



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura.**

**FARIAS ESPINOZA FREDDY FERNANDO  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACIAS DE LEON LADY BRIGITTE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2024**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura.**

**FARIAS ESPINOZA FREDDY FERNANDO  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACIAS DE LEON LADY BRIGITTE  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2024**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura.**

**FARIAS ESPINOZA FREDDY FERNANDO  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACIAS DE LEON LADY BRIGITTE  
INGENIERA ACUICOLA**

**VELASQUEZ LOPEZ PATRICIO COLON**

**MACHALA  
2024**

# Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura

---

Fecha de entrega: 08-ago-2024 11:50a.m. (UTC-0500) por Lady Macias

Identificador de la entrega: 2429094760

Nombre del archivo: Tesis-Lady\_MACIAS.docx (587.61K)

Total de palabras: 7981

Total de caracteres: 46193

# Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura

## INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

6%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[pro-rio.org](http://pro-rio.org)

Fuente de Internet

<1%

2

[theory.labster.com](http://theory.labster.com)

Fuente de Internet

<1%

3

[dspace.unitru.edu.pe](http://dspace.unitru.edu.pe)

Fuente de Internet

<1%

4

[pesquisa.bvsalud.org](http://pesquisa.bvsalud.org)

Fuente de Internet

<1%

5

[www.scielo.org.mx](http://www.scielo.org.mx)

Fuente de Internet

<1%

6

[mail.polodelconocimiento.com](http://mail.polodelconocimiento.com)

Fuente de Internet

<1%

7

[es.slideshare.net](http://es.slideshare.net)

Fuente de Internet

<1%

8

[dspace.esPOCH.edu.ec](http://dspace.esPOCH.edu.ec)

Fuente de Internet

<1%

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

Los que suscriben, FARIAS ESPINOZA FREDDY FERNANDO y MACIAS DE LEON LADY BRIGITTE, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en agua salada en sistemas de acuicultura., 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.



FARIAS ESPINOZA FREDDY FERNANDO  
0706257284



MACIAS DE LEON LADY BRIGITTE  
0750565798

## AGRADECIMIENTO

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

A mis padres Enrique y Tatiana por ser ese pilar fundamental en mi vida en especial agradezco a mi madre por haberme siempre apoyado de manera incondicional en todas mis etapas, por su fe en mí incluso en los momentos más difíciles, ha sido el pilar de este logro. También expreso mi gratitud a mis hermanos y a mi tía Dancy De León por ser quienes supieron brindarme su tiempo para escucharme, apoyarme y motivarme constantemente. A mi familia materna, mi abuelita Lidia, mis tías y primos por extender su mano, compartir risas, lágrimas y momentos de alegría.

A mi amado esposo Fabricio Castillo Jaramillo por brindarme todo su amor, comprensión y apoyo en los momentos difíciles e importantes de mi vida, supiste estar cuando más lo necesitaba. Su amor y sacrificio ha sido la luz que guio mi camino a través de este viaje académico.

Expreso mi más sincero agradecimiento a nuestro tutor de tesis Dr. Patricio Colón Velázquez, su experiencia, comprensión y paciencia contribuyeron en el complejo y gratificante camino de la investigación. Así mismo quisiera agradecer a la Dr. Leonor Rivera Intriago y la Blga. Cecilia Serrano porque sus recomendaciones fueron fundamentales para la finalización de esta tesis.

Por último quiero agradecer a todos mis amigos por su apoyo durante estos años, especialmente agradezco a mi amigo Freddy compañero de carrera y tesis por su colaboración en este trabajo.

*Lady Brigitte Macías De León.*

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Dios Todopoderoso por darme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para completar esta tesis. Sin su guía y bendiciones, este logro no habría sido posible.

A mi familia, quienes han sido mi pilar fundamental. A mis padres por su amor incondicional, su apoyo constante y por enseñarme el valor del esfuerzo y la dedicación.

A mi tutor de tesis, el Dr. Velásquez López Patricio Colón por su invaluable guía, sus consejos y su paciencia durante todo el proceso de investigación.

*Freddy Fernando Farías Espinoza.*



## **DEDICATORIA**

Dedico el presente trabajo a mi amado hijo Travis Castillo Macías, tu risa y tu infinita capacidad de amar han sido la inspiración detrás de cada esfuerzo en mi vida. A mi esposo por su dedicación para que yo pueda salir adelante en esta etapa de mi vida, por ser mi sustento económico, pero también emocional, esta tesis es mi modesta forma de agradecerte por todo lo que has hecho por mí.

A mis padres por ser el apoyo fundamental y mis fuerzas necesarias para seguir adelante en mi carrera, por ser parte de este sueño realizado.

A cada uno de mis tutores de tesis y a mis docentes que impartieron todo el tiempo sus conocimientos, que fueron muy importante para mi formación profesional.

*Lady Brigitte Macías De León.*

A Dios, mi roca eterna, por guiarme en cada paso de este viaje académico y darme la fuerza para perseverar. Gracias por ser mi fuente de fortaleza y entendimiento en este logro académico.

A mis padres. Este logro es un testimonio de su inmenso amor y dedicación. Valoro mucho las lecciones de vida que me han impartido y por el cariño que siempre me han brindado. Mi gratitud hacia ustedes es imposible de expresar completamente. Esta tesis es un tributo a su legado y a la eterna admiración que siento por ustedes. Gracias por ser los mejores padres del mundo.

A mi paciente tutor de tesis. Tu orientación y apoyo han sido invaluable en el proceso de esta tesis. Tu conocimiento, paciencia y compromiso han sido fundamentales para mi éxito académico. Esta tesis es un testimonio de su guía experta y amable. Gracias por ser un mentor excepcional.

*Freddy Fernando Farías Espinoza.*

## RESUMEN

La presente investigación estudia el efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial en agua salada en sistemas de acuicultura. El pH es un factor crucial que influye significativamente en la actividad bacteriana, y se evalúan dos niveles de pH: 7 y 4,5. Las bacterias marinas tienen un rango óptimo de pH entre 7,5 y 8,5, donde su crecimiento y actividad son máximos. Cuando el pH se desvía de este rango, las bacterias pueden experimentar estrés fisiológico que afecta su estructura celular, actividad enzimática y eficiencia en la utilización de nutrientes, reduciendo así su tasa de crecimiento y viabilidad celular.

Se realizaron experimentos en agares TSA y Bacillus para evaluar la tasa de crecimiento de microorganismos liofilizados a pH 7 y pH 4.5 en intervalos de 0, 8 y 24 horas. Los resultados mostraron que a pH 7, la tasa de crecimiento bacteriano aumentó de manera constante, alcanzando un promedio de  $7.84 \pm 0.31$  ufc/ml después de 24 horas. En contraste, a pH 4.5, el crecimiento bacteriano también fue notable, con una tasa promedio de  $8.46 \pm 0.27$  ufc/ml tras 24 horas, sugiriendo que un pH ácido puede ser favorable para ciertas bacterias.

El pH del medio acuático es un determinante clave en la concentración y actividad de las bacterias durante el proceso de activación de productos comerciales. Mantener el pH en un rango óptimo es fundamental para asegurar una alta concentración de bacterias activas y, por fin, mejorar la calidad del agua industrial en entornos marinos. La comprensión y el control del pH son esenciales para optimizar los resultados.

## **ABSTRACT**

This research examines the effect of pH on the total bacterial concentration during the activation process of a commercial product in saltwater aquaculture systems. pH is a crucial factor that significantly influences bacterial activity, and two pH levels were evaluated: 7 and 4.5. Marine bacteria have an optimal pH range between 7.5 and 8.5, where their growth and activity are at their peak. When the pH deviates from this range, bacteria may experience physiological stress that affects their cell structure, enzymatic activity, and nutrient utilization efficiency, thereby reducing their growth rate and cell viability.

Experiments were conducted on TSA and Bacillus agars to evaluate the growth rate of lyophilized microorganisms at pH 7 and pH 4.5 at intervals of 0, 8, and 24 hours. The results showed that at pH 7, the bacterial growth rate increased steadily, reaching an average of  $7.84 \pm 0.31$  cfu/ml after 24 hours. In contrast, at pH 4.5, bacterial growth was also notable, with an average rate of  $8.46 \pm 0.27$  cfu/ml after 24 hours, suggesting that an acidic pH may be favorable for certain bacteria.

The pH of the aquatic environment is a key determinant in bacterial concentration and activity during the activation process of commercial products. Maintaining the pH within an optimal range is essential to ensure a high concentration of active bacteria and, ultimately, to improve the quality of industrial water in marine environments. Understanding and controlling pH are crucial for optimizing results.

## CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.	JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3.	OBJETIVOS .....	5
1.3.1.	<i>Objetivo general</i> .....	5
1.3.2.	<i>Objetivos específicos</i> .....	5
1.4.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
1.4.1.	<i>Composición microbiana en estanques de cría de L. vannamei.</i> .....	6
1.4.2.	<i>Importancia de los microorganismos en la salud de los camarones.</i> .....	7
1.4.3.	<i>Papel de los microorganismos en los cultivos acuáticos</i> .....	7
	<i>Actividad benéfica de los microorganismos</i> .....	8
	<i>Técnicas de biorremediación</i> .....	8
	- <i>Bioestimulación</i> .....	8
	- <i>Bioaumentación</i> .....	8
1.4.4.	<i>Productos comerciales en base a microorganismos</i> .....	9
	<i>Microorganismos</i> .....	10
	<i>Tipos de microorganismos en biorremediación</i> .....	10
1.4.5.	<i>Preservación de microorganismos</i> .....	12
	<i>Liofilización</i> .....	12
	<i>Procedimientos de liofilización:</i> .....	12
	<i>Introducción a la revivificación de microorganismos liofilizados</i> .....	12
	a) <i>Rehidratación y manejo de bacterias y algas</i> .....	13
	b) <i>Revivificación de hongos filamentosos y levaduras</i> .....	13
	c) <i>Manipulación de bacteriófagos</i> .....	13
	d) <i>Consideraciones para Virus de Plantas</i> .....	13
1.4.6.	<i>Activación de productos comerciales</i> .....	13
1.4.7.	<i>Parámetros que regulan el crecimiento de microorganismos en condiciones controladas</i> .....	14

<i>La temperatura</i> .....	14
<i>La oxigenación</i> .....	14
<i>El pH</i> .....	15
<i>Efecto del pH en la biorremediación.</i> .....	15
<i>Control del crecimiento de microorganismos</i> .....	16
<b>II. MATERIALES Y METODOS</b> .....	18
2.1. Ubicación.....	18
2.1.1. <i>Materiales y equipos</i> .....	18
<i>Materiales</i> .....	18
<i>Equipos</i> .....	18
2.1.2. <i>Variables a evaluar</i> .....	19
2.1.3. <i>Diseño experimental</i> .....	19
2.1.4. <i>Croquis del experimento</i> .....	19
2.2. <b>METODOLOGÍA</b> .....	20
2.2.1. <i>Desinfección del área de estudio</i> .....	20
2.2.2. <i>Preparación de agar</i> .....	20
2.2.3. <i>Ensayos experimentales para evaluar el crecimiento de microorganismos liofilizados</i> .....	21
2.2.4. <i>Dilución</i> .....	22
2.2.5. <i>Siembra de microorganismos en placas Petri en agar</i> .....	23
2.2.6. <i>Conteo de microorganismos</i> .....	23
2.2.7. <i>Evaluación de la tasa de crecimiento microbiano</i> .....	24
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	25
3.1. Resultados.....	25
3.1.1. <i>Tasa de crecimiento de microorganismos liofilizados durante el proceso de activación de un producto microbiano a pH 7</i> .....	25
3.1.2. <i>Tasa de crecimiento de microorganismos liofilizados durante el proceso de activación de un producto microbiano a pH 4.5</i> .....	26
3.1.3. <i>Crecimiento de bacterias totales y el efecto entre pH 7 y pH 4.5</i> .....	27
3.2.1. <i>Crecimiento de Bacillus sp en .pH 7 y pH 4.5</i> .....	27

3.2.2. Tasa de crecimiento de <i>Bacillus sp</i> y el efecto en pH 7 y pH 4.5.....	28
3.2. DISCUSIÓN .....	31
3.2.2. Efecto del pH en el Crecimiento Bacterias totales.....	31
3.2.2. Efecto del pH en el Crecimiento de <i>Bacillus</i> totales .....	32
IV. CONCLUSIONES .....	34
RECOMENDACIONES .....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	36

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Productos comerciales y sus características .....	9
<b>Tabla 2.</b> Tasa de crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas. .....	25
<b>Tabla 3.</b> Tasa de crecimiento bacteriano a pH 4.5 en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas. ....	26

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> Diseño experimental para evaluar el crecimiento de microorganismos liofilizados a niveles de pH.....	19
<b>Ilustración 2.</b> Esterilización de agua de mar .....	20
<b>Ilustración 3.</b> Desinfección de cámara de flujo laminar .....	21
<b>Ilustración 4.</b> Activación de microorganismos liofilizados .....	22
<b>Ilustración 5.</b> Dilución .....	22
<b>Ilustración 6.</b> Medio de cultivo.....	23
<b>Ilustración 7.</b> Conteo de microorganismos .....	23



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas. ....	25
<b>Figura 2.</b> Crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas .....	26
<b>Figura 3.</b> Bacterias totales en pH 7 y pH 4.5 en agar TSA .....	27
<b>Figura 4.</b> Bacterias totales en pH 7 y pH 4.5 en agar TSA .....	29

## I. INTRODUCCIÓN

En la acuicultura, los productos comerciales son vitales, compuestos por microorganismos y agentes químicos. “Estos facilitan procesos de purificación y descontaminación, mejorando la eficiencia de los cultivos. Su empleo fomenta prácticas sustentables al armonizar la producción intensiva y la preservación ambiental en la acuicultura” (Martínez, & Henares, 2023).

En un estudio realizado por Fadda et al. (2022), se exploró la efectividad de probióticos liofilizados en la acuicultura. Los investigadores encontraron que estos productos mejoraron significativamente la calidad del agua al reducir los niveles de amoníaco y nitritos, compuestos tóxicos para los peces. Además, los probióticos liofilizados ayudaron a mejorar la resistencia de los peces a enfermedades comunes en ambientes acuáticos.

Otro estudio de Zhang et al. (2021) demostraron que la liofilización no solo preserva la viabilidad de los microorganismos, sino que también puede aumentar su concentración efectiva cuando se activan en condiciones óptimas de pH. Los resultados indicaron que los probióticos liofilizados tienen un impacto positivo en el sistema inmunológico de los peces, promoviendo una mejor respuesta a los patógenos y, en consecuencia, reduciendo la mortalidad en sistemas de acuicultura intensiva

“El pH impacta directamente la activación de productos comerciales en sistemas acuáticos al influir en la actividad de microorganismos clave responsables de la degradación de contaminantes. Bacterias, hongos y otros microorganismos específicos descomponen compuestos nocivos, y el pH es crucial para su eficacia” (Rodríguez, Zárate & Bastida, 2022). Un pH adecuado favorece la eficacia de estos microorganismos, mientras que cambios significativos pueden comprometer su viabilidad al afectar la disponibilidad de nutrientes esenciales.

“El pH no solo activa microorganismos, sino que también modula la solubilidad y disponibilidad de compuestos en productos comerciales. Algunos productos requieren condiciones específicas de pH para liberar ingredientes activos eficazmente” (Peña, 2017). Comprender estas interacciones es esencial para optimizar la eficacia en cultivos acuícolas, ya que afectan la cinética de liberación y la estabilidad de los productos. Este

trabajo profundiza en el papel crucial del pH en la activación de productos comerciales para la biorremediación, buscando mejorar la sostenibilidad ambiental en cultivos acuícolas.

En el ámbito de la biorremediación acuícola, “es crucial mantener un equilibrio adecuado en el pH del entorno, ya que las fluctuaciones afectan la efectividad de los productos comerciales y la salud de los organismos acuáticos” (Lema, 2023). Un pH fuera del rango óptimo puede perjudicar el bienestar de las especies cultivadas, comprometiendo la sostenibilidad a largo plazo de los cultivos

“Es esencial considerar la posible interconexión entre el pH y algunos factores que se encuentran en el medio ambiente. Comprender estas interrelaciones contribuirá a un enfoque integral en la aplicación de productos comerciales” (Ojeda, & Juár, 2019) asegurando la efectividad del proceso y la preservación del equilibrio ecológico en los cultivos acuícolas. Este trabajo tiene como objetivo explorar las complejas interacciones entre el pH y otros parámetros ambientales, proporcionando una base sólida para estrategias efectivas y sostenibles en la acuicultura.

## **1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La utilización de microorganismos en el cultivo de camarón es más efectiva a bajos niveles de pH. Sin embargo, la disminución del pH durante la activación de productos comerciales no tiene una explicación clara, lo que afecta la eficacia de los procesos biológicos y limita la optimización de prácticas sostenibles en la acuicultura. La falta de comprensión sobre este fenómeno representa un problema crucial. Por lo tanto, este estudio se propuso investigar el efecto del pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial en agua salada en sistemas de acuicultura, buscando así mejorar la eficacia ambiental en este sector.

