



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto del uso de levaduras marinas en la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de piscinas camaroneras**

**VIVANCO LAINES WISLADY MARCELA  
INGENIERA ACUICOLA**

**APONTE NOBLECILLA NAYELI ANGELINE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto del uso de levaduras marinas en la reducción de amonio y  
nitrógeno inorgánico en el agua de piscinas camaroneras**

**VIVANCO LAINES WISLADY MARCELA  
INGENIERA ACUICOLA**

**APONTE NOBLECILLA NAYELI ANGELINE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Efecto del uso de levaduras marinas en la reducción de amonio y  
nitrógeno inorgánico en el agua de piscinas camaroneras**

**VIVANCO LAINES WISLADY MARCELA  
INGENIERA ACUICOLA**

**APONTE NOBLECILLA NAYELI ANGELINE  
INGENIERA ACUICOLA**

**VELASQUEZ LOPEZ PATRICIO COLON**

**MACHALA  
2023**

# TESIS APONTE NAYELI Y VIVANCO LAINES.pdf

*por* WISLADY MARCELA VIVANCO LAINES

---

**Fecha de entrega:** 01-may-2024 12:36p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2314109991

**Nombre del archivo:** TESIS\_APONTE\_NAYELI\_Y\_VIVANCO\_LAINES.pdf (539.97K)

**Total de palabras:** 7258

**Total de caracteres:** 37823

# TESIS APONTE NAYELI Y VIVANCO LAINES.pdf

## INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %

INDICE DE SIMILITUD

1 %

FUENTES DE INTERNET

0 %

PUBLICACIONES

0 %

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[es.scribd.com](https://es.scribd.com)

Fuente de Internet

<1 %

2

[ppgaquicultura.furg.br](https://ppgaquicultura.furg.br)

Fuente de Internet

<1 %

3

[idoc.pub](https://idoc.pub)

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

Las que suscriben, VIVANCO LAINES WISLADY MARCELA y APONTE NOBLECILLA NAYELI ANGELINE, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Efecto del uso de levaduras marinas en la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua 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.

Las autoras 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.

Las autoras 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.



VIVANCO LAINES WISLADY MARCELA

0704784693



APONTE NOBLECILLA NAYELI ANGELINE

0750133563

## **DEDICATORIA**

A mi Abuelita Antu, aunque no pueda presenciar este logro, tus enseñanzas, tu sabiduría y tu amor siguen siendo mi guía en cada paso que doy. Este trabajo es un tributo a tu memoria y un testimonio de la profunda gratitud que siento hacia ti.

A mis padres, Segundo y Pamela quienes siempre han sido mi mayor fuente de inspiración y apoyo incondicional a lo largo de este arduo camino académico. Su amor, sacrificio y constante aliento han sido fundamentales en cada paso que he dado. A mis adorados hermanos Sashenk y Brandon, por su paciencia, comprensión y motivación durante los momentos difíciles. Su amor incondicional y su constante fuente de alegría me ha dado la fuerza necesaria para seguir adelante.

A mi querida familia Materna por nunca dejarme sola y acompañar cada paso y logro que he alcanzado, a Samy, David, Mariella, Fabricio, Loli, Darwin, Joaquin, a mis primos y tios cuyo apoyo ha sido fundamental en este largo camino. A mi familia paterna, mi abuelita Edita, Georgina, Kori y primos por extender su mano, compartir risas, lágrimas y momentos de alegría.

A mis mejores amigos y colegas, quienes han compartido conmigo alegrías, desafíos y momentos inolvidables durante este trayecto. Su compañía ha hecho más llevadero este camino hacia la culminación de este proyecto.

Por último, dedico este trabajo a todas aquellas personas que, de una u otra manera, contribuyeron con su conocimiento, consejos y colaboración para hacer posible la realización de esta tesis.

*Nayeli Aponte Noblecilla*

Expreso mi profundo agradecimiento a Dios por su amor infinito, siempre presente en cada desafío que he enfrentado, proporcionándome la fuerza necesaria para superar obstáculos. Agradezco a mi padre, Julio Vivanco A., por su amor y confianza a pesar de la distancia. A mis hermanos, Joel y María, aún recuerdo los momentos difíciles que pasamos, y aun así siempre han sido cariñosos, buenos y considerados conmigo, esto es totalmente en honor a ustedes.

Mi reconocimiento se extiende a mi novio y mejor amigo, Eduardo Castillo Romero, cuyo amor, apoyo, cuidado y constante aliento han sido esenciales para mi superación, asimismo a sus padres. Agradezco profundamente a mis queridas amigas, así como a sus familias por incluirme como un miembro más, y por considerarme siempre.

Quiero expresar mi gratitud a mi familia cercana, incluyendo a mis abuelitas María Aguilar y Rosa Agurto, tías Johanna Laines, Jenny Navas y Yolanda Aguilar, tíos Marcos Vivanco y Danny García, y primos Paul, Narcisa, Nilo y Miguel<sup>+</sup> Calero Aguilar, su confianza inquebrantable y respaldo en los momentos difíciles ha sido invaluable. A mi abuelito Jaime Laines Martínez<sup>+</sup>, que siempre deseo lo mejor para mí, me dio un hogar, nunca me voy a olvidar de usted y los valores que me inculcó.

Finalmente, deseo reconocer a los profesores que más admiro: Dr. Patricio Velásquez, Dra. Lita Sorroza y Dra. Leonor Rivera, su confianza en mis habilidades, su ética y sus críticas constructivas han sido pilares en mi desarrollo académico. A todos ustedes, gracias por contribuir en mis estudios universitarios.

*Wislady Vivanco Laines*

## RESUMEN

Las levaduras marinas son microorganismos que pueden desempeñar un papel fundamental en la calidad del agua de piscinas camaroneras, Estos microorganismos tienen la capacidad de reducir contaminantes en sistemas acuáticos utilizando el amonio y el nitrógeno inorgánico como fuente de nutrientes para su crecimiento y metabolismo. En la industria acuícola la presencia de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de las piscinas camaroneras puede afectar a los camarones, disminuir su crecimiento y producción. Para reducir estos compuestos, se ha propuesto el uso de levaduras marinas. El objetivo de este estudio fue analizar las concentraciones de amonio, nitrato y nitrito presentes en diferentes tipos de agua, de piscina camaronera y agua químicamente pura. para determinar el efecto de la aplicación de las levaduras marinas en la degradación de dichos compuestos nitrogenados. La metodología empleada incluye la recopilación de datos históricos, actuales, ensayos y pruebas. Los resultados expresan la velocidad de crecimiento de las levaduras marinas en dos ambientes, ácido (pH 2-3) con una tasa máxima de multiplicación de  $157.228 \mu_{max}$  y ligeramente ácido (pH 4-5) el crecimiento es menor. En cuanto a la reducción de amonio todos los tratamientos iniciaron con una concentración de amonio de 4 mg/l. Se observó que las concentraciones de agua de camaronera y agua químicamente pura, en los dos tratamientos con levaduras y aireación, experimentaron reducciones idénticas, alcanzando una concentración de 0.25 mg/l en la cual se observa una disminución significativa después de 6 horas siendo más efectiva.

Palabras claves: Levaduras marinas, pH ácido, Amonio, piscinas camaroneras.

## **ABSTRACT**

Marine yeasts are microorganisms that can play a fundamental role in the water quality of shrimp ponds. These microorganisms have the ability to reduce contaminants in aquatic systems using ammonium and inorganic nitrogen as a source of nutrients for their growth and metabolism. In the aquaculture industry, the presence of ammonium and inorganic nitrogen in the water of shrimp ponds can affect the shrimp, reducing their growth and production. To reduce these compounds, the use of marine yeast has been proposed. The objective of this study was to analyze the concentrations of ammonium, nitrate and nitrite present in different types of water, from shrimp ponds and chemically pure water. to determine the effect of the application of marine yeast on the degradation of said nitrogenous compounds. The methodology used includes the collection of historical and current data, trials and tests. The results express the growth rate of marine yeasts in two environments, acidic (pH 2-3) with a maximum multiplication rate of  $157.228 \mu_{max}$  and slightly acidic (pH 4-5) the growth is lower. Regarding ammonium reduction, all treatments began with an ammonium concentration of 4 mg/l. It was observed that the concentrations of shrimp water and chemically pure water, in the two treatments with yeast and aeration, experienced identical reductions, reaching a concentration of 0.25 mg/l in which a significant decrease is observed after 6 hours, being more effective.

Keywords: Marine yeasts, acidic pH, Ammonium, shrimp ponds.

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	1
RESUMEN .....	3
ABSTRACT.....	4
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	7
ÍNDICE DE TABLAS .....	8
CAPITULO I .....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
3. JUSTIFICACIÓN .....	11
4. OBJETIVOS .....	12
4.1. Objetivo general .....	12
4.2. Objetivos específicos.....	12
5. HIPÓTESIS.....	12
CAPITULO II.....	13
2. MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. Acuicultura y calidad del agua.....	13
2.1.1. Importancia de la calidad del agua en cultivos de <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	13
2.1.2. Variables de calidad del agua en el cultivo.....	13
2.2. Contaminantes comunes en las piscinas camaroneras, como el amonio y el nitrógeno inorgánico. ....	14
2.3. Métodos de investigación de biorremediación en acuicultura .....	15
2.4. Levaduras marinas.....	17
2.4.1. Definición .....	17
2.4.2. Masificación de levaduras.....	18
2.5. Características y propiedades de las levaduras marinas.....	19
2.6. Funciones y beneficios de las levaduras marinas en los sistemas acuáticos.....	21
2.7. Mecanismos de acción de las levaduras marinas en la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico. ....	22
CAPITULO III.....	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	24

3.1. Ubicación del área de estudio.....	24
3.2. Equipos y Materiales.....	24
3.3. Metodología .....	25
3.3.1. Obtención de las muestras de sedimento .....	26
3.3.2. Desinfección del área de estudio.....	26
3.3.3. Aislamiento y cultivo de levadura .....	26
3.3.4. Cuantificación de las levaduras .....	27
3.3.5. Control de cultivo de levaduras y su crecimiento.....	27
3.3.6. Cálculo de la velocidad de crecimiento .....	27
3.3.7. Preparación de unidades experimentales .....	28
CAPITULO IV.....	30
4. Resultados.....	30
4.1. Cultivo y crecimiento de levaduras.....	30
4.2. Ensayos experimentales con el uso de levaduras para evaluar la degradación de amonio, nitrito y nitrato .....	32
5. Discusión.....	35
5.1. Crecimiento de Levaduras.....	35
5.2. Efecto de las levaduras en la reducción de amonio.....	36
5.3. Efecto de las levaduras en la reducción de nitrato .....	38
5.4. Efecto de las levaduras en la reducción de nitrito .....	38
6. CONCLUSIONES .....	39
7. RECOMENDACIONES.....	39
8. BLIOGRAFÍA .....	41
9. ANEXOS .....	49

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Diseño experimental .....	29
Gráfico 2 Porcentaje de reducción de amonio de los diferentes tratamientos. ....	33
Gráfico 3 Concentración de Nitrito.....	34
Gráfico 4 Concentración de Nitrato.....	34
Gráfico 5 Comparación de resultados en la condición de degradación de amonio por medio de levaduras marinas.....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Moléculas asimilables por levaduras .....	20
Tabla 2 Concentraciones de amonio de los tratamientos .....	32
Tabla 3 Crecimiento de levaduras marinas.....	52
Tabla 4 Concentración de amonio .....	52
Tabla 5 Porcentaje de reducción de amonio .....	53
Tabla 6 Porcentaje de reduccion de amonio en presencia de levaduras marinas.....	54
Tabla 7 Porcentaje de reducción de amonio sin levaduras marinas.....	54

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

El uso de levaduras marinas para la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de piscinas camaroneras es un enfoque prometedor en la acuicultura, ya que las levaduras marinas son microorganismos que pueden desempeñar un papel fundamental en la calidad del agua en estos sistemas acuáticos, puesto que el amonio y el nitrógeno inorgánico son contaminantes comunes en las piscinas camaroneras, estas sustancias nitrogenadas se liberan a través de los desechos de los camarones y los alimentos no consumidos, y pueden acumularse en el agua de las piscinas y convertirse en una amenaza para la salud de los camarones (Abdel et al., 2008).

