodríguez, H., & Anzola, E. (2001). *La calidad del agua y la productividad de un estanque en acuicultura* (No. Doc. 20684)\* CO-BAC, Bogotá. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12324/34940>
- Rodríguez, J., Leonardo, C., Borbor, D., Chalen, B., & Agurto Rodríguez, G. (2015). Probióticos, parte de la solución: alternativas de uso en el cultivo de camarón. *Foro Iberoam*. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/280627728>
- Romero, J., & Salazar, J. (2016). Descontaminación de aguas y lodos usando enzimas y bacterias: evaluación de tres productos biorremediadores parte 1: uso de procesos aerobios. *Alternativas*, 17(2), 35-43. Obtenido de <https://editorial.ucsg.edu.ec/ojs-alternativas/index.php/alternativas-ucsg/article/view/115/pdf>
- Romero, T., & Vargas, D. (2017). Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas. *Ingeniería hidráulica y ambiental*, 38(3), 88-100. Obtenido de <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/350>
- Saldias, C., Sonnenholzner, S., & Massaut, L. (2002). Balance de nitrógeno y fósforo en estanques de producción de camarón en Ecuador. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8737/1/5.pdf>

- Soliman, M., & Eldyasti, A. (2018). Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB): opportunities and applications—a review. *Environ Sci Biotechnol*, 17(July). Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9463-4>
- Toledo, A., Castillo, N., Carrillo, O., & Arenal, A. (2018). Probióticos: una realidad en el cultivo de camarones. Artículo de revisión. Vol.30, n.2, pp.57- 71. ISSN 2224-7920. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-79202018000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200009)
- Torres, W. (2019). *Biorremediación del agua recirculante en el cultivo intensivo del camarón blanco, utilizando microbiota autóctona del ecosistema del mangle rojo*. [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Obtenido de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10867>
- Ullman, C., Rhodes, M., Hanson, T., Cline, D., & Davis, A. (2018). Effects of Four Different Feeding Techniques on the Pond Culture. *World Aquaculture Society*, 53 - 55. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jwas.12531>
- Vaca, G. (2018). “Elaboración Y Determinación de La Eficiencia de Dos Filtros Biológicos Evaluados En Un Cultivo de Camarón Blanco (*Litopenaeus Vannamei*) En Sistemas de Recirculación Acuícola.” Obtenido de <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2260051>
- Valencia, G., Frías, M., Vanegas, R., Pérez, J., Chávez, M., y Páez, F. (2018). Acute Toxicity of Ammonia, Nitrite and Nitrate to Shrimp *Litopenaeus vannamei* Postlarvae in Low-Salinity Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101(2), 229–234. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>
- Valencia, G., Frías, M., Vanegas, R., Chávez, M., Páez, F. (2019) Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 70: 103-193. Obtenido de doi: 10.1016/j.etap.2019.05.002

- Villamil, L., & Martínez, M. (2009). Probióticos Como Herramienta Biotecnológica En El Cultivo De Camarón: Reseña. *Boletín investigaciones Marino Costeras INVEMAR*, 38(2), 165-187. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S01229761200900020009](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01229761200900020009)
- Vinatea, L. (2003). *Princípios químicos de qualidade da água em aquíicultura : uma revisão para peixes e camarões* (Vol. 2). Ed. da UFSC. Obtenido de <https://www.worldcat.org/title/principios-quimicos-de-qualidade-da-agua-emaquicultura-uma-revisao-para-peixes-e-camaroes/oclc/50825977>
- Vinatea, L. (2020). *Calidad de agua en Acuicultura: Nitrito/Nitrite*. Obtenido de <https://www.luisvinatea.com/post/el-nitrito-nitrite>

## ANEXOS

*Anexo a. Cultivo microbiano*



*Anexo b. Siembra en placa*



*Anexo c. Incubación de cajas Petri sembradas*



*Anexo d. Conteo de colonias*



*Anexo e. Muestra del cultivo microbiano*



*Anexo f. Toma del pH del cultivo microbiano*



*Anexo g. Productos químicos puros*



*Anexo h. Kits colorimétricos*



*Anexo i. Fotómetro con sus reactivos*



*Anexo j. Experimento con agua dulce esterilizada y adición de N:P*



*Anexo k. Estanque para la recolección de muestra de agua*



*Anexo l. Desarrollo del experimento*



*Anexo m. Análisis de variables*



*Anexo n. Agua de camaronera madurada en acuarios con aireación y camarones*



*Anexo o. Montaje de UE*



*Anexo p. Aplicación de las diferentes dosis*



*Anexo q. Resultados después del tiempo de exposición*



*Anexo r. Agua de laboratorio madurada con aireación y post-larvas de camarón*



*Anexo s. Análisis de variables antes de aplicar las dosis de bacterias*



*Anexo t. Análisis de variables después de aplicar las dosis de bacterias*