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

El objetivo de este trabajo es medir el impacto que genera el pH en la concentración de bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial en agua salada en sistemas acuícolas, siendo crucial por varias razones. El pH del agua influye directamente en la actividad biológica de microorganismos implicados en la descomposición de contaminantes. La capacidad de los agentes biorremediadores para degradar sustancias nocivas depende del rango óptimo de pH. Comprender cómo las variaciones en el pH afectan la actividad microbiana es esencial para optimizar las condiciones acuáticas y maximizar la eficacia de la biorremediación.

Además, la eficacia de muchos productos comerciales utilizados en estos procesos está estrechamente ligada a su capacidad para liberar ingredientes activos en el momento adecuado y en las condiciones ambientales apropiadas. El pH del agua puede influir significativamente en la solubilidad y estabilidad de estos compuestos. Medir el efecto del pH permite entender cómo las interacciones químicas afectan la disponibilidad de los componentes activos en los productos comerciales, proporcionando información valiosa para ajustar las formulaciones y mejorar su eficacia.

Es por ello que la medición sistemática del efecto del pH es esencial para garantizar la viabilidad a largo plazo de las prácticas en cultivos acuícolas. Los cambios en el pH pueden ser indicativos de desequilibrios ambientales que perjudican a los organismos acuáticos y la eficacia general de los procesos. Por lo tanto, monitorear el pH se convierte en una herramienta valiosa para evaluar la sostenibilidad y la salud a largo plazo de los ecosistemas marinos.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Evaluar el crecimiento de microorganismos sometidos a agua salada y diferente pH durante el proceso de activación de un producto comercial para biorremediación en sistemas de acuicultura.

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

- Determinar la tasa de crecimiento de las bacterias totales durante el proceso de activación de un producto comercial en agua salada a diferente pH del agua.
- Determinar el efecto del pH 4,5 y 7 en la concentración de microorganismos activados en agua salada.
- Comparar la concentración máxima obtenida en el proceso de activación a 2 niveles de pH del agua cuando se activan microorganismos liofilizados.

## 1.4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.4.1. *Composición microbiana en estanques de cría de L. vannamei.*

Lajones (2023) tras una previa investigación señaló que la diversidad microbiana en estanques acuícolas, compuesta por bacterias, algas, hongos, protozoarios y viriones, es esencial para funciones como la descomposición, el ciclo del nitrógeno, la producción primaria y la cadena alimentaria. Bacterias y algas son fundamentales, hongos contribuyen a la descomposición, protozoarios forman parte de la cadena alimentaria, y viriones, como virus, pueden afectar a los organismos acuáticos. Mantener un equilibrio adecuado de esta composición es crucial para salvaguardar la salud y sostenibilidad del sistema acuícola.

Para varios investigadores es notable destacar que se deben realizar una variedad de procesos para la detección de patógenos que presentan riesgos “Reconocer y examinar la comunidad microbiana en el sistema de cultivo de los camarones posibilita la detección temprana de posibles patógenos y la presencia de microorganismos beneficioso” (Vázquez, Garibay, Martínez & Calderón, 2022).

La proliferación bacteriana en ambientes naturales a menudo implica la unión a diversas superficies, “ya sea a materiales degradados para obtener nutrientes o a superficies inertes como piedras y vidrio. La adhesión, a menudo robusta, se logra mediante la producción de un polisacárido extracelular "pegajoso", aunque algunas bacterias poseen estructuras especializadas” (Burns, 2019).

Conforme a Boyd (2021) la evaluación de la excelencia del agua implica considerar elementos cruciales para mantener las condiciones idóneas en el estanque, asegurando un entorno propicio para el desarrollo y la supervivencia exitosa de los camarones. Estos elementos abarcan la salinidad, temperatura, cantidad de oxígeno disuelto, pH, presencia de sustancias y partículas disueltas, alcalinidad, turbidez y concentración de nutrientes, específicamente nitrógeno y fósforo, así como sus derivados metabólicos

Según Huerta (2019) indico que, en estanques acuícolas los microorganismos desempeñan un papel esencial, siendo fundamentales desde la cría de camarones hasta la gestión general. Estas comunidades microbianas, a menudo subestimadas, son cruciales

en ecosistemas acuícolas, particularmente en la cría de camarones, al contribuir a la reutilización de nutrientes y al control de la calidad del agua. Los probióticos, con cepas bacterianas específicas, juegan un papel clave al mejorar el desarrollo y la supervivencia de las especies deseadas al reducir la presencia de microorganismos perjudiciales.

#### **1.4.2. Importancia de los microorganismos en la salud de los camarones.**

Según Pérez, Álvarez, Santos y Pérez (2020), en su exhaustivo estudio sobre los probióticos y sus metabolitos, explican que, en acuicultura la resistencia de microorganismos patógenos a antibióticos plantea un desafío. Los probióticos, como bacterias ácido lácticas, son esenciales al fortalecer defensas inmunológicas, mejorar supervivencia de larvas y aumentar resistencia a enfermedades. Además, contribuyen integralmente a optimizar crecimiento y producción, reduciendo residuos contaminantes. La inclusión de géneros bacterianos como *Bacillus* y *Streptomyces*, junto con microalgas y levaduras, complementa prácticas acuícolas para promover sostenibilidad y eficacia en la producción de organismos acuáticos.

Los microorganismos probióticos, que estimulan el crecimiento, la supervivencia y la resistencia inmunológica de los organismos acuáticos, como las bacterias lácticas, bifidobacterias y levaduras, fueron objeto de análisis y obtención, a partir de cultivos en mamíferos (Monroy, 2018). A pesar del enfoque de esta investigación, se observa una creciente evidencia que respalda la importancia de aislar, evaluar y aplicar estos microorganismos de manera altamente específica a los hospederos que se destinan (Sorrosa & Ochoa, 2021).

Tras varias investigaciones Ferreira (2019) asegura que, se pueden recolectar microorganismos probióticos desde diversas fuentes, siendo el tracto digestivo de los organismos acuáticos, además de la mucosidad de los peces las principales. De manera más puntual, estos probióticos tienen la capacidad de ser cultivados de forma individual o encontrarse en los sedimentos de entornos acuáticos, además de ser extraídos de consorcios microbianos (p.10)

#### **1.4.3. Papel de los microorganismos en los cultivos acuáticos**

La biorremediación, que destaca el papel fundamental de la microbiología en su actividad, emerge como un proceso esencial para contrarrestar la contaminación ambiental. “Al aprovechar las habilidades catalíticas de los microorganismos,



especialmente bacterias, este método busco transformar contaminantes en productos menos perjudiciales” (Garbisu Amézaga & Alkorta ,2022).

“La microbiología desempeña un papel central al comprender la diversidad genética y versatilidad metabólica de las bacterias, permitiendo su integración en ciclos biogeoquímicos naturales. Además, se exploran perspectivas prometedoras con hongos y plantas mediante la "fitorremediación"(Garbisu Amézaga & Alkorta, 2022). Este enfoque microbiológico revela un potencial significativo en la mitigación ambiental.

- ***Actividad benéfica de los microorganismos***

La utilización de seres vivos en la acuicultura para mitigar la contaminación, conocida como biorremediación, “se refiere a la aplicación de microorganismos, hongos y plantas con el propósito de disminuir o eliminar los agentes contaminantes presentes en el agua de las instalaciones acuícolas. Estos seres vivos poseen la capacidad de descomponer compuestos perjudiciales” (Rodríguez, 2023) generando mejoras en la calidad del agua y estableciendo un entorno más saludable para los organismos acuáticos.

- ***Técnicas de biorremediación***

***-Bioestimulación***

Este procedimiento implica la aplicación de tecnologías para la eliminación de elementos dañinos presentes en una fuente de agua, utilizando una combinación de microorganismos naturales presentes en el entorno. Este enfoque conduce a la descomposición de nutrientes perjudiciales, especialmente aquellos asociados con el nitrógeno y el fósforo, contribuyendo así a la mejora de la calidad del agua.

Así mismo en la biotecnología, “se utiliza una estrategia que implica suministrar directamente nutrientes como nitrógeno, carbono y fósforo, a las bacterias para estimular su crecimiento. actividad metabólica bacteriana puede extenderse hasta 120 días, dependiendo del tamaño del biorreactor y la cantidad de bacterias activadas” (Ijoma, 2019) “El objetivo es que el "sistema bacteriano" asimile los nutrientes esenciales y evite su acumulación en el entorno” (Musyoka, 2019).