El amonio es un desecho nitrogenado, un estrés ambiental particularmente importante en el cultivo intensivo de camarón, que causa varios cambios fisiológicos, incluido el consumo de oxígeno, la homeostasis y la inmunosupresión, que afectan el crecimiento normal, el estado de salud y la tasa de supervivencia (Abdulrahman & Ahmed, 2016). El control del amonio en los estanques de camarones depende de otros parámetros de calidad, como el pH, el oxígeno y la temperatura. El uso de *S. cerevisiae* indica una reducción de NH<sub>4</sub>-N, demanda química de oxígeno y sulfuro en el agua y sedimentos de estanques de cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) (Alloul et al., 2021).

Estos microorganismos tienen la capacidad de utilizar el amonio y el nitrógeno inorgánico como fuente de nutrientes para su crecimiento y metabolismo, al hacerlo, ayudan a reducir la concentración de estos contaminantes en el agua de las piscinas camaroneras, las levaduras marinas también pueden facilitar la descomposición de otros compuestos orgánicos presentes en el agua de las piscinas, lo que contribuye aún más a mejorar la calidad del agua, además, estas levaduras pueden promover el equilibrio microbiológico en el sistema acuático, lo que ayuda a prevenir el

crecimiento excesivo de bacterias dañinas, al utilizar levaduras marinas para reducir el amonio y el nitrógeno inorgánico en las piscinas camaroneras, se pueden obtener diversos beneficios (Biswas et al., 2012).

Uno de los beneficios importantes en piscinas camaroneras es la mejora de la calidad del agua: Al reducir la concentración de amonio y nitrógeno inorgánico, se crea un ambiente más saludable para los camarones además de que realiza una reducción de la necesidad de productos químicos, debido al uso de levaduras marinas puede disminuir la dependencia de sustancias químicas para el tratamiento del agua, lo que resulta en una producción más sostenible y amigable con el medio ambiente, asimismo ayuda a la prevención de enfermedades porque mantiene un equilibrio microbiológico adecuado en las piscinas camaroneras, se puede reducir el riesgo de enfermedades que pueden afectar a los camarones (Carlson, 1999).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la industria de la acuicultura, en particular el cultivo de camarones en piscinas camaroneras, uno de los problemas ambientales y de sostenibilidad más significativos está relacionado con la acumulación de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de cultivo. Estos compuestos se generan a partir de los desechos de los camarones y el exceso de alimento, lo que puede dar lugar a una disminución en la calidad del agua y, por ende, al deterioro de la salud y el crecimiento de los camarones. Además, la liberación de amonio y nitrógeno inorgánico en cuerpos de agua circundantes puede tener efectos negativos en los ecosistemas acuáticos.

La presencia de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de las piscinas camaroneras puede afectar a los camarones, disminuir su crecimiento y producción. Para reducir estos compuestos, se ha propuesto el uso de levaduras marinas. Sin embargo, aún no se conoce con certeza la eficacia de este método y se requiere de más investigaciones para determinar su

efectividad. En este sentido, es necesario realizar un estudio que permita evaluar los efectos del uso de levaduras marinas en la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico en el agua de las piscinas camaroneras y determinar su potencial como una alternativa viable y sostenible en la producción camaronera.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El amonio y el nitrógeno inorgánico, que provienen principalmente del alimento no consumido y de los desechos de los camarones, esto a su vez representan una seria amenaza para la calidad del agua en las piscinas camaroneras. La acumulación de estos compuestos puede conducir a problemas de contaminación y a la disminución de la calidad del agua, lo que a su vez puede tener un impacto negativo en la salud y el crecimiento de los camarones. Investigar cómo las levaduras marinas pueden contribuir a reducir estos compuestos es fundamental para mantener una calidad de agua óptima(Kaewkrajay et al., 2020).

El cultivo de camarones es una de las industrias acuícolas de más rápido crecimiento a nivel global, pero conlleva preocupaciones medioambientales significativas. La liberación de amonio y nitrógeno inorgánico en cuerpos de agua cercanos a las piscinas camaroneras puede causar la eutrofización y dañar los ecosistemas acuáticos. La búsqueda de métodos sostenibles para mitigar estos efectos es esencial para reducir el impacto ambiental de esta industria(Kwon et al., 2020).

La incorporación de levaduras marinas en las prácticas de cultivo de camarones puede optimizar la eficiencia en el uso de nutrientes. Si estas levaduras pueden descomponer y reciclar el amonio y el nitrógeno inorgánico, se reducirá la necesidad de utilizar productos químicos para el tratamiento del agua (Zaky et al., 2014).

La implementación exitosa de estrategias que utilicen levaduras marinas para la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico podría traducirse en beneficios económicos significativos para los productores de camarones. Un mejor ambiente de cultivo con agua de alta calidad puede conducir a una mejora en la salud de los camarones, tasas de crecimiento más altas y, en última instancia, a un mayor rendimiento y rentabilidad (Chi et al., 2016).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Determinar el efecto de la aplicación de las levaduras marinas en agua de piscinas camaroneras, para la degradación de nitrógeno y su conversión en amonio, nitrito y nitrato.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Determinar el crecimiento de levaduras marinas cultivadas en laboratorio y obtenidas de sedimento de manglar tomado de una zona costera de la provincia de El Oro.
- Determinar las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato que se producen en un tiempo de 2 - 4 - 6 horas con la aplicación de levaduras marinas obtenidas de una zona de manglar y en dos tratamientos los cuales son con aireación y sin aireación.
- Determinar el porcentaje de reducción o aumento de nutrientes que surgen de la aplicación de las levaduras marinas en piscinas camaroneras.

## **5. HIPÓTESIS**

El uso de las levaduras marinas aisladas del sedimento de manglar permitirá lograr una mayor reducción de nitrito, amonio y nitrato degradación en aguas procedentes de estanques de cultivo de *Litopenaeus vannamei*

## CAPITULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Acuicultura y calidad del agua

##### 2.1.1. Importancia de la calidad del agua en cultivos de *Litopenaeus vannamei*

La preparación de los estanques de acuerdo con las buenas prácticas es vital para reducir las posibilidades de recurrir a acciones correctivas de emergencia. Sin embargo, durante el período de cultivo en sí, las condiciones variables hacen necesario tomar acciones correctivas para mantener la calidad del agua dentro de un rango aceptable. Para ello, se monitorea periódicamente la calidad del agua para tener información actualizada que permita a los operadores o equipos automáticos reaccionar ante condiciones desfavorables del agua (Chaikaew et al., 2019).

El agua de entrada de buena calidad es esencial para el bienestar de los camarones; El agua de salida de buena calidad es necesaria para cumplir con las normas diseñadas para proteger el medio ambiente. Además, es fundamental monitorear las características del agua de los estanques para asegurar las condiciones adecuadas para el crecimiento del camarón (Orozco et al., 2022).

##### 2.1.2. Variables de calidad del agua en el cultivo

Las condiciones del agua deben incluir propiedades fisicoquímicas y bioquímicas. Es de suma importancia considerar los parámetros más críticos: oxígeno disuelto, pH, salinidad y temperatura. Por otro lado, para evitar la contaminación del agua, las aguas residuales de la granja camaronera deben manejarse de manera segura de acuerdo con las regulaciones locales (Thai et al., 2018).

Una caracterización común de la calidad del agua viene dada por el índice de calidad del agua. El número de muestras requeridas en un período determinado para cada parámetro monitoreado está relacionado con su importancia en el proceso. Los parámetros críticos deben

muestrearse varias veces durante el día, ya que la supervivencia de los camarones depende de ellos (Mahmudi et al., 2022).

Por ejemplo, las bajas concentraciones de oxígeno disuelto durante un período prolongado de tiempo pueden ser muy críticas para los camarones, ya que pueden causar varias enfermedades y ser la causa de un crecimiento lento. En el caso del parámetro pH, si está por debajo del valor de 4, el camarón puede sufrir muerte ácida, si está por encima de 11, el camarón podría enfrentar la muerte alcalina (Orozco-Lugo et al., 2022).

En cuanto a la temperatura, los valores de temperatura baja y alta están lejos de los valores sugeridos también producen una baja tasa de supervivencia. Es muy recomendable seguir un protocolo que garantice la medición de los parámetros con equipos calibrados, a la misma hora del día y en el mismo lugar, preferiblemente en la zona donde se encuentran los camarones en el estanque. Además, se recomienda tener un cronograma para medir los parámetros seleccionados. (Orozco et al., 2022).

## **2.2. Contaminantes comunes en las piscinas camaroneras, como el amonio y el nitrógeno inorgánico.**

Las fluctuaciones en las concentraciones de amonio tienen un impacto significativo en la actividad fagocítica, una función clave de los hemocitos encargados de eliminar organismos invasores. En este sentido, comprender cómo el amonio afecta al sistema inmunitario es crucial para desentrañar los mecanismos que subyacen al impacto de este factor estresante en la funcionalidad de los hemocitos, la cual está directamente relacionada con la inmunocompetencia de un organismo (Long et al., 2021).

Las tasas de nitrificación se ven afectadas por las concentraciones de nitrógeno amoniacal y nitrito, la relación C/N, niveles de oxígeno disuelto, pH, temperatura y alcalinidad,

desempeñando un papel crucial en el desarrollo de bacterias heterotróficas. En el contexto mencionado, en las piscinas camaroneras con tasas de alimentación excesivas, se observan concentraciones significativas de amonio (Kim et al., 2019). Investigaciones recientes indican que el amoníaco tiene efectos negativos en el aumento de peso, ocasiona alteraciones en la osmoregulación, afecta la actividad antibacteriana y perturba los procesos metabólicos, inmunológicos e histológicos debido al estrés experimentado por los organismos en cultivo (de Moraes et al., 2020).

### **2.3. Métodos de investigación de biorremediación en acuicultura**

La biorremediación es una tecnología prometedora para eliminar contaminantes de la atmósfera, reemplazar sustancias dañinas y prevenir la contaminación (Meril et al., 2022). Existen diferentes métodos de investigación y aplicación en biorremediación en acuicultura que pueden variar en función de las necesidades específicas del sistema acuático y el tipo de contaminante presente, como por ejemplo, se describen algunos de los métodos de investigación y técnicas comunes utilizados en este campo:

1. **Biorremediación microbiana:** Los microorganismos, como bacterias y hongos, son fundamentales en la degradación de contaminantes en el agua. Los investigadores estudian y desarrollan cepas de microorganismos capaces de descomponer contaminantes específicos, como aceites, metales pesados o compuestos orgánicos, y luego aplican estos microorganismos al sistema acuático para facilitar la descontaminación (Wang et al., 2019).
2. **Fitorremediación:** Se utiliza la capacidad de ciertas plantas acuáticas para acumular y metabolizar contaminantes. Los investigadores estudian qué plantas son más eficaces en la absorción y acumulación de contaminantes como metales pesados y nutrientes en exceso. Luego,

se plantan estas especies en los estanques de acuicultura para eliminar los contaminantes del agua (Nizam et al., 2020).

3. Biofiltración: Los sistemas de biofiltración utilizan microorganismos adheridos a un sustrato sólido para eliminar contaminantes del agua. En acuicultura, esto puede implicar la instalación de sistemas de biofiltración como filtros biológicos que descomponen amoníaco y nitritos, que son subproductos de la descomposición de los desechos orgánicos del organismo cultivado (Ogunfowora et al., 2021).

4. Utilización de organismos indicadores: Los investigadores pueden emplear organismos bioindicadores, como mejillones, para evaluar la calidad del agua y detectar la presencia de contaminantes. La salud y el comportamiento de estos organismos pueden proporcionar información valiosa sobre la presencia de contaminantes en el sistema (Tucker & Hargreaves, 2009).