***-Bioaugmentación***

Este método implica “el empleo de cepas comerciales, la combinación de catalizadores aislados, o ambos, estableciendo así una colaboración sinérgica con las

bacterias autóctonas. Esta estrategia acelera la descomposición natural de componentes y estimula la formación de comunidades microbianas que favorecen la biorremediación” (Pathak & Mahajan, 2017). La introducción de cepas comerciales y catalizadores específicos amplía las capacidades de los microorganismos autóctonos, generando una respuesta más rápida y efectiva en la degradación de contaminantes.

#### 1.4.4. Productos comerciales en base a microorganismos

**Tabla 1.** Productos comerciales y sus características

Producto	Dosificación	Características	Sitio web
<b>PRO 4000</b>	250 gramos/ Ha; 125 gramos cada semana	Cepas: <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Bacillus licheniformes</i> 2x 10 <sup>9</sup> UFC/GR	<a href="https://agrohimsa.com/product/pro-4000x/">https://agrohimsa.com/product/pro-4000x/</a>
<b>DL FORTE DRY</b>	100- 500 gramos/Ha	Cepas: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformes</i> 2 X 10 <sup>9</sup> CFU/G	<a href="https://www.codemet.com/acuacultura/dietas-y-suplementos-alimenticios/">https://www.codemet.com/acuacultura/dietas-y-suplementos-alimenticios/</a>
<b>DL FORTE LIQUID</b>	200- 400 ml/Ha/semana	Cepas: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformes</i> , <i>Bacillus pumilus</i> y <i>Bacillus megaterium</i>	<a href="https://www.codemet.com/acuacultura/dietas-y-suplementos-alimenticios/">https://www.codemet.com/acuacultura/dietas-y-suplementos-alimenticios/</a>
<b>HGS-7</b>	200 gramos/Ha cada 7 días	Cepas: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>LactoBacillus lactis</i> , <i>Nitrosomonas sp</i> , <i>Nitrobacter sp</i> 1x10 <sup>9</sup> CFU/ GR	<a href="https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/hgs-7/">https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/hgs-7/</a>
<b>EM TOTAL PACK</b>	1 Lt/ Ha	Bacterias ácidas lácticas, bacterias fototróficas y levaduras 10 <sup>4</sup> , 10 <sup>3</sup> , 10 <sup>3</sup> CFU/ml	<a href="https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/em-total-pack/">https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/em-total-pack/</a>
<b>AQUASTAR POND</b>	150 gramos/semana	Cepas: <i>Bacillus sp.</i> , <i>enterococcus sp</i> , <i>pediococcus sp</i> , <i>thioBacillus sp</i> y <i>paraacoccus sp</i> . 2X10 <sup>12</sup> UFC/KG	<a href="https://agroandres.com.ec/insumos-agroindustria/probioticos-y-enzimas/">https://agroandres.com.ec/insumos-agroindustria/probioticos-y-enzimas/</a>
<b>OXYNOVA</b>	200 gramos x Kg/ semana; 100 gramos x 7 días	Cepas: <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>bifidobacterium termophilus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>lactoBacillus acidophilus</i>	<a href="https://agroandres.com.ec/insumos-agroindustria/probioticos-y-enzimas/">https://agroandres.com.ec/insumos-agroindustria/probioticos-y-enzimas/</a>
<b>TERMINATE</b>	Agua: 250 gramos x Ha cada semana	Cepas: <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus laterosporus</i> , <i>Bacillus EHC 100 strain</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 2.0 X 10 <sup>9</sup> CFU/GR	<a href="https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/terminate/">https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/terminate/</a>
<b>POND DTOX</b>	300 gramos/Ha; 100 gramos cada 15 días	Cepas: <i>paracoccus pantotrophus</i> y <i>Bacillus megaterium</i> 3x 10 <sup>9</sup> CFU/GR	<a href="https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/pond/">https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/pond/</a>
<b>PROBIOTECH</b>	1 Lt/ Ha	Cepas: <i>Bacillus sp</i> , microorganismos aeróbicos y anaeróbicos 3.1 billones UFC/Gr	<a href="https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/probiotech/">https://agroandres.com.ec/producto-agropecuaria/probioticos-y-enzimas/probiotech/</a>

Elaborado por: Autores

- ***Microorganismos***

En la acuicultura, el uso de microorganismos se revela como un elemento ventajoso tanto desde la perspectiva económica como ecológica. En las piscinas destinadas a la cría de camarones, su papel resulta fundamental para la absorción y generación de oxígeno disuelto, y la intervención del ciclo del nitrógeno, favoreciendo la asimilación de nutrientes en el cultivo (Méndez, y otros, 2019).

Estudios realizados por Bazurto (2020) indican que, hoy en día, se interesa aplicar microorganismos en todas las etapas del cultivo, abordando aspectos cruciales como el tratamiento del líquido vital, la mejora del terreno y la alimentación. Han evidenciado ser sumamente eficaces en la disminución de patógenos en el entorno de cultivo, generando un notorio incremento del 90% en la supervivencia de los organismos. Estos microorganismos, identificados como probióticos y prebióticos, son estratégicamente empleados en diversas instancias del sistema de cultivo para maximizar sus beneficios.

De acuerdo con Narmatha y Kavitha (2019) “Los microorganismos ampliamente utilizados en la acuicultura para llevar a cabo un tratamiento eficaz del agua en estanques acuícolas incluyen bacterias lácticas como *LactoBacillus plantarum*, *L. casei* y *Streptococcus lacti*, así como bacterias fotosintéticas como *Rhodopseudomonas palustris* y *Rhodobacter spaeroide*.”

- ***Tipos de microorganismos en biorremediación***

- ***Bacillus***

A pesar de considerarse aeróbicas, las bacterias pertenecientes al género *Bacillus* pueden multiplicarse en entornos gastrointestinales sin oxígeno, utilizando nitrato/nitrito en lugar de oxígeno durante la respiración anaeróbica.

Según indagaciones científicas de Nayak (2020) expresa que, toleran amplios rangos de condiciones, incluyendo temperaturas que varían entre 10 y 50 °C, niveles de pH de 4 a 11, y salinidad de 0 a 9%. Estas bacterias desempeñan un papel esencial en aspectos nutricionales, inmunohematológicos y fisiológicos, contribuyendo de manera significativa a la mejora de la calidad del agua y los indicadores ambientales en entornos de cría y cultivo.

Los investigadores Álvarez & Sánchez (2019). Expresaron por medio de un

artículo que, el desarrollo de bacterias del género *Bacillus sp.*, que pueden ser tanto aerobias estrictas como anaerobias facultativas, resulta propicio para la creación de esporas y la generación de enzimas y antibióticos. Este procedimiento consta de cuatro etapas: adaptación, logarítmica, estacionaria y muerte celular. En la fase de adaptación, las células realizan ajustes en su metabolismo, incrementando la síntesis de productos intermedios, ARN ribosómico, proteínas bacterianas y enzimas. Este proceso conlleva a un aumento en el volumen celular, marcando el comienzo del proceso de síntesis bioquímica.

Tras varias investigaciones (Kuebutornye , 2019) aseguro que, la aplicación de la cepa *B. subtilis* a una concentración de  $10^8$  UFC/ml se muestra efectiva para mantener niveles adecuados de nitrito, amoníaco y iones de nitrato en el medio de cultivo de camarones. Investigaciones revelan que la cepa *B. subtilis* E20 mejora la calidad del agua en instalaciones de cultivo de camarones, sugiriendo que las especies de *Bacillus* son útiles en procesos de biorremediación.

- **Levaduras**

Las levaduras y hongos filamentosos son opciones biológicas para la biorremediación de metales pesados, destacándose por su capacidad de acumulación incluso en condiciones extremas. “Estudios con *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces baili* y *S. cerevisiae* confirman su efectividad en captura y eliminación de iones metálicos en aguas residuales, contrarrestando procesos de biomagnificación. mediada por mecanismos como quelación, por grupos fosfatos y carboxilo en sus superficies celulares” (Bahafid 2019).

Los investigadores Hosiner, Gerber, Lichtenberg, Glaser & Klipp (2019) expresaron que, estos microorganismos no solo participan en la biorremediación, sino que también promueven el crecimiento vegetal, ofreciendo potenciales aplicaciones en agricultura orgánica. Levaduras como *Candida*, *Saccharomyces* y *Yarrowia*, aisladas de ambientes extremos, demuestran su potencial como promotores de crecimiento vegetal en la agricultura sostenible. Cepas nativas de levaduras, aisladas en cuerpos de agua altoandinos contaminados con relaves mineros, subrayan su importancia y potencial biotecnológico en la biorremediación de suelos y aguas afectadas por metales pesados.