5. Mejora de prácticas de manejo: Además de los métodos biológicos, la investigación en biorremediación en acuicultura también se centra en el desarrollo de prácticas de manejo sostenibles que reduzcan la liberación de contaminantes en el agua. Esto puede incluir estrategias para minimizar la sobrealimentación, mejorar la gestión de residuos y controlar la calidad del agua.

6. Monitoreo ambiental: La investigación en biorremediación en acuicultura implica un monitoreo constante de la calidad del agua y la salud de los organismos acuáticos. Se utilizan instrumentos de medición y análisis químicos para evaluar los niveles de contaminantes y determinar la efectividad de las medidas de biorremediación implementadas (Bates et al., 2021).

7. Modelos matemático: Los científicos utilizan modelos matemáticos para predecir y comprender cómo se comportarán los contaminantes en un sistema acuático y evaluar la eficacia de las estrategias de biorremediación antes de su implementación a gran escala (Tanveer et al., 2020).

La investigación en biorremediación en acuicultura implica una variedad de métodos y enfoques, desde la aplicación de microorganismos y plantas hasta la mejora de prácticas de manejo y el monitoreo ambiental constante. El objetivo principal es mantener un ambiente acuático saludable y sostenible para la cría de organismos acuáticos mientras se reducen o eliminan los contaminantes presentes.

## **2.4. Levaduras marinas**

### **2.4.1. Definición**

Las levaduras son microorganismos unicelulares de forma oval que se reproducen mediante gemación o fisión. La gemación se manifiesta como un brote en la superficie de la célula madre, del cual se origina una nueva célula que se separa eventualmente de la célula madre. Por otro lado, la fisión se refiere a la división de la célula madre en dos células hijas. Aunque muchas especies de levaduras son siempre unicelulares, algunas pueden adoptar una forma de crecimiento bifásico o dimórfico cuando se encuentran en condiciones ambientales adecuadas en términos de nutrientes o temperatura (Toro & Piontelli, 2019).

Desde la perspectiva taxonómica, estos microorganismos se clasifican en la división Eumicota. Su reproducción sexual permite dividirlos en tres subdivisiones: Ascomicotina, que abarca levaduras capaces de formar esporas contenidas dentro de una estructura llamada asca; Basidiomicotina, donde los representantes producen esporas externas ubicadas en basidios o esterigmas; y, finalmente, el grupo Deuteromicotina, que engloba levaduras que carecen de una fase sexual en su ciclo de vida y se reproducen exclusivamente por fisión o gemación (Latisnere-Barragan et al., 2006).

#### 2.4.2. Masificación de levaduras

La intensificación de las operaciones en las industrias acuícolas ha tenido un impacto desfavorable en las condiciones del agua y los sedimentos presentes en los estanques destinados a la cría de camarones, lo que ha generado tensiones en el entorno ambiental. En este contexto, es importante destacar que las levaduras son componentes naturales comunes en el agua de mar y, según el estudio de Deng et al. (2013), tienen el potencial de influir positivamente en el bienestar y la salud de los animales al modular el ecosistema microbiano circundante.

Para abordar este desafío, se ha propuesto el uso de ciertos probióticos, que implican la manipulación y el cultivo controlado de microorganismos en los estanques con el objetivo de mejorar la descomposición de la materia orgánica, lo que conlleva a una mejora en la calidad del agua y, en última instancia, en la cría de camarones más saludables, como se ha señalado en los trabajos de Ninawe & Selvin (2009) y Silva et al. (2012).

El amoníaco, un compuesto nitrogenado residual, se erige como un estrés ambiental de considerable significancia en el contexto de la producción intensiva de camarones. Este factor conlleva la inducción de una serie de modificaciones fisiológicas, abarcando el incremento del consumo de oxígeno, la perturbación de la homeostasis, así como una supresión del sistema inmunológico, todas estas manifestaciones incidiendo de manera adversa en el desarrollo normal, el estado de salud y la tasa de supervivencia de los crustáceos, tal como lo han documentado Cobo et al. (2014) y Thirumurugan & Vignesh (2015).

El control de los niveles de amoníaco en los estanques utilizados para la cría de camarones está intrínsecamente vinculado a otros indicadores de calidad del medio, tales como el pH, la concentración de oxígeno y la temperatura (Ulhaq et al., 2022). La aplicación de *S. cerevisiae*, específicamente la variante DV Aqua, ha demostrado efectos notables en la reducción de la

concentración de  $\text{NH}_3\text{-N}$ , la demanda química de oxígeno, y el contenido de sulfuro, tanto en el agua como en los sedimentos presentes en los estanques destinados al cultivo de camarones de la especie *L. vannamei*, como respaldado por los hallazgos de Deng et al. en su investigación de 2013.

No obstante, es importante señalar que la levadura podría haber operado en calidad de probiótico, regulando la composición de la microflora en los sedimentos y propiciando una mayor descomposición de la materia orgánica, lo cual conlleva a la reducción de la presencia de productos indeseables y a una disminución en la producción de gases tóxicos, como sugieren los descubrimientos de Deng et al. (2013).

### **2.5. Características y propiedades de las levaduras marinas.**

Las levaduras marinas, microorganismos unicelulares pertenecientes al reino Fungi, exhiben características particulares adaptadas a su entorno acuático. Su unicelularidad y capacidad de reproducción por gemación les confieren una estructura simple pero efectiva (Burini et al., 2021). Estos organismos poseen un metabolismo destacado por su habilidad para realizar la fermentación, convirtiendo los azúcares en alcohol y dióxido de carbono, y su adaptabilidad a entornos marinos les permite sobrevivir en condiciones salinas, aprovechando los nutrientes presentes en el agua del mar (Starmer & Lachance, 2011)

Además, su resistencia a condiciones adversas, como altas concentraciones de salinidad, los hace aptos para prosperar en ambientes marinos desafiantes. Las levaduras marinas también han despertado interés por sus posibles aplicaciones industriales, desde la producción de biocombustibles hasta la participación en procesos biotecnológicos específicos de estos ecosistemas acuáticos (Long et al., 2021).

Este enfoque también contribuye a nuestra comprensión de por qué diversas especies eligen habitar entornos particulares. Además, es crucial destacar que los hongos no pueden obtener

nitrógeno directamente de la atmósfera. En cambio, las levaduras adquieren nitrógeno mediante el anabolismo de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes nitrogenados esenciales, ya sea en forma reducida u oxidada (Spencer,1997).

Las levaduras pueden encontrarse en diferentes nichos, esto se muestra en la tabla 1, ya que al emplearse en diferentes fuentes de nitrógeno amplia esta capacidad, además también se muestra la información sobre el hábitat de estos microorganismos (Starmer & Lachance,2011). Por lo general, las levaduras marinas toleran diferentes rangos de pH y se encuentran puntualmente en ambientes ácidos, en los cuales muchas de las bacterias no pueden sobrevivir ni competir con estas (Mohammed et al., 2023).

Tabla 1 Moléculas asimilables por levaduras

Tipo de molécula	Naturaleza	Ejemplo
Moléculas inorgánicas	Fuentes de nitrógeno	Nitratos, nitritos
Moléculas orgánicas	Fuentes de nitrógeno	etilamina, lisina, creatinina, creatina, cadaverina
Moléculas fermentables	Azúcares	fructosa, glucosa, sacarosa, maltosa, melibiosa, rafinosa, lactosa, galactosa, trehalosa
	Azúcares de pentosa	D-xilosa, L- y D-arabinosa, D-ribosa
	Metilpentosas	D-ramnosa, D-fucosa
	Alcoholes primarios	Metanol, etanol, propanoles
	Alcoholes de azúcar	Glicerol, eritritol, ribitol, D-arabitol, galactitol, manitol, glucitol
Moléculas no fermentables	Amino azúcares	D-glucosamina, N-acetil-D-glucosamina, D-galactosamina
	Ácidos orgánicos	Láctico, succínico, cítrico, málico
	Otros compuestos	Acetona, acetato de etilo, meso-inositol, ácido glucurónico
	Hidrocarburos de cadena lineal o ramificada y compuestos aromáticos	Antraceno, fenantreno y otros hidrocarburos aromáticos cíclicos

<sup>1</sup>Elaborado de Kurtzman et al., 2011d; Payne et al., 2011; Starmer y Lachance, 2011.

Algunas levaduras no pueden crecer en ambientes con temperaturas muy elevadas por ejemplo a temperaturas de 42 °C, pero las que pueden sobrevivir a estas temperaturas por lo general

no se desarrollan completamente, con la ventaja que pueden habitar en el intestino de los animales de sangre caliente (Lachance & Walker, 2018). Las levaduras psicrófilas se desarrollan en diferentes intervalos de  $-5$  a  $+5$  °C,  $12$  a  $15$  °C y  $15$  a  $20$  °C, estas viven en hábitats como los casquetes polares y diferentes profundidades de océanos (Nagano et al., 2010; Vaca et al., 2013; Lachance & Walker, 2018).

De acuerdo con Nagano et al. (2010), las levaduras de origen marino se han hallado en todos los océanos del mundo, en ambientes costeros, en diferentes profundidades de los océanos, en sedimentos. Sin embargo, en 1975 que se asentó la primera definición de lo que puede considerarse como una levadura marina: *“Una levadura puede considerarse como levadura marina cuando puede ser aislada en cultivo puro de un ambiente marino y luego demostrar que es capaz de reproducirse en tal ambiente, además de presentar otras características que la distinguen de cualquier levadura conocida, aislada de ambientes terrestres (Morris, 1975).”*

## **2.6. Funciones y beneficios de las levaduras marinas en los sistemas acuáticos.**

Las levaduras marinas cumplen funciones cruciales en los ecosistemas acuáticos, desempeñando roles esenciales en la descomposición de materia orgánica, el ciclo de nutrientes, la alimentación de otros organismos, la biodegradación de contaminantes y las interacciones simbióticas. Contribuyen de manera significativa al mantenimiento de la salud y la biodiversidad de los sistemas acuáticos al reciclar nutrientes, servir como fuente de alimento y desempeñar funciones ecológicas fundamentales (Ahearn, 2023).

En las comunidades microbianas de las zonas costeras, las levaduras marinas son elementos esenciales y desempeñan un papel significativo en el equilibrio de los ecosistemas de manglares. Además, son parte integral de las dietas naturales de peces, crustáceos y moluscos. Diversas especies de levaduras, pertenecientes a géneros como *Candida*, *Devaryomyces*, *Saccharomyces* y

*Schizosaccharomyces*, se encuentran en los manglares, como se detalla en la investigación mencionada (Ahmed, 2019).

### **2.7.Mecanismos de acción de las levaduras marinas en la reducción de amonio y nitrógeno inorgánico.**

En un estudio realizado por Yun y colaboradores en el (2021), se investigaron levaduras marinas con la capacidad de eliminar amonio, para ello, se utilizaron medios de cultivo específicos, como el YPD (medio complejo para levaduras) y el IMAR (medio de aislamiento para levaduras con capacidad de eliminación de amoníaco), el proceso de aislamiento y selección de cepas se realizó mediante incubación, purificación y evaluación de la eliminación de nitrógeno amoniacal en los medios de cultivo, finalmente, se seleccionó la cepa con mayor capacidad de eliminación de amoníaco para experimentos posteriores.

Lo más importante en este texto es que la levadura YLY01 mostró una notable capacidad para eliminar el nitrógeno amoniacal del agua en un grupo experimental durante un tratamiento de 48 horas, reduciendo la concentración de 9.8 mg/l a 1.3 mg/l con una tasa de eliminación del 86.7%, en contraste, el grupo de control apenas experimentó cambios en la concentración de nitrógeno amoniacal. Esto indica que la levadura YLY01 es altamente eficaz en la eliminación de nitrógeno amoniacal en condiciones de baja fuente de carbono, y durante este proceso no se detectó la formación de nitrito en ninguno de los grupos.