#### **1.4.5. *Preservación de microorganismos***

La preservación y uso de microorganismos en la biorremediación dentro de la acuicultura es un campo de creciente importancia debido a su potencial para mejorar la calidad del agua, reducir la acumulación de contaminantes y promover un ambiente saludable para el cultivo de organismos acuáticos. La liofilización es una técnica clave en la conservación de estos microorganismos, permitiendo su almacenamiento a largo plazo y facilitando su transporte y aplicación.

- ***Liofilización***

La liofilización en acuicultura es un proceso utilizado para deshidratar productos acuáticos, manteniendo su calidad y prolongando su vida útil. Este proceso implica congelar el producto y luego reducir la presión para permitir que el hielo sublime, pasando de sólido a vapor sin convertirse en líquido. La liofilización conserva las propiedades nutricionales y organolépticas del producto, lo que es crucial para alimentos y vacunas en acuicultura (Abdelwahed & Amores, 2020).

- ***Procedimientos de liofilización:***

- Preparación del cultivo:*** Los microorganismos se cultivan en un medio adecuado hasta alcanzar una fase de crecimiento específica.
- Congelación:*** El cultivo se congela rápidamente a temperaturas muy bajas para formar hielo.
- Sublimación:*** El hielo se sublima bajo condiciones de vacío, eliminando el agua sin pasar por el estado líquido.
- Sellado al vacío:*** Los microorganismos deshidratados se sellan en viales estériles para evitar la humedad y la contaminación.

- ***Introducción a la revivificación de microorganismos liofilizados***

La liofilización es un método comúnmente utilizado para la conservación a largo plazo de microorganismos. Este proceso implica la eliminación de agua de los microorganismos mediante sublimación, lo que permite que los cultivos se almacenen en estado seco. Sin embargo, revivir estos microorganismos requiere procedimientos específicos para asegurar su retorno a un estado activo y viable.

#### ***a) Rehidratación y manejo de bacterias y algas***

Para las bacterias y algas liofilizadas, el método preferido para su rehidratación involucra el uso de un caldo de cultivo adecuado. El documento sugiere extraer aproximadamente 0.5 a 1.0 ml de medio recomendado para rehidratar el pellet liofilizado, transferir la suspensión nuevamente al tubo de caldo y mezclar bien. Este procedimiento asegura que las células reciban los nutrientes necesarios para retomar su crecimiento activo.

#### ***b) Revivificación de hongos filamentosos y levaduras***

El manejo de hongos filamentosos y levaduras liofilizados requiere cuidados adicionales debido a sus características específicas de crecimiento. La guía sugiere usar una pipeta Pasteur para agregar agua esterilizada al vial interno, luego transferir todo el contenido a un tubo de ensayo con más agua esterilizada. Es recomendable dejar que la levadura u hongo se rehidrate durante al menos un par de horas antes de transferirlo a caldo o agar sólido. La rehidratación prolongada puede aumentar la viabilidad de algunos hongos.

#### ***c) Manipulación de bacteriófagos***

Los bacteriófagos liofilizados también requieren un proceso de rehidratación específico. Se debe preparar un caldo de cultivo en crecimiento activo del huésped bacteriano antes de rehidratar la muestra de fagos. La mezcla resultante debe utilizarse para preparar una nueva suspensión de fagos de alto título y conservar la mezcla restante en un vial estéril a una temperatura entre 2 °C y 10 °C.

#### ***d) Consideraciones para Virus de Plantas***

Los virus de plantas generalmente se distribuyen en tejidos vegetales liofilizados. La preparación del inóculo implica triturar completamente el tejido en un tampón de inoculación y luego frotar la mezcla sobre las plantas hospedantes usando un hisopo de algodón esterilizado y un abrasivo fino. Este proceso es crucial para asegurar que el virus pueda infectar eficazmente las plantas hospedantes.

### ***1.4.6. Activación de productos comerciales***

La activación de productos comerciales para biorremediación en acuicultura implica el uso de microorganismos para tratar y mejorar la calidad del agua y del suelo

en la acuicultura.

Al indagar más acerca de la activación de estos productos una de las personas que hemos encuestado menciona que, durante la fase de preparación antes de la siembra se activa el producto preparando el Medio de Cultivo (MC). Se mezcla agua de la piscina, melaza, polvillo de arroz y un complejo de minerales. Tras 24 horas, se diluye del producto Silicam Plus en una porción del MC y se vierte en el tanque, utilizando un aireador o moviendo la solución tres veces al día. La aplicación se realiza cuando el pH sea menor de 3.7 o después de 3 días después de haber realizado la preparación. La dosificación es de 100 litros por hectárea antes de la siembra y cada 7 días durante el cultivo.

#### ***1.4.7. Parámetros que regulan el crecimiento de microorganismos en condiciones controladas***

En la acuicultura, donde se lleva a cabo la crianza de organismos acuáticos, es necesario considerar diversos elementos para regular el crecimiento de los organismos en cultivo. Estos factores pueden variar según la especie acuática y las condiciones específicas del entorno, pero algunos de los elementos fundamentales incluyen: temperatura del agua, oxigenación.

- ***La temperatura***

La temperatura desempeña un papel crucial en la proliferación y supervivencia de los microorganismos. “El margen de crecimiento, usualmente alrededor de 40 grados en muchas bacterias, refleja la adaptabilidad a diferentes temperaturas. La temperatura mínima provoca la rigidez de la membrana, deteniendo procesos celulares” (Universidad de Granada,2020).

- ***La oxigenación***

La presencia de oxígeno es crucial para los procesos metabólicos de los microorganismos, ya que facilita la generación de energía. “La escasez de oxígeno puede limitar tanto el crecimiento como la actividad de estos organismos. La disponibilidad de oxígeno impacta directamente en la velocidad de reproducción y la eficiencia de los microorganismos” (Espinoza,2019) siendo en ambientes anaeróbicos donde algunos pueden subsistir, aunque con restricciones en su crecimiento.

- ***El pH***

Tras varias pruebas de pH Fernández Chiara, J. G., & Guzmán Ponce, K. S. (2019). Argumentaron que, el pH esencial para las levaduras, impacta el crecimiento y rendimiento microbiano en un rango óptimo de 4.0 a 6.0. Alteraciones en el pH afectan la composición y la adhesión de la biomasa. La disociación ácido-base incide en la floculación microbiana. Este fenómeno influye en la adherencia de la biomasa a superficies como el vidrio. Asimismo, el pH juega un papel clave en los productos finales del metabolismo anaeróbico. Ajustes en el valor de pH pueden modificar la naturaleza de la superficie microbiana.

En estudio realizado por Castrillón & Montoya, D. (2020) se determinó que, los microorganismos tienen un rango de pH óptimo alrededor de 7 para desarrollarse. Existen umbrales mínimos, como pH 5.0, donde muchos dejan de crecer. Algunos son más tolerantes, alcanzando pH 4.6 o 4.4. También hay un pH máximo negativamente afectando su crecimiento, variando según el tipo. Bacterias acéticas prefieren 5.4-6.3, bacterias lácticas 5.5-6. Levaduras y hongos toleran pH más bajos que las bacterias, pero con valores máximos similares. La supervivencia y reproducción microbiana se ven afectadas por el pH.

- ***Efecto del pH en la biorremediación.***

Gracias a las investigaciones de Álava, Aguilar, Villafuerte, & Guerrero (2022). Se determinó que, el pH del agua desempeña un papel crucial al aumentar la solubilidad de compuestos como el fósforo en los sedimentos de estanques y afecta la toxicidad del amoníaco. Desequilibrios en el pH pueden dar lugar a una acumulación excesiva de calcio bajo el exoesqueleto, complicando la muda. Gestionar cuidadosamente el pH es esencial para reducir la toxicidad del amoníaco, evitar cosechas prematuras innecesarias y asegurar un desarrollo eficiente del caparazón, minimizando así las pérdidas causadas por el canibalismo (p.6).

El impacto del pH en la biorremediación es un elemento crucial, ya que incide en la actividad y viabilidad de los microorganismos involucrados en este proceso. “La efectividad de estos procesos puede variar en función de si el entorno es ácido, neutro o alcalino. Por lo tanto, es fundamental controlar y ajustar el pH para optimizar la eficiencia



de la descontaminación en áreas afectadas” (Ome, & Zafra, 2018).

Tras diversas investigaciones de los científicos Cervantes, Orihuela, & Rutiaga. (2019) se afirmó que, las variaciones en el pH influyen significativamente en el desarrollo microbiano. Mientras algunas bacterias y hongos prefieren entornos ácidos con pH tan bajo como 3.0, otros prosperan en niveles más neutros o alcalinos. Para muchas bacterias, el rango óptimo es entre 6.0 y 8.5, y solo unas pocas toleran pH 8.5 o superior. En el caso de los hongos, pueden crecer hasta pH 8.5, aunque prefieren ambientes ácidos. Al igual que algunas bacterias, los hongos pueden modificar el pH en medios no tamponados durante su crecimiento.

La eficacia de la biorremediación varía significativamente con el pH, siendo más efectiva en presencia de melaza en comparación con condiciones sin melaza. La activación de lactobacilos con agua no muestra una reducción significativa de contaminantes. Estos resultados subrayan la importancia del pH y sugieren que la presencia de lactobacilos en la melaza mejora los procesos de biorremediación. La melaza actúa como regulador y estabilizador del pH al absorber el átomo de carbono de CO<sub>2</sub>, utilizado por el volumen de algas, reduciendo así la acidez del agua y aumentando el pH (Chephamsinhhocbio, 2021).

- ***Control del crecimiento de microorganismos***

La investigación realizada por Fernández, & Martínez, (2023) expresa que la importancia de comprender la ecología microbiana en estos entornos acuáticos y aboga por enfoques integrados que consideren tanto la producción acuícola como la gestión ambiental. En resumen, el control del crecimiento de microorganismos mediante estrategias de biorremediación se presenta como una herramienta prometedora para abordar los desafíos ambientales asociados con la acuicultura intensiva.

El control de crecimiento de microorganismos es crucial en el ámbito de la remediación acuática y el ajuste del pH. los investigadores Encalada, Núñez, & Márquez, A. (2022) gracias al análisis microbiano del insumo acuícola realizado en su tesis determinaron que: El enfoque se centra en regular y gestionar la proliferación de microorganismos, ya que su crecimiento descontrolado puede afectar negativos en los ecosistemas acuáticos. Además, se refiere a estrategias específicas, como el uso de probióticos y prebióticos y la aplicación de técnicas de ajuste del pH para mantener un

equilibrio adecuado en el entorno acuático. Estas medidas son esenciales para mejorar la calidad del agua y promover la salud de los ecosistemas acuáticos.

Anangono & Lloacana (2022) expusieron que El control del crecimiento de microorganismos se realiza a través de diversas estrategias, como desinfección con agentes químicos o físicos, ajuste de temperatura y pH, introducción de probióticos, uso de filtración y control biológico. Además, se aplican técnicas específicas, como la biorremediación, que aprovechan microorganismos para degradar contaminantes, adaptándose a la naturaleza de la contaminación. Estas medidas buscan limitar el desarrollo de microorganismos no deseados en entornos acuáticos, garantizando condiciones óptimas para la calidad del agua.

## II. MATERIALES Y METODOS

### 2.1. Ubicación

La parte experimental de nuestra investigación se llevó a cabo en el laboratorio de sanidad vegetal ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

#### 2.1.1. *Materiales y equipos*

##### *Materiales*

- Agar TSA
- Agar Bacillus
- Producto microbiano
- Tiras indicadoras de pH
- Agua de mar esterilizada (laboratorio de larvas)
- Alcohol (desinfectar las manos y equipos)
- Placas Petri
- Mandil
- Mascarillas
- Fósforos
- Guantes
- Cámara del celular
- Cuaderno de apuntes

##### *Equipos*

- Balanza gramera
- Balanza analítica
- Incubadora
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Mechero
- Tubos de ensayo
- Micropipeta

- Asa
- Papel aluminio
- Fundas transparentes
- Espátula
- Gradilla
- Matraz Erlenmeyer

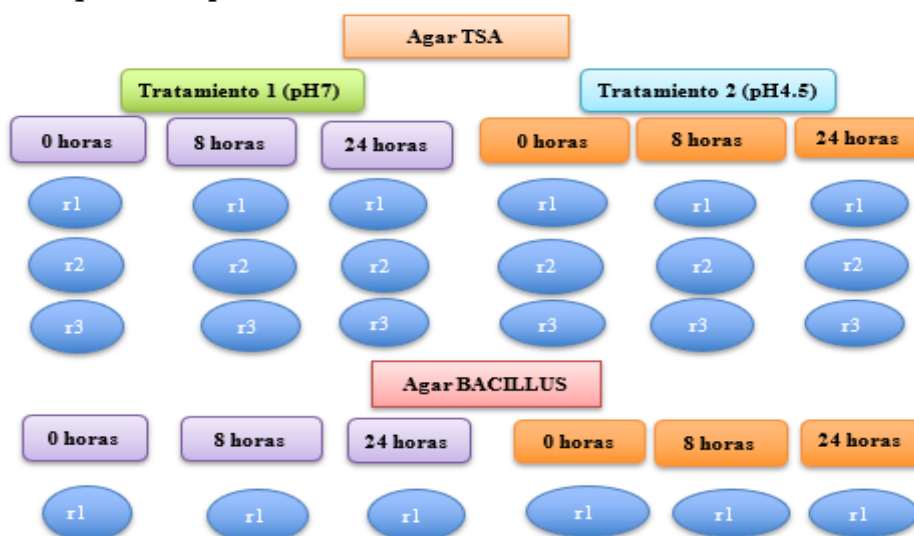
### 2.1.2. Variables a evaluar

En nuestro trabajo evaluamos varios parámetros como es el pH y el crecimiento microbiano en base al tiempo para los cuales hemos determinados 3 intervalos de tiempos que son 0 horas, 8 horas y 24 horas

### 2.1.3. Diseño experimental

Para la parte experimental se plantearon 2 tratamientos (T1 y T2). En el primer tratamiento se utilizó agua de mar con un pH 7, para el segundo tratamiento (pH 4.5) se utilizó de igual manera agua de mar y para llegar al pH indicado se suministró cantidades pequeñas de vinagre blanco. En el estudio evaluamos el efecto del pH en la concentración de bacterias en la mezcla de agua de mar con el producto microbiano. El control del comportamiento de las bacterias en los diferentes tratamientos fue verificado en diferentes intervalos de tiempo: 0 horas (t1), 8 horas (t2) y 24 horas (t3).

### 2.1.4. Croquis del experimento



*Ilustración 1. Diseño experimental para evaluar el crecimiento de microorganismos liofilizados a niveles de pH*

## 2.2.METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la investigación se realizó ensayos para evaluar el efecto del pH sobre concentración de bacterias totales que se propagan de un producto que es comercializado para biorremediación.

La muestra de agua de mar se obtuvo de un laboratorio de larvas desde el muelle de cabotaje del puerto de la ciudad de Machala, la cual fue puesta en recipientes esterilizados, y cerrados herméticamente.

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

Antes de empezar a realizar la parte práctica de nuestro ensayo, se procedió a desinfectar tanto la autoclave como también el mesón donde se colocó la muestra de agua, 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 industri.

*Ilustración 3. Esterilización de agua de mar*



### 2.2.2. *Preparación de agar*

Para la preparación de los agares se procedió con los siguientes pasos:

- Pesamos 12 gramos del agar TSA y 4 gramos del agar para Bacillus con la ayuda de una balanza analítica proporcionado por el laboratorio de calidad de suelos de la facultad de ciencias agropecuarias.
- Utilizamos 350ml agua destilada para el primer agar y 80ml para el segundo agar.
- Mezclamos el agua con cada uno de los agares en un matraz Erlenmeyer.

- Sellamos el matraz con papel de aluminio y procedimos a agitar el agua con los agares hasta que se disuelva por completo.
- Lo llevamos al microondas por un corto periodo de tiempo (5- 10 minutos).
- Procedimos a utilizar el autoclave según las indicaciones de la ingeniera a cargo del laboratorio sanidad vegetal y a las indicaciones de acuerdo a la ficha técnica de cada uno de los agares a utilizar, luego se procedió a esperar de 1h a 1h 30min hasta finalizar el proceso de esterilizado.
- Dejamos enfriar una vez ya transcurrido el tiempo en la autoclave
- Desinfectamos la cámara de flujo laminar y colocamos 24 placas Petri, destinadas 15 para el primer agar y 9 para el segundo agar, posteriormente se procedió a colocar el medio de cultivo en las placas Petri para finalmente realizar la siembra.