Otro estudio realizado por Zeng y colaboradores en el (2020), la cepa Y1 se aisló de agua de acuicultura marina, y analizó la capacidad de la levadura *Sporidiobolus pararoseus* cepa Y1 para eliminar nitrógeno y su crecimiento en condiciones aeróbicas utilizando cinco fuentes de carbono. La cepa Y1 demostró la capacidad de eliminar nitrógeno amoniacal mientras crecía en un solo experimento. *Sporidiobolus pararoseus*, demostró tolerancia a una amplia gama de

concentraciones de amonio, en condiciones de alta concentración de amonio, se alcanzaron eficiencias máximas de eliminación de amonio del 98.67%, 74.71%, y 65.68% con glucosa, citrato y sacarosa, respectivamente. A concentraciones medias de amonio, las eficiencias fueron del 94.54%, 66.91%, y 53.58%, respectivamente. A concentraciones bajas de amonio, se observaron eficiencias máximas del 99.85%, 97.47%, y 93.42%. Estos resultados sugieren que la capacidad de eliminación de amonio de Y1 no se ve afectada significativamente por la concentración inicial de amonio cuando se utiliza glucosa como fuente de carbono.

En un estudio realizado por Fang et al., (2021) , la cepa de levadura K1, aislada del sedimento superficial, se identificó como *Barnettozyma californica*. La cepa mostró nitrificación heterótrofa y desnitrificación aeróbica (HN-AD), las eficiencias máximas de eliminación de amonio, nitrito y nitrato fueron 99,11%, 99,13% y 98,84% en 48 h de cultivo con sacarosa a 140 mg/l de nitrógeno y las correspondientes eficiencias de eliminación de nitrógeno total fueron 90,16%, 86,65% y 81,48%. respectivamente. Las condiciones óptimas para la eliminación del nitrógeno inorgánico y el crecimiento de la cepa K1 fueron una C/N de 18 y una salinidad de 5-15 ppt.

## CAPITULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1.Ubicación del área de estudio.

El estudio se llevará a cabo en el Laboratorio de Sanidad Vegetal ubicado en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, la cual se encuentra ubicada en el Cantón Machala, Provincia de El Oro, con las siguientes coordenadas: -3,2914037 y -79,9137593



**Fuente:** *Google Earth* (2023)

#### 3.2.Equipos y Materiales

##### Materiales

- Cajas Petri
- Vasos de precipitación
- Recipientes plásticos
- Mechero
- Asa de Drigalski
- Envases de plástico
- Espátula

- Tubos de ensayo
- Papel aluminio
- Pipetas
- Rotuladores
- Fundas
- Mascarilla
- Mandil

### **Equipos**

- Autoclave
- Cámara de flujo
- Estufa
- Balanza
- Incubadora
- pHmetro

### **Sustancias**

- Alcohol industrial (90%)
- Agua destilada
- Agar Saboraud
- 1 l de agua destilada
- 0,65 g de superfosfato de sodio
- 1,5 g de urea
- 10 ml de melaza
- 0,8 ml de ácido muriático
- Kits de Amonio, nitrito y nitrato

### **3.3. Metodología**

Para el desarrollo de la presente investigación se realizaron ensayos para evaluar el efecto antagónico de las levaduras marinas sobre la absorción de amonio, nitrito y nitrato en agua de piscinas camaroneras.

### **3.3.1. Obtención de las muestras de sedimento**

Se recolectaron muestras de 500 g del sedimento del manglar g tomadas a 10 cm de la capa superior, que serán colocadas en recipientes esterilizados, y cerrados herméticamente. Las muestras se mantendrán a temperaturas entre 4 y 10°C, hasta llegar al laboratorio (Velásquez & Solorzano, 2021).

### **3.3.2. Desinfección del área de estudio**

Antes de empezar con el análisis de las muestras obtenidas, se desinfectaron tanto la Cámara de flujo como también el mesón donde se colocaron las muestras, estufa y medios de cultivo, para así poder prevenir cualquier tipo de infección que se podría llegar a obtener en el laboratorio. Se utilizó alcohol industrial (90%) cómo desinfectante.

### **3.3.3. Aislamiento y cultivo de levadura**

Para el cultivo se colocó un microgramo de sedimento de manglar en la placa la cual ya está lista con el Agar Sabouraud. Luego se selló la caja Petri con plástico y se dejó reposar en la autoclave con una temperatura de 35°C y por 48 horas para analizar la placa.

Una vez pasadas las 48 horas, se visualizó las placas las cuales tenían una capa blanca, por lo cual para determinar y confirmar que son levaduras se procedió a cultivarlas.

Para el cultivo de la levadura en primera instancia tenemos que tener una botella que sea de un litro o de un poco más de un litro para poder utilizarla y colocar el litro de agua destilada. En esta se colocó 1 litro de agua destilada. También los nutrientes (superfosfato de sodio y urea), 10ml la melaza y 0.8 ml ácido muriático. Se observó el incremento de las levaduras en un ambiente ácido (pH 2-3) y en un ambiente ligeramente ácido (pH 4-5).

Una vez preparado el medio de cultivo se procedió a colocar una porción de moho de levadura obtenida en la placa Petri, la cual fue preparada con el agua peptona. Se dejó actuar 48 horas para

poder visualizar por medio del microscopio y confirmar que son efectivamente las levaduras que se están proliferando. Una vez que se verificó que efectivamente son las levaduras procedimos a realizar la fase de cultivo de levaduras.

#### **3.3.4. Cuantificación de las levaduras**

Se utilizó una cámara de Neubauer, un cubreobjetos, un microscopio, un gotero y 1 ml de muestra para llevar a cabo el conteo de levaduras marinas. Una gota de muestra se colocó en la cámara de Neubauer y se cubrió con el cubreobjetos (Zhang et al., 2020). Luego, se colocó la cámara en el microscopio para llevar a cabo el conteo de las levaduras.

En el proceso de contar en la cámara de Neubauer, se consideraron los cuadrantes presentes en la misma. Se seleccionaron aleatoriamente 5 de los 25 cuadrantes del cuadrante central, como se muestra en la imagen proporcionada para una mejor comprensión. Dentro del cuadrante central, que contiene 16 cuadros, se contabilizaron los microorganismos, específicamente las levaduras de interés. Se calculó un promedio basado en esta contabilización, que se multiplicó por los 25 cuadrantes y, finalmente, por 10.000 para obtener el resultado final.

#### **3.3.5. Control de cultivo de levaduras y su crecimiento**

Se monitoreó y controló el crecimiento de las levaduras al ajustar el pH a niveles óptimos para su proliferación. El pH, fundamental para su desarrollo, se mantuvo en un ambiente ácido (pH 2-3) y ligeramente ácido (pH 4-5). Además, se garantizó un medio de cultivo propicio para su crecimiento al mantener niveles adecuados de nutrientes, se proporcionó aireación y se utilizó melaza como fuente de carbono.

#### **3.3.6. Cálculo de la velocidad de crecimiento**

La tasa de crecimiento microbiano se puede calcular a partir de OD (densidad óptica) usando la siguiente fórmula:

$$\mu = (\ln OD_2 - \ln OD_1) / (t_2 - t_1)$$

Donde:  $\mu$  = tasa de crecimiento bacteriano (por hora o por minuto)

$\ln$  = natural logaritmo

$OD_2$  = la lectura de densidad óptica final en el momento  $t_2$

$OD_1$  = la lectura de densidad óptica inicial en el momento  $t_1$

$t_2 - t_1$  = el intervalo de tiempo entre las dos lecturas

Se realizaron dos mediciones de la densidad óptica (OD) en el cultivo bacteriano en momentos distintos ( $t_1$  y  $t_2$ ), empleando un espectrofotómetro u un dispositivo semejante. Se calculó el logaritmo natural para cada lectura de OD ( $\ln OD_1$  y  $\ln OD_2$ ), junto con el intervalo de tiempo entre ambas mediciones ( $t_2 - t_1$ ). Luego, se aplicaron estos valores en la fórmula previamente mencionada para determinar la tasa de crecimiento bacteriano ( $\mu$ ). La tasa de crecimiento se expresó en unidades por hora o por minuto, dependiendo del intervalo de tiempo utilizado en el cálculo. Es crucial destacar que esta fórmula asume que el crecimiento bacteriano sigue una fase logarítmica (exponencial) durante el lapso entre ambas mediciones de la densidad óptica (Sun et al., 2022).

### **3.3.7. Preparación de unidades experimentales**

#### **3.3.7.1. Diseño Experimental**

El diseño experimental del estudio del efecto de las levaduras en la degradación de amonio que se utilizó en la investigación consistió de recipientes plásticos de 1 l de agua dispuestos de manera ordenada en un ambiente controlado. Siendo el factor de estudio las concentraciones de levaduras marinas que serán inoculadas en el agua de cada ensayo.

Se trabajará con cuatro ensayos

- Tratamiento 1: Agua químicamente pura + aireación + levaduras
- Tratamiento 2: Agua químicamente pura+ sin aireación + levaduras

- Tratamiento 3: Agua químicamente pura + aireación
- Tratamiento 4: Agua químicamente pura + sin aireación
- Tratamiento 5: Agua de camaronera + aireación + levadura
- Tratamiento 6: Agua de camaronera + sin aireación + levadura
- Tratamiento 7: Agua de camaronera + aireación
- Tratamiento 8: Agua de camaronera + sin aireación

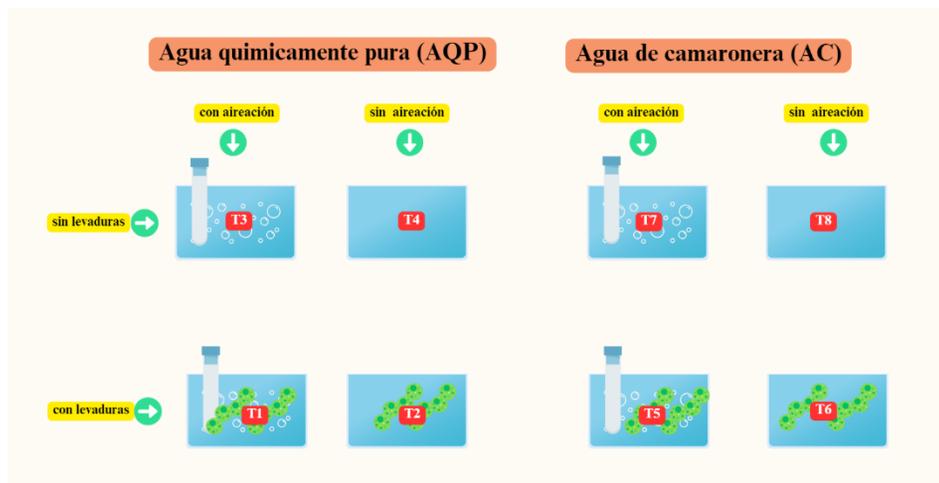


Gráfico 1 Diseño experimental

Se trabajó con una sola dosificación y tres réplicas (1x4): Dosis de levadura:  $1 \times 10^7$  UFC/ml de levaduras. Se tomó las concentraciones (mg/l) por medio de kits de amonio, nitrito y nitrato, cada dos horas.

## CAPITULO IV

### 4. Resultados

#### 4.1. Cultivo y crecimiento de levaduras

El gráfico 1 muestra la curva de crecimiento de levaduras en ambiente ácido alcanzando una concentración de 5'850.000 UFC/ml al primer día, e incrementándose posteriormente hasta el segundo día cuando alcanzó una concentración de 8'950.000 UFC/ml, o sea se detectó un incremento del 65% a la concentración anteriormente registrada. Posteriormente, entre el tercer y cuarto día de cultivo se registró un descenso en la concentración de levaduras llegando a 2'100.000 UFC/ml, sin embargo, de manera inmediata se observó. Un incremento exponencial de levaduras a partir del sexto día hasta el final, alcanzando 13'050.000 UFC/ml.