*Ilustración 4. Desinfección de cámara de flujo laminar*



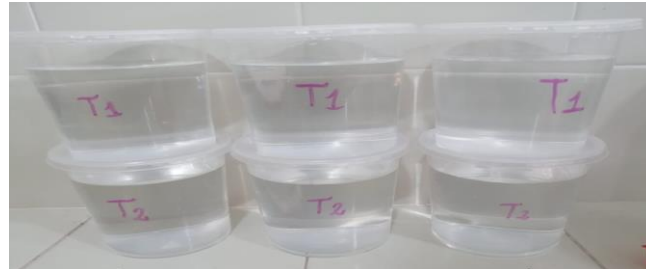
### ***2.2.3. Ensayos experimentales para evaluar el crecimiento de microorganismos liofilizados***

Para la activación del producto microbiano se siguió los siguientes pasos:

- Autoclavamos el agua de mar y tubos de ensayo aproximadamente de 1h -1h 30 min para lograr la esterilización de los instrumentos, dejamos enfriar luego de haber transcurrido el tiempo necesario.
- Tomamos 1 litro de agua de mar autoclavada
- Para el agua en el que se requería un pH menor (4.5) se utilizó 5ml de vinagre en el litro de agua.
- Pesamos 0.2 gramos del producto con la ayuda de la balanza analítica
- Mezclamos el agua más el producto.
- Se esperó las 24 horas correspondientes para lograr el proceso de activación

**Nota:** Se realizó este procedimiento 3 veces para cada tratamiento (pH7- pH4.5) debido a que se hicieron réplicas para cada pH, garantizando de esta manera que la presencia de algún cambio en respuesta a la variable de estudio.

*Ilustración 5. Activación de microorganismos liofilizados*



#### **2.2.4. Dilución**

Para el proceso de la dilución se siguieron los siguientes pasos:

- Autoclavamos los tubos de ensayo, un total de 60 tubos.
- Tomamos 9 ml de agua de mar auto clavada y colocamos en todos los tubos (5 tubos de ensayos respectivos).
- Tomamos con la micropipeta 1 ml de agua previamente mezclada con el producto microbiano.
- Colocamos el ml de agua mezclada con el producto en los 9 ml del agua de mar autoclavada, luego procedimos a tapar con papel aluminio y homogenizar la mezcla.
- Tomamos con la ayuda de la micropipeta 1000 microlitro del tubo madre, tapamos y agitamos.
- Realizamos lo mismo con los tubos de ensayos restantes.

*Ilustración 6. Dilución*



### ***2.2.5. Siembra de microorganismos en placas Petri en agar***

Luego de obtener el medio líquido, se dejó reposar por un minuto y se colocó las placas de Petri en la cámara de flujo previamente esterilizada. Después de colocar las placas, se agregó una pequeña cantidad de agar a cada caja usando un vaso de precipitado dejando solidificar de 10 a 15 minutos con ventilación de la cámara de flujo. Este proceso se realizó diariamente para cada tratamiento de la investigación. Se realizaron 8 placas en total (6 TSA, 2 AGAR BACILLUS) para cada intervalo de hora propuesto en la investigación (0,8 y 24 horas) con ayuda de papel transparente se cubrió las placas y se colocó el papel aluminio. Se procedió a dejarlas por 24 horas en la incubadora de 27 a 30°C para luego realizar el conteo.

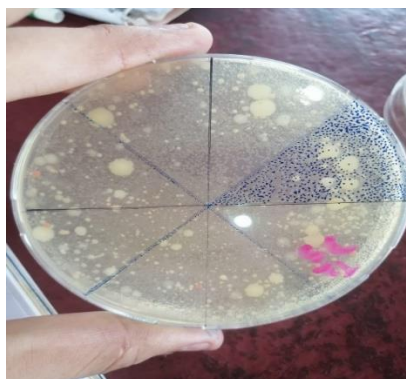
*Ilustración 7. Medio de cultivo*



### ***2.2.6. Conteo de microorganismos***

Se realizó el conteo 24 horas después del proceso de activación en los intervalos de tiempo de 0 horas, 8 horas y a las 24 horas, el primer conteo de las cajas sembradas a las 0 horas se realizó el día lunes 01 de julio del 2024, se realizaron los conteos respectivos teniendo en cuenta la hora de siembra y el conteo de cada replica.

*Ilustración 8. Conteo de microorganismos*





### **2.2.7. Evaluación de la tasa de crecimiento microbiano**

Para el cálculo de la tasa de crecimiento específico ( $\mu_{\max}/h^{-1}$ ) se determinó el número de unidades formadoras de colonias (UCF) en función del tiempo. La ecuación que se empleó para su determinación es la siguiente:

$$K = \frac{\ln(C_f) - \ln(C_i)}{t_2 - t_1}$$

Dónde:  $\ln(C_f)$  es el logaritmo del número de unidades formadoras de colonias (UFC). Medidas en el tiempo  $t_2$ .  $\ln(C_i)$  es el logaritmo del número de unidades formadoras de colonias en el  $t_1$ .

### III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1. Resultados

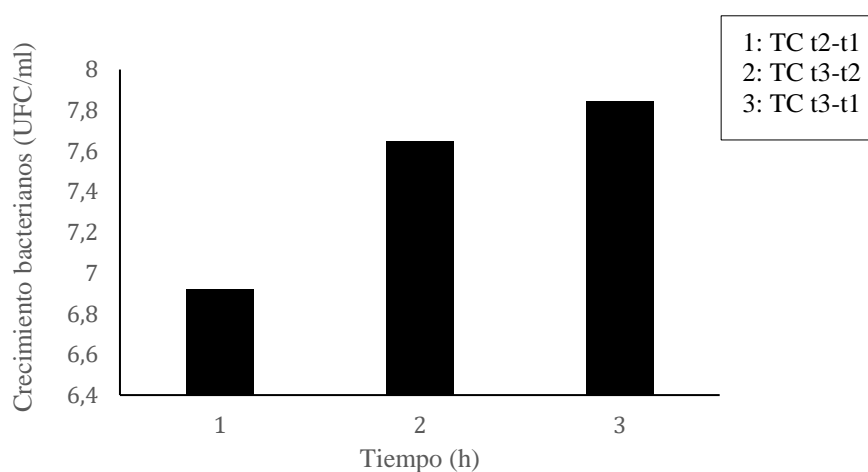
##### 3.1.1. Tasa de crecimiento de microorganismos liofilizados durante el proceso de activación de un producto microbiano a pH 7

En la tabla 2 podemos observar la tasa de crecimiento de la concentración inicial menos la concentración final dividido para los intervalos de tiempo (0 a 8, 8 a 24 y 0 a 24 horas) alcanzo un promedio de  $6.92 \pm 0.13$ , posteriormente, entre las 8 y 24 horas la tasa de crecimiento fue de  $7.64 \pm 0.32$  para finalmente entre las 0 y 24 horas llegar a  $7.84 \pm 0.31$  ufc/ml.

*Tabla 2. Tasa de crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas.*

TC	r1	r2	r3	PROMEDIO	DS
TC t2-t1	7,035482563	6,950424049	6,777902943	6,921269852	0,131241345
TC t3-t2	8,014981954	7,48434349	7,441725638	7,647017027	0,319378632
TC t3-t1	8,214334111	7,679980999	7,632870268	7,842395126	0,322968747

En la Figura 1 se muestra los resultados de la tasa de crecimiento microbiano de las siembras, donde muestra que después de transcurridas las 24 horas establecidas para realizar el conteo hubo una mayor tasa de crecimiento de las colonias en aquellas placas incubadas 24 horas después de su activación en relación a aquellas incubadas a las 0 y 8 horas.



*Figura 1. Crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas.*

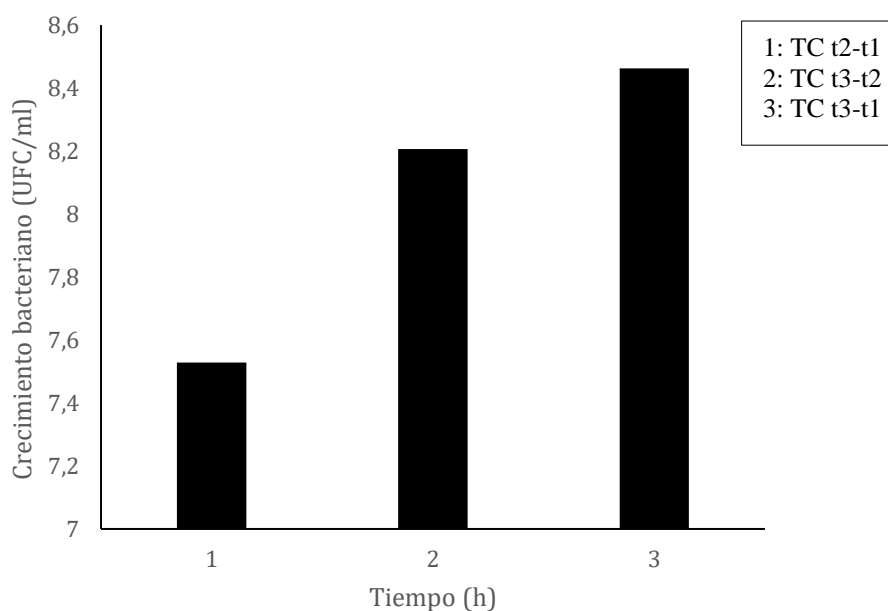
### 3.1.2. Tasa de crecimiento de microorganismos liofilizados durante el proceso de activación de un producto microbiano a pH 4.5

La tabla 3 nos muestra la tasa de crecimiento de la concentración inicial menos la concentración final dividido para los intervalos de tiempo (0 a 8, 8 a 24 y 0 a 24 horas) alcanzó un promedio de  $7.52 \pm 0.22$ , posteriormente, entre las 8 y 24 horas la tasa de crecimiento fue de  $8,20 \pm 0.28$  para finalmente entre las 0 y 24 horas llegar a  $8,46 \pm 0.27$  ufc/ml.