Cabe destacar que, en el primer ensayo de cultivo de levaduras, hasta el segundo día de cultivo el pH estaba con un promedio de 4.48. Al tercer día el pH se incrementó a 8.12. Para sostener condiciones ideales de cultivo de levaduras, la aplicación del ácido muriático permitió descender el pH a 2.60 valor que fue sostenido hasta el final.

La curva de crecimiento de las levaduras en un entorno ligeramente ácido, se observó un aumento significativo el segundo día, alcanzando una concentración de 3,550,000 UFC/ml. Después de 1 día, la concentración disminuyó a 2,700,000 UFC/ml, lo que representa un descenso del -23.94%. Es importante destacar que no se añadió ningún tipo de ácido al cultivo para reducir su pH. A los cuatro días, se registró un nuevo aumento, alcanzando 3,500,000 UFC/ml, es decir, un aumento del +24%. A lo largo de los nueve días, la concentración continuó en aumento hasta llegar a 6,950,000 UFC/ml, marcando un incremento del +49.64%. Sin embargo, un día después, la concentración disminuyó a 3,850,000 UFC/ml, culminando el cultivo con un decrecimiento después de experimentar variaciones en el crecimiento desde el inicio.

En el segundo experimento de cultivo de levaduras en un entorno ligeramente ácido, el pH se mantuvo constante, promediando 4.09 desde el inicio hasta el noveno día. No obstante, en el décimo día, se observó una variación, registrando un pH de 5.71.

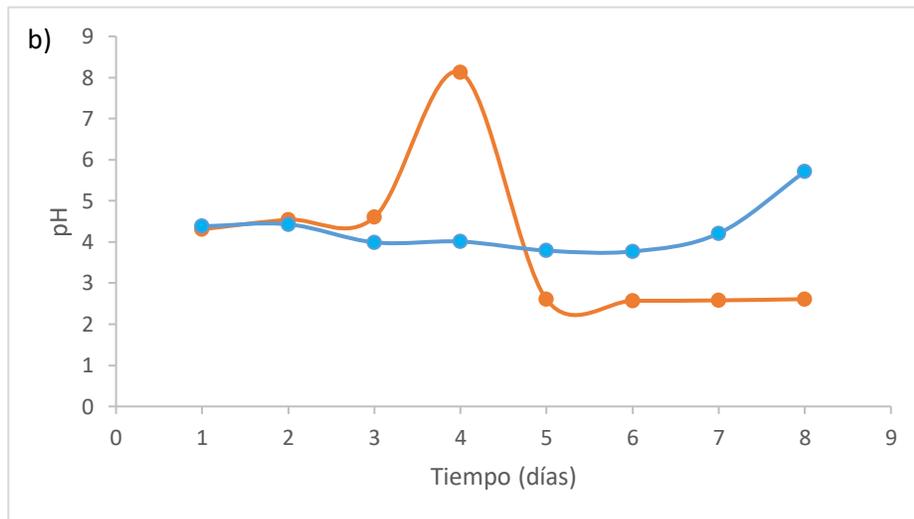
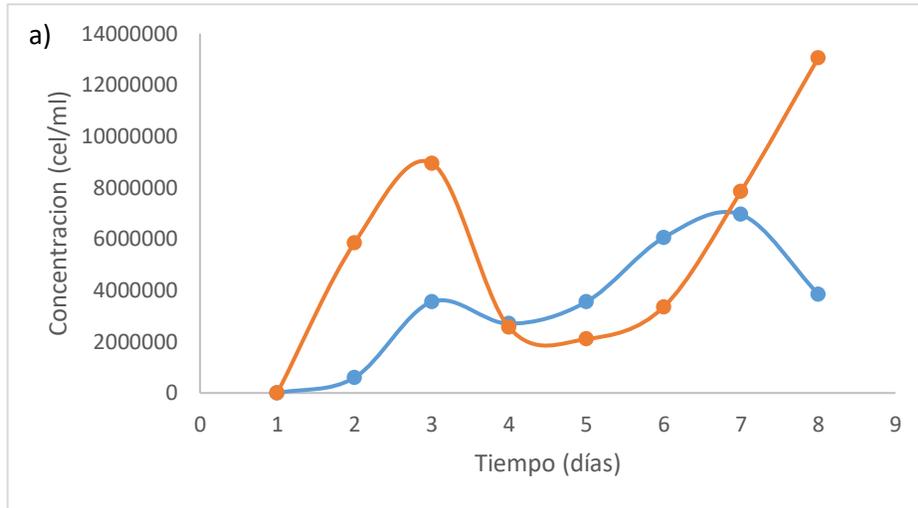


Gráfico 1 a) Crecimiento de levaduras marinas en medio ácido (pH 2.5) y ligeramente ácido (pH 4.5) en diez días de cultivo b) Variación de pH  
La línea roja muestra el crecimiento de levaduras a pH ácido y la línea azul en pH ligeramente ácido.

#### 4.2. Ensayos experimentales con el uso de levaduras para evaluar la degradación de amonio, nitrito y nitrato

CONCENTRACIÓN DE NH <sub>4</sub> (mg/L)								
Tiempo	Agua de camaronera con levaduras		Agua de camaronera		Agua Químicamente pura con levaduras		Agua Químicamente Pura	
	Con aireación	Sin aireación	Con aireación	Sin aireación	Con aireación	Sin aireación	Con aireación	Sin aireación
0	4	4	4	4	4	4	4	4
1	2	3	3	4	1	3	2	4
2	1	2	2	4	0,5	2	2	4
3	0,25	2	2	3	0,25	2	2	4

Tabla 2 Concentraciones de amonio de los tratamientos

La Tabla 1 presenta los valores promedio en mg/l de amonio para los distintos tratamientos. Según los resultados, todos los tratamientos iniciaron con una concentración de amonio de 4 mg/l. Se observó que las concentraciones de agua de camaronera y agua químicamente pura, en los dos tratamientos con levaduras y aireación, experimentaron reducciones idénticas, alcanzando una concentración de 0.25 mg/l en el tiempo 3. En contraste, las concentraciones de los dos tratamientos de agua de camaronera y agua químicamente pura con levaduras, pero sin aireación mostraron reducciones iguales, llegando a una concentración de reducción de 2 mg/l en el tiempo 3. Además, la reducción entre los tratamientos de agua de camaronera y agua químicamente pura solo con aireación fue igual, alcanzando una concentración de 2 mg/l. Por último, los tratamientos de agua de camaronera sin aireación experimentaron una reducción de 1 mg/l, mientras que en el agua químicamente pura sin aireación la concentración de amonio se mantuvo constante.

El Gráfico 2 demuestra la disminución porcentual, destacando una reducción del 94% de amonio en agua de camaronera y agua químicamente pura en los dos tratamientos con levaduras y aireación. En contraste, muestra una similitud entre el agua químicamente pura con levaduras y sin aireación, y el agua químicamente pura con aireación, ambos con un porcentaje de reducción del 50%. Por otro lado, el agua químicamente pura sin aireación experimentó una reducción del 25%, mientras que el tratamiento de agua químicamente pura sin levaduras y sin aireación no mostró ninguna reducción, manteniéndose en un 0%.

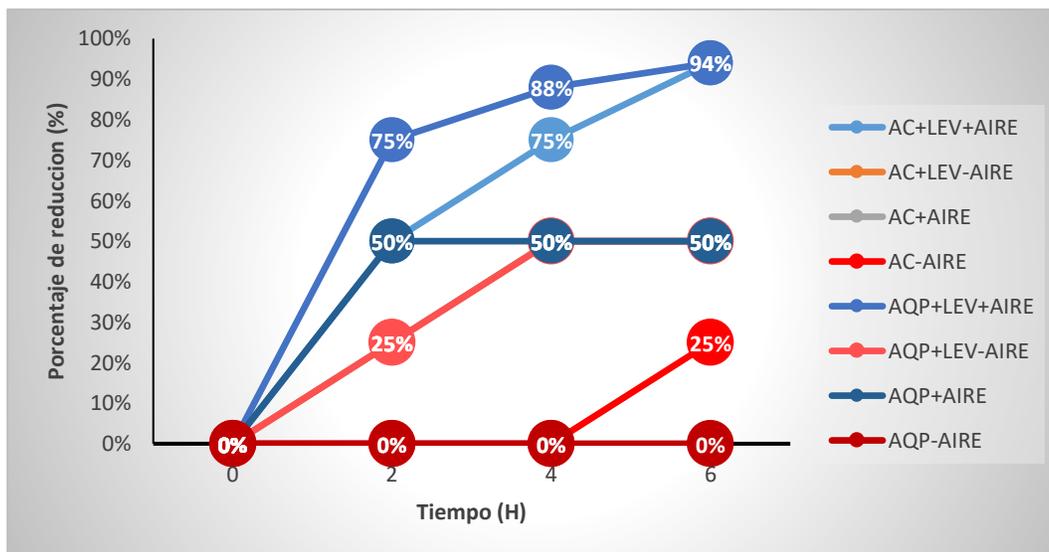


Gráfico 2 Porcentaje de reducción de amonio de los diferentes tratamientos.

El gráfico 3 exhibe la concentración de nitrito; al observarlo detenidamente, se percibe una constancia en los niveles, sin evidencia de fluctuaciones en ninguno de los tratamientos. De manera consistente, la concentración se mantuvo en un nivel de 0 mg/L a lo largo del periodo analizado.



Gráfico 3 Concentración de Nitrito

El grafico 4, destaca las concentraciones de nitrato, en la cual todos los tratamientos comenzaron con una concentración de 5 mg/L y se redujo a 1 mg/L irrelevantemente si hubo o no aireación o levaduras.

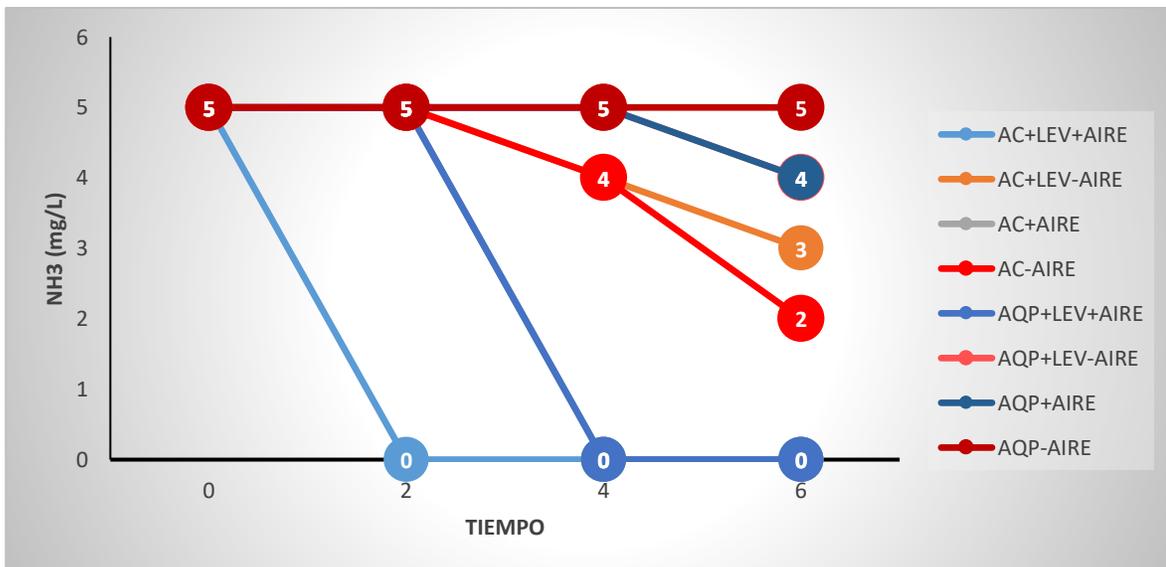


Gráfico 4 Concentración de Nitrato

En el gráfico 4, se observa que todos los tratamientos comienzan con una concentración de 5 mg/L de nitrato. En el agua de camaronera con aireación y dosificación de levaduras, la concentración se reduce en 5 mg/L a las dos horas. Por otro lado, en el agua químicamente pura con aireación y levaduras, la misma reducción se logra a las cuatro horas. De manera similar, en el agua de camaronera con aireación y sin levaduras, así como en el agua químicamente pura con aireación y sin levaduras, la reducción es de 2 mg/L. En el caso del agua de camaronera sin aireación y sin levaduras, se reduce 1 mg/L, al igual que en el agua químicamente pura con aireación y sin levaduras. Mientras que en el agua químicamente pura con levaduras y sin aireación, la reducción es de 3 mg/L. Finalmente, el agua químicamente pura sin levaduras marinas y sin aireación no muestra ninguna reducción.

## **5. Discusión**

### **5.1. Crecimiento de Levaduras**

Los resultados del cultivo de levaduras indican que estos organismos se multiplicaron de manera diferente acorde al pH del medio. El cultivo de levaduras pH ácido (pH 2-3) demostró una fase exponencial preliminar con  $155.820 \mu\text{max}$  y cuando se las expuso a condiciones más ácidas su factor de multiplicación alcanzó a  $157.228 \mu\text{max}$ . De manera interesante, después de los dos días, cuando las levaduras estaban descendiendo el pH subió hasta llegar a un punto de ser alcalino alcanzando  $144.181 \mu\text{max}$ .

Mientras que el cultivo de levaduras a pH ligeramente ácido el crecimiento fue menor al cultivo de condiciones ácidas, con un ascenso y descenso en el tiempo, y estable el pH. La proliferación de las levaduras, en registro incrementos poco relevantes como 20% al 30%.

En referencia al pH en etapa de crecimiento de levaduras Vieira et al., (2013), indican que el pH inicial para un óptimo crecimiento de las levaduras es de 4.5. Esta investigación se confirma con

los resultados obtenidos en el presente trabajo, e incluso corrobora lo ocurrido en el cultivo de condiciones acidas, cuando el pH llego a condiciones alcalinas (pH8.12) evidenciándose que la concentración de levaduras desciende significativamente. Se detectó que en ambos ensayos tanto con pH ácido y pH ligeramente acido, las levaduras mantuvieron en buenas condiciones a un pH en un rango de 2-4.5. coincidiendo con lo reportado por autores Tuite y Oliver, 1991.

De acuerdo con la investigación de Garzón y Hernández (2009), se recomienda un periodo de acondicionamiento óptimo de 4 días con el fin de disminuir la duración de la fase de latencia. Nuestra investigación respalda esta recomendación, ya que, al mantener las condiciones ideales, observamos que después del cultivo el número de levaduras no vario, pero estas aumentaron la masa celular y lo comprobamos mediante la observación en la cámara de Neubauer.

## **5.2.Efecto de las levaduras en la reducción de amonio**

Según Yun et al., (2021), en su estudio sobre la eliminación de amonio de la cepa seleccionada, prepararon 1000 ml de agua de mar filtrada y esterilizada (pH 8,0), que contenía nitrógeno amoniacal (10 mg/l), fuentes de carbono (1 g/l) y extracto de levadura (0,5 g/l), para simular el agua de cultivo. Las células de levadura se cultivaron durante la noche y se ajustaron a una concentración de aproximadamente  $2 \times 10^7$  UFC/ml. Después de un tratamiento de 48 horas con la levadura *Rhodospordium sphaerocarpum* YLY01 en el grupo experimental, la concentración de nitrógeno amoniacal en el agua de cultivo simulada disminuyó de 9,8 mg/l a 1,3 mg/l, logrando una tasa de eliminación del 86,7%.

En el gráfico 2, parte A, se muestra la curva obtenida por Yun et al. en la que después de 6 horas de exposición, la concentración de nitrógeno amoniacal en el agua de cultivo simulada disminuyó aproximadamente 1.7 mg/l. Asimismo, se observó que en el grupo control, a las 3 horas, estos investigadores registraron una disminución de 0.3 mg/l en la concentración de amonio y a

las 6 horas, registraron un aumento que compensó la degradación inicial. El resultado del presente estudio, se muestra en el mismo gráfico 2 parte B, donde, en el mismo periodo de tiempo, el agua de camaronera con levaduras y sin aireación experimentó una reducción de 1.75 mg/l, mientras que el agua de camaronera con levaduras y aireación mostró una reducción de 3 mg/l en 6 horas. La reducción de amonio con aireación facilitó los procesos de degradación de este nutriente, en presencia de levaduras en el agua. En el grupo control del mismo, no se evidenció variación en la concentración de amonio en el agua de camaronera sin aireación, mientras que, en el agua de camaronera con aireación, se observó una reducción de 1 mg/l a las 6 horas. Esto sugiere que el efecto de aireación contribuye a un mínimo porcentaje de degradación de amonio.

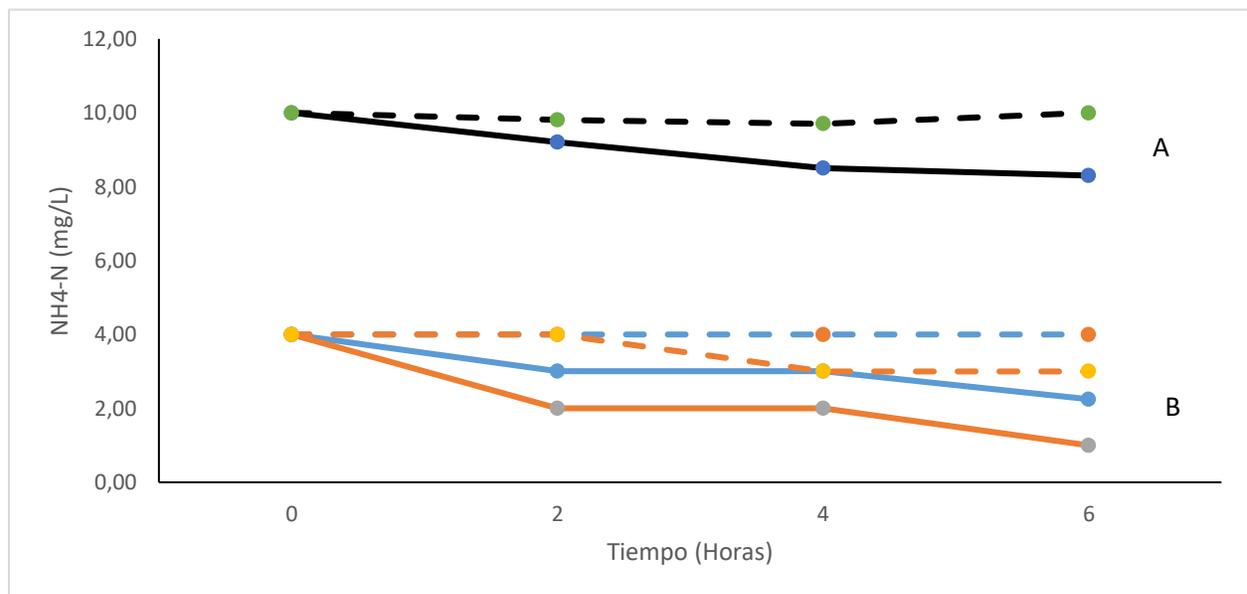


Gráfico 5 Comparación de resultados en la condición de degradación de amonio por medio de levaduras marinas.

- A) La línea negra grupo experimental tratado con *Rhodospiridium sphaerocarpum*; línea entrecortada negra grupo control tratado con agua de mar esterilizada. (n = 3) Yun et al., (2021)
- B) La línea naranja representa el grupo experimental de agua de camaronera y Levadura sp. con aireación y la línea naranja entrecortada representa el control de la misma. La línea azul representa el agua de camaronera sin aireación con Levadura sp.; la línea azul entrecortada es el control de la misma. Datos de la presente investigación.

### **5.3.Efecto de las levaduras en la reducción de nitrato**

En un estudio realizado por Zeng et al. (2020), se observó que la disminución de  $\text{NO}_3$  en los cultivos estaba directamente relacionada con el crecimiento de la cepa *Sporidiobolus pararoseus*. Se evidenció que, en los cultivos con niveles altos, medios y bajos de nitrato, las eficiencias de eliminación de nitrato mediante el uso de glucosa fueron del 83,47 %, 83,25 % y 92,20 %, respectivamente. Estas eficiencias se tradujeron en tasas máximas de eliminación de nitrato de 4,81 mg/L/h, 2,84 mg/L/h y 0,39 mg/L/h, respectivamente.

Destacando resultados de este trabajo, se encontró que la reducción máxima de nitrato alcanzada fue de 5 mg/L en las primeras 2 horas, logrando una eliminación del 100%. Es crucial señalar que los tratamientos que alcanzaron este resultado incluyeron dosis de levaduras y aireación. En contraste, en condiciones sin aireación, pero con levaduras, se logró una reducción del 100% a las 4 horas en agua de camaronera. En el grupo de control con aireación, se observó una reducción del 100% a las 4 horas. Sin embargo, en el caso de la falta de aireación y levaduras, solo se alcanzó un 10% de reducción en el mismo periodo de tiempo. Estos hallazgos resaltan la importancia de la combinación de levaduras y aireación para maximizar la eficiencia en la eliminación de nitrato en el agua de camaronera.

### **5.4.Efecto de las levaduras en la reducción de nitrito**

En el estudio de Fang et al. (2021), con lo que respecta a nitrito, comenzaron con una concentración inicial en cargas altas (140 mg/L), medias (70 mg/L) y bajas (14 mg/L). Con su rápido crecimiento, la cepa podría reducir continuamente los nitritos, los cultivos que contenían nitrito a 140, 70 y 14 mg/l, las eficiencias de eliminación de nitrito glucosa fueron  $97,75\% \pm 1,00\%$ ,  $94,00\% \pm 2,20\%$  y  $91,61\% \pm 5,69$ , pero esto tomo un tiempo de 48 horas. En nuestro trabajo no hubo ningún cambio significativo y fue constante al tener 0 mg/L, debido a que la transformación a nitrito se comienza

a notar a las 12 horas según la investigación y el trabajo expuesto tuvo un rango de 6 horas, además que la concentración era mucho más alta  $2.4 \times 10^7$  UFC/ml de *Barnettozyma californica*.

## 6. CONCLUSIONES

El crecimiento de levaduras se vio afectado por el pH del medio, mostrando una fase exponencial en condiciones ácidas (pH 2-3) con una tasa de multiplicación máxima de 157.228  $\mu$ max. Sin embargo, en condiciones ligeramente ácidas, el crecimiento fue menor. El pH óptimo para el crecimiento de levaduras se encuentra en un rango de 2- 4.5.

En cuanto al efecto de las levaduras en la reducción de amonio en el agua de camaronera, se observó que disminuyó significativamente después de 6 horas de exposición a las levaduras, con una reducción de 1.75 mg/l sin aireación y de 3 mg/l con aireación. La presencia de aireación facilitó los procesos de degradación del amonio en presencia de levaduras, demostrando una reducción más significativa en comparación con el grupo control sin aireación.

Se destaca una reducción efectiva es del 44% en la concentración de amonio en el agua de camaronera y agua químicamente pura en ambos tratamientos con levaduras y aireación. En contraste, hay similitud entre el agua químicamente pura con levaduras y sin aireación, y el agua químicamente pura con aireación, ambos con un porcentaje de reducción del 50%. Sin embargo, el agua químicamente pura sin aireación experimentó una reducción del 25% y finalmente tratamiento de agua químicamente pura sin levaduras y sin aireación no mostró ninguna reducción, manteniéndose en un 0%.

## 7. RECOMENDACIONES

- Dada la influencia del pH en el crecimiento de levaduras y la degradación de amonio, se recomienda realizar un monitoreo continuo y ajustar el pH de manera precisa para mantener condiciones ideales en el cultivo y los ensayos.

- Considerando la relación entre el tiempo de acondicionamiento de la cepa y el inicio de la fase logarítmica, se sugiere extender el tiempo de acondicionamiento, siguiendo las pautas recomendadas en la literatura para optimizar el rendimiento del cultivo.
- Dado el impacto significativo de las variaciones en el pH en los resultados, se sugiere realizar estudios adicionales para comprender mejor el efecto de estas variaciones en diferentes etapas del cultivo y la degradación de amonio.
- Considerando la diferencia en los resultados entre tratamientos con y sin aireación, se recomienda explorar diferentes estrategias de aireación para evaluar su impacto en la eficiencia de las levaduras en la degradación del amonio.
- Para aplicaciones prácticas en piscinas camaroneras, se recomienda validar los resultados obtenidos en condiciones controladas en situaciones más cercanas a la realidad, considerando la complejidad del entorno acuático.

## 8. BLIOGRAFÍA

- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A. M., & Ismael, N. E. M. (2008). Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280(4), 185–189. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2008.03.055>
- Abdulrahman, N. M., & Ahmed, V. M. (2016). Comparative effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*), prebiotic (*Fructooligosaccharide*) and their combination on some blood indices in young common carp (*Cyprinus carpio* L.): Nasreen M. Abdulrahman and Vian M. Ahmed. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 40(1), 9–15. <https://doi.org/10.30539/IRAQIJVM.V40I1.131>
- Ahearn, D. G. (2023). Another perspective: a marine origin and adaptability of the emerging yeast pathogen *Candida haemulonii*. *MBio*, 14(4), 13-14. <https://doi.org/10.1128/mbio.00954-23>
- Ahmed, I. (2019). Occurrence and biodiversity of marine yeast in mangrove ecosystem of Shabi Creek, Gwadar- Pakistan. *Pure and Applied Biology*, 8(1), 20-25. <https://doi.org/10.19045/bspab.2019.80008>
- Alloul, A., Wille, M., Lucenti, P., Bossier, P., Van Stappen, G., & Vlaeminck, S. E. (2021). Purple bacteria as added-value protein ingredient in shrimp feed: *Penaeus vannamei* growth performance, and tolerance against *Vibrio* and ammonia stress. *Aquaculture*, 5(30), 735-788. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735788>

- Bates, H., Pierce, M., & Benter, A. (2021). Real-time environmental monitoring for aquaculture using a lorawan-based iot sensor network. *Sensors*, 21(23), 140-141. <https://doi.org/10.3390/s21237963>
- Biswas, G., Korenaga, H., Nagamine, R., Kono, T., Shimokawa, H., Itami, T., & Sakai, M. (2012). Immune stimulant effects of a nucleotide-rich baker's yeast extract in the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 40(45), 366–367. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2012.09.001>
- Burini, J. A., Eizaguirre, J. I., Loviso, C., & Libkind, D. (2021). Non-conventional yeasts as tools for innovation and differentiation in brewing. *Revista Argentina de Microbiologia*, 53(4), 155-158. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.01.003>
- Carlson, M. (1999). Glucose repression in yeast. *Current Opinion in Microbiology*, 2(2). [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80035-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80035-6)
- Castaño, S. G., & Londoño, C. H. (2009). Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces cerevisiae* silvestre, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 Y *Candida utilis* ATCC 9950. *Geographie*, 18 (April 2007).
- Chaikaew, P., Rugkarn, N., Pongpipatwattana, V., & Kanokkantapong, V. (2019). Enhancing ecological-economic efficiency of intensive shrimp farm through in-out nutrient budget and feed conversion ratio. *Sustainable Environment Research*, 1(1), 8-9. <https://doi.org/10.1186/s42834-019-0029-0>
- Chi, Z., Liu, G. L., Lu, Y., Jiang, H., & Chi, Z. M. (2016). Bio-products produced by marine yeasts and their potential applications. *In Bioresource Technology* 2(202), 14-15. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.039>

- De Lourdes Cobo, M., Sonnenholzner, S., Wille, M., & Sorgeloos, P. (2014). Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. *Aquaculture Research*, 45(3), 470–475. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2012.03248.X>
- de Morais, A. P. M., Abreu, P. C., Wasielesky, W., & Krummenauer, D. (2020). Effect of aeration intensity on the biofilm nitrification process during the production of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in Biofloc and clear water systems. *Aquaculture*, 5(14), 123-125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734516>
- Deng, D., Mei, C., Mai, K., Tan, B. P., Ai, Q., & Ma, H. (2013). Effects of a yeast-based additive on growth and immune responses of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), and aquaculture environment. *Aquaculture Research*, 44(9), 1348–1357. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2012.03139.X>
- Fang, J., Liao, S., Zhang, S., Li, L., Tan, S., Li, W., Wang, A., & Ye, J. (2021). Characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification yeast, *Barnettozyma californica* K1. *Bioresource Technology*, 3(39), 25-28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125665>
- Kaewkrajay, C., Chanmethakul, T., & Limtong, S. (2020). Assessment of diversity of culturable marine yeasts associated with corals and zoanthids in the Gulf of Thailand, south China sea. *Microorganisms*, 8(4), 128-130. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040474>
- Kim, J. H., Kang, Y. J., Kim, K. Il, Kim, S. K., & Kim, J. H. (2019). Toxic effects of nitrogenous compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

- Environmental Toxicology and Pharmacology*, 6(7), 12-15.  
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.001>
- Kwon, Y. M., Choi, H. S., Lim, J. Y., Jang, H. S., & Chung, D. (2020). Characterization of Amylolytic Activity by a Marine-Derived Yeast *Sporidiobolus pararoseus* PH-Gra1. *Mycobiology*, 48(3). <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1763100>
- Lachance, M.-A., & Walker, G. M. (2018). Yeasts. *ELS*, 5(7), 1–13.  
<https://doi.org/10.1002/9780470015902.A0000380.PUB3>
- Latisnere-Barragan, H., Virgen, M., & Ochoa, L. (2006). Levaduras Marinas.  
[www.bsu.edu/classes/](http://www.bsu.edu/classes/)
- Long, J., Cui, Y., Wang, R., Chen, Y., Zhao, N., Wang, C., Wang, Z., & Li, Y. (2021). Combined effects of high salinity and ammonia-N exposure on the energy metabolism, immune response, oxidative resistance and ammonia metabolism of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 4(20), 9-12.  
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100648>
- Mahmudi, M., Musa, M., Bunga, A., Wati, N. A., Arsad, S., & Lusiana, E. D. (2022). A Water Quality Evaluation of Integrated Mangrove Aquaculture System for Water Treatment in Super-Intensive White Leg Shrimp Pond. *Journal of Ecological Engineering*, 23(4), 18-25. <https://doi.org/10.12911/22998993/146746>
- Meril, D., Piliyan, R., Perumal, S., Sundarraj, D. K., & Binesh, A. (2022). Efficacy of alginate immobilized microalgae in the bioremediation of shrimp aquaculture wastewater. *Process Biochemistry*, 1(22), 14-17. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.08.030>
- Mohammed, D., Hicham, E. A., & Naima, E. G. (2023). Biodegradation of Environmental Pollutants by Marine Yeasts. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-17226-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-031-17226-7_5)

- Morris, E. O. (1975). Yeasts from the Marine Environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 38(3), 211–223. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.1975.TB00526.X>
- Nagano, Y., Nagahama, T., Hatada, Y., Nunoura, T., Takami, H., Miyazaki, J., Takai, K., & Horikoshi, K. (2010). Fungal diversity in deep-sea sediments – the presence of novel fungal groups. *Fungal Ecology*, 3(4), 316–325. <https://doi.org/10.1016/J.FUNECO.2010.01.002>
- Ninawe, A. S., & Selvin, J. (2009). Probiotics in shrimp aquaculture: Avenues and challenges. *Critical Reviews in Microbiology*, 35(1), 43–66. <https://doi.org/10.1080/10408410802667202>
- Nizam, N. U. M., Hanafiah, M. M., Noor, I. M., & Karim, H. I. A. (2020). Efficiency of five selected aquatic plants in phytoremediation of aquaculture wastewater. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(8), 247-248. <https://doi.org/10.3390/APP10082712>
- Ogunfowora, L. A., Iwuozor, K. O., Ighalo, J. O., & Igwegbe, C. A. (2021). Trends in the treatment of aquaculture effluents using nanotechnology. *In Cleaner Materials* 5(2), 147-148. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2021.100024>
- Orozco-Lugo, A. G., McLernon, D. C., Lara, M., Zaidi, S. A. R., González, B. J., Illescas, O., Pérez-Macías, C. I., Nájera-Bello, V., Balderas, J. A., Pizano-Escalante, J. L., Perera, C. M., & Rodríguez-Vázquez, R. (2022). Monitoring of water quality in a shrimp farm using a FANET. *Internet of Things (Netherlands)*, 1(8), 154-155. <https://doi.org/10.1016/j.iot.2020.100170>
- Silva, E. F., Soares, M. A., Calazans, N. F., Vogeley, J. L., do Valle, B. C., Soares, R., & Peixoto, S. (2012). Effect of probiotic (*Bacillus spp.*) addition during larvae and

- postlarvae culture of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 44(1), 13–21. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2011.03001.X>
- Spencer, J. F. T., & Spencer, D. M. (1997). Introduction: A Guide to the World of the Yeasts. *Yeasts in Natural and Artificial Habitats*, 1(5), 1–1. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-03370-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-03370-8_1)
- Starmer, W. T., & Lachance, M. A. (2011). Yeast Ecology. *The Yeasts*, 1(7), 65–83. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00006-9>
- Sun, T., Zhou, J., Shi, L., Feng, W., Dippold, M. A., Zang, H., Kurganova, I., de Gerenyu, V. L., Kalinina, O., Giani, L., & Kuzyakov, Y. (2022). Microbial growth rates, carbon use efficiency and enzyme activities during post-agricultural soil restoration. *Catena*, 5(5), 214. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2022.106226>
- Tanveer, M., Moulick, S., & Mukherjee, C. K. (2020). Mathematical model for goldfish recirculating aquaculture system (GRAS). *Aquacultural Engineering*, 7(4), 90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102092>
- Thai, T. T., Lam, N. L. Q., Quang, N. X., & Hieu, H. H. (2018). Seasonal and Spatial Variations of Meiofauna Communities in Correlation to Environmental Characteristics in the Organic Shrimp Farms of Tam Giang Commune, Nam Can District, Ca Mau Province. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, 34(1), 298-299. <https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4715>
- Thirumurugan, R., & Vignesh, V. (2015). Probiotics: Live boon to aquaculture. *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*, 5(7), 51–61. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2_6)

- Toro S.M., A., & Piontelli L., E. (2019). Yeast Communities in sandy soils (a beach of V Region, Chile) II. *Boletín Micológico*, 2(2), 99-100. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.1985.2.2.1476>
- Tucker, C. S., & Hargreaves, J. A. (2009). Environmental Best Management Practices for Aquaculture. *In Environmental Best Management Practices for Aquaculture*, 5(4), 199-200. <https://doi.org/10.1002/9780813818672>
- Ulhaq, I., Pham, N. T. A., Le, V., Pham, H. C., & Le, T. C. (2022). Factors influencing intention to adopt ICT among intensive shrimp farmers. *Aquaculture*, 5(9), 547. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737407>
- Vaca, I., Faúndez, C., Maza, F., Paillavil, B., Hernández, V., Acosta, F., Levicán, G., Martínez, C., & Chávez, R. (2013). Cultivable psychrotolerant yeasts associated with Antarctic marine sponges. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(1), 183–189. <https://doi.org/10.1007/S11274-012-1159-2/TABLES/2>
- Vieira, É. D., Da Graça Stupiello Andrietta, M., & Andrietta, S. R. (2013). Yeast biomass production: A new approach in glucose-limited feeding strategy. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 325-326. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200035>
- Wang, L., Shao, X., Xu, M., & Chen, S. (2019). Bioremediation of nitrogen-and phosphorus-polluted aquaculture sediment by utilizing combined immobilized effective microorganisms and sediment aeration technology. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 12(6), 258-259. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20191206.4904>
- Yun, L., Wang, W., Li, Y., Xie, M., Chen, T., Hu, C., Luo, P., & Li, D. (2021). Potential application values of a marine red yeast, *Rhodospiridium sphaerocarpum*

- YLY01, in aquaculture and tail water treatment assessed by the removal of ammonia nitrogen, the inhibition to *Vibrio spp.*, and nutrient composition, *16*(2), 17-18  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246841>
- Zaky, A. S., Tucker, G. A., Daw, Z. Y., & Du, C. (2014). Marine yeast isolation and industrial application. *In FEMS Yeast Research 14*(6), 189-190. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12158>
- Zeng, J., Liao, S., Qiu, M., Chen, M., Ye, J., Zeng, J., & Wang, A. (2020). Effects of carbon sources on the removal of ammonium, nitrite and nitrate nitrogen by the red yeast *Sporidiobolus pararoseus* Y1. *Bioresource Technology, 3*(12), 5-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123593>
- Zhang, M., Gu, L., Zheng, P., Chen, Z., Dou, X., Qin, Q., & Cai, X. (2020). Improvement of cell counting method for Neubauer counting chamber. *Journal of Clinical Laboratory Analysis, 34*(1), 20-21. <https://doi.org/10.1002/jcla.23024>

## 9. ANEXOS



*Ilustración 1 Lugar de recolección de muestra*



*Ilustración 2 Recolectando muestra*



*Ilustración 3 Pesando agar para la preparación del medio de cultivo*



*Ilustración 4 Haciendo uso del autoclave*



*Ilustración 5 Preparando Agua peptonada*



*Ilustración 7 Siembra en placa*



*Ilustración 6 Preparando el medio de cultivo para las levaduras*



*Ilustración 8 Cepa de levadura marina*



*Ilustración 9 Realizando cultivo de levaduras marinas*



*Ilustración 11 Haciendo proliferación de levaduras marinas*



*Ilustración 10 Cultivo de levaduras despues de 3 días*



*Ilustración 12 Observación de levaduras marinas*



*Ilustración 13 Haciendo uso de la cámara de Neubauer*



*Ilustración 15 Verificando el crecimiento de levaduras*



*Ilustración 14 Conteo de levaduras marinas*



*Ilustración 16 Recolección de agua de camaronera*



*Ilustración 17 Recolección de camarones*



*Ilustración 19 Verificando los parametros del agua quimicamente pura*



*Ilustración 18 Verificando parametros del agua de camaronera*



*Ilustración 20 verificando Amonio*



*Ilustración 21 Haciendo uso de los kits de Nitrogeno*



*Ilustración 23 Medición de compuestos nitrogenados*



*Ilustración 22 Midiendo el amonio presente en el agua*



*Ilustración 24 Recipientes de estudio de agua de camaronera y quimicamente pura*



Ilustración 25 Medición de pH y temperatura



Ilustración 26 Medición de compuestos nitrogenados

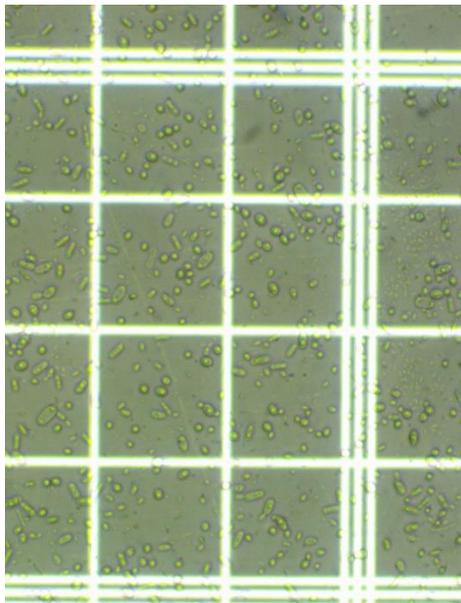


Ilustración 27 Levaduras marinas en ambiente ácido

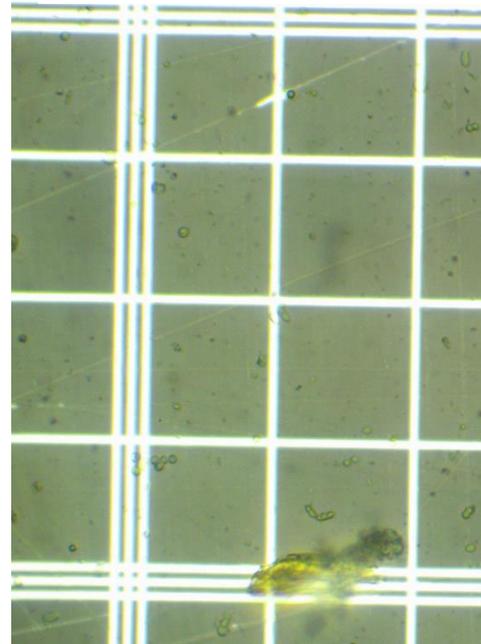


Ilustración 28 Levaduras marinas en ambiente ligeramente ácido

6. Tablas de datos

CRECIMIENTO DE LEVADURAS MARINAS			AMBIENTE ACIDO		AMBIENTE LIGERAMENTE ACIDO	
DIAS	dias	INT. TIEMPO	UFC/ml	CRECIMIENTO MAX	UFC/ml	T. CRECIMIENTO
1	0	0	1	1	1	1
2	1	24	5850000	155.820	600000	133.047
3	3	24	8950000	153.579	3550000	145.281
4	5	48	2550000	144.181	2700000	144.945
5	6	24	2100000	139.428	3550000	144.654
6	7	24	3350000	144.179	6050000	149.871
7	9	48	7850000	155.630	6950000	154.289
8	10	24	13050000	157.228	3850000	145.072

Tabla 3 Crecimiento de levaduras marinas

CONCENTRACION DE AMONIO (mg/L) EN PRESENCIA DE LEVADURAS MARINAS					CONCENTRACION DE AMONIO (mg/L) SIN LEVADURAS MARINAS			
TIE MPO	AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q.PURA		AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q. PURA	
	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION
0	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4
1	2	3	1	3	3	4	2	4
	2	3	1	3	3	4	2	4
	2	3	1	3	3	4	2	4
	2	3	1	3	3	4	2	4
2	1	2	0,5	2	2	4	2	4
	1	2	0,5	2	2	4	2	4
	1	2	0,5	2	2	4	2	4
	1	2	0,5	2	2	4	2	4
3	0,25	2	0,25	2	2	3	2	4
	0,25	2	0,25	2	2	3	2	4
	0,25	2	0,25	2	2	3	2	4
	0,25	2	0,25	2	2	3	2	4

Tabla 4 Concentración de amonio

PORCENTAJE DE REDUCCION DE AMONIO (%) EN PRESENCIA DE LEVADURAS MARINAS					PORCENTAJE DE REDUCCION DE AMONIO (%) SIN LEVADURAS MARINAS			
TIEMPO	AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q.PURA		AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q. PURA	
	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION
0	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1	50%	25%	25%	0%	75%	25%	50%	0%
2	75%	50%	50%	0%	88%	50%	50%	0%
3	94%	50%	50%	25%	96%	50%	55%	0%

Tabla 5 Porcentaje de reducción de amonio

CONCENTRACIÓN DE NITRITO (mg/L) EN PRESENCIA DE LEVADURAS MARINAS					CONCENTRACIÓN DE NITRITO (mg/L) SIN LEVADURAS MARINAS			
TIEMPO	AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q.PURA		AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q. PURA	
	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION
0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 6 Concentración de nitrito

CONCENTRACIÓN DE NITRATO (mg/L) EN PRESENCIA DE LEVADURAS MARINAS					CONCENTRACIÓN DE NITRATO (mg/L) SIN LEVADURAS MARINAS			
TIEMPO	AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q.PURA		AGUA DE CAMARONERA		AGUA Q. PURA	
	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION	CON AIREACION	SIN AIREACION
0	5	5	5	5	0	5	5	5
1	0	3	0	0	0	5	0	0
2	0	1	0	0	0	1	0	0
3	1	1	1	1	0	1	0	0

Tabla 7 Concentración de Nitrito

## 7. Gráficos

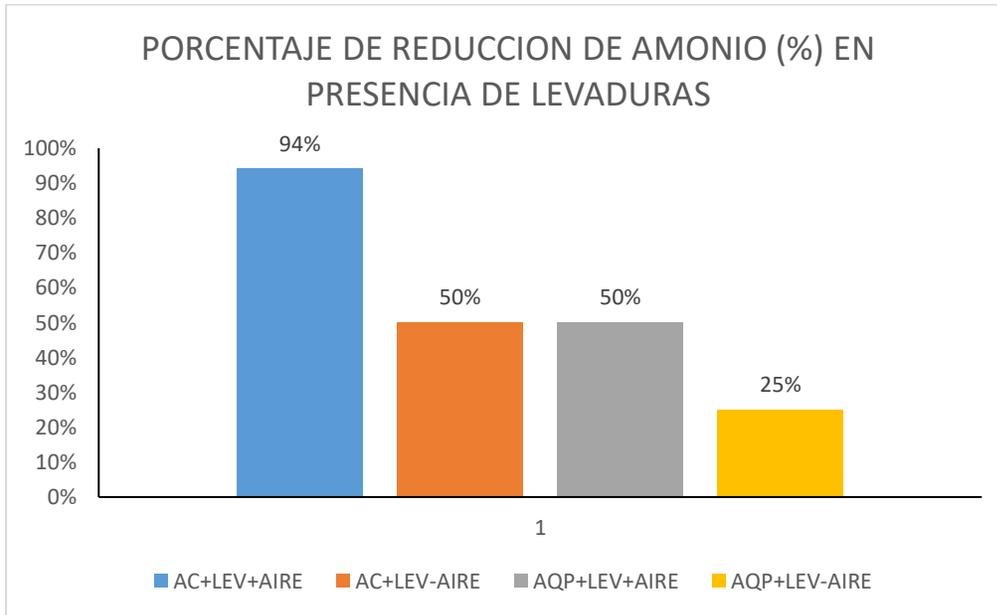


Tabla 6 Porcentaje de reducción de amonio en presencia de levaduras marinas

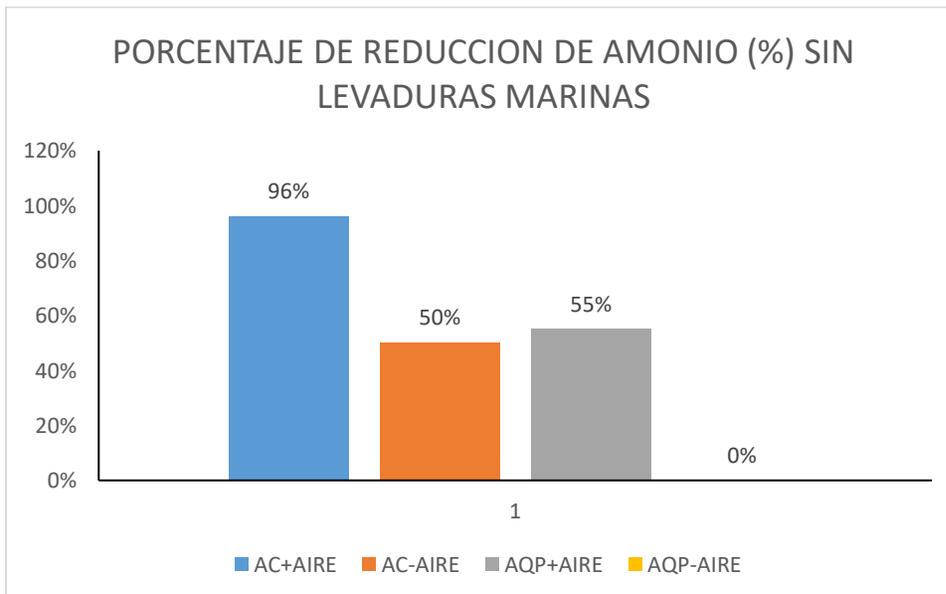


Tabla 7 Porcentaje de reducción de amonio sin levaduras marinas