**Tabla 3.** Tasa de crecimiento bacteriano a pH 4.5 en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas.

TC	r1	r2	r3	PROMEDIO	DS
TC t2-t1	7,644302479	7,666647654	7,27440961	7,528453248	0,220291747
TC t3-t2	8,48487254	7,932756824	8,200201169	8,205943511	0,276102647
TC t3-t1	8,741841428	7,201803847	8,441855939	8,461833738	0,270572507

En la figura 2 nos muestra los resultados obtenidos en el tratamiento 2 en diferentes periodos de tiempos en el cual se observa que existió un mayor crecimiento de colonias en aquellas placas incubadas 24 horas después de su activación en relación a aquellas incubadas a las 0 y 8 horas

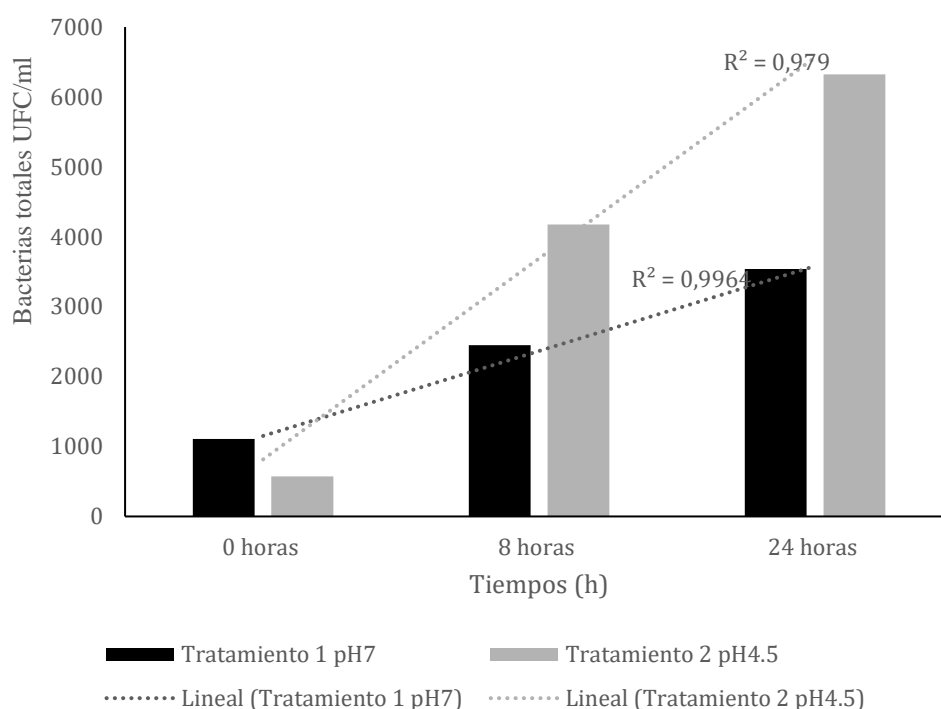


**Figura 2.** Crecimiento bacteriano en diferentes tiempos durante un periodo de 24 horas

### 3.1.3. Crecimiento de bacterias totales y el efecto entre pH 7 y pH 4.5

Mediante esta grafica podemos determinar en qué intervalo de tiempo hubo un mayor crecimiento de bacterias totales entre los dos tratamientos, la gráfica nos indica que el mayor crecimiento se dio en aquellas placas incubadas a 24 horas y un pH acido.

El crecimiento bacteriano para ambos niveles de pH a las 24 horas se mantiene, experimentalmente, a pH 7 con  $R^2= 0,97$  pero a pH 4,5 con  $R^2= 0,99$  se observa un mayor crecimiento. Además, se puede observar que a pH 4,5 se duplica la concentración de bacterias heterótrofas totales.

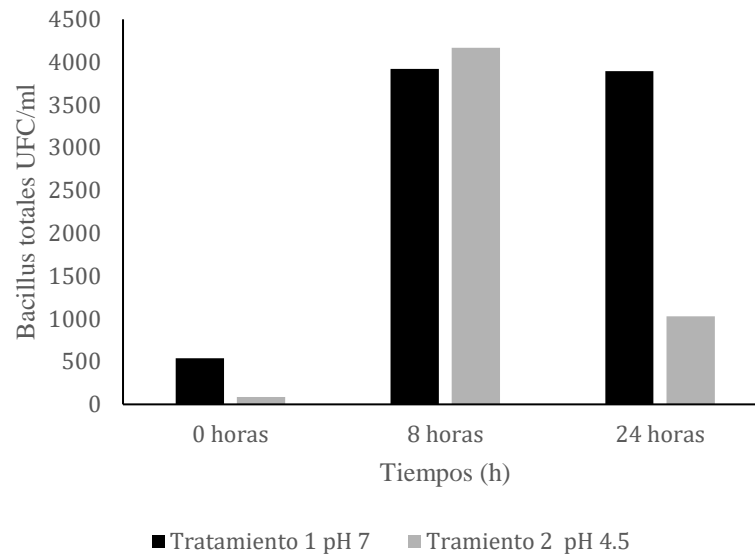


**Figura 3.** Bacterias totales entre tratamientos

### 3.2.1. Crecimiento de *Bacillus* sp en pH 7 y pH 4.5.

La figura 4 nos indica que la mayor concentración de *Bacillus* totales en ambos tratamientos con relación al tiempo se dio a las 8 horas posterior de su incubación, en este periodo de tiempo se observa que el resultado entre los tratamientos no tiene una diferencia significativa, ya que se asemejan entre sí.

En pH 7 el crecimiento de *Bacillus* se mantuvo alto durante el tiempo, mientras que a pH 4,5 se ve que hubo mayor crecimiento a las 8 horas, pero luego disminuyó drásticamente.

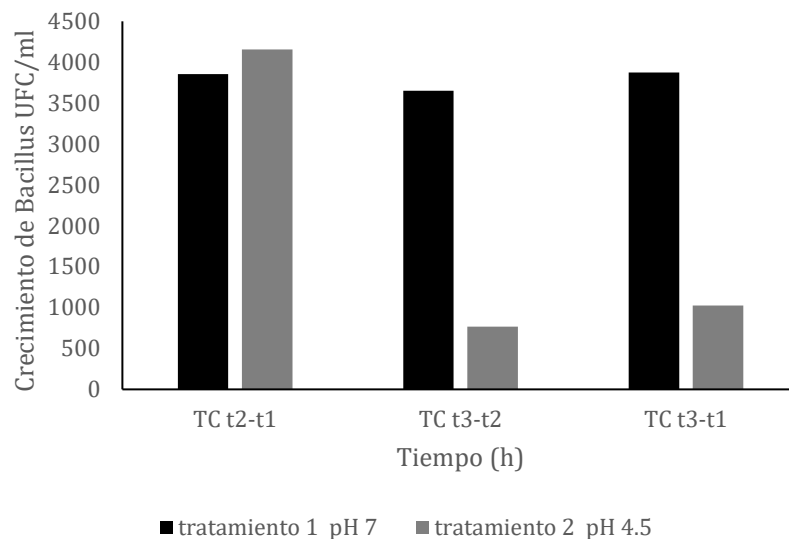


**Figura 4.** Crecimiento de *Bacillus* entre tratamientos

### 3.2.2. Tasa de crecimiento de *Bacillus* sp y el efecto en pH 7 y pH 4.5.

La tasa de crecimiento para el primer periodo de tiempo fue casi similar entre los dos niveles de pH, mientras que para el segundo la tasa de crecimiento fue significativamente diferente entre los dos niveles de pH. Finalmente, para el último periodo de tiempo de igual manera la tasa de crecimiento fue diferente entre los dos niveles de pH. Para el pH 7 se observa que, aunque no tuvo crecimiento mayor que el pH 4.5 siempre mantuvo un crecimiento similar en todas las horas del estudio.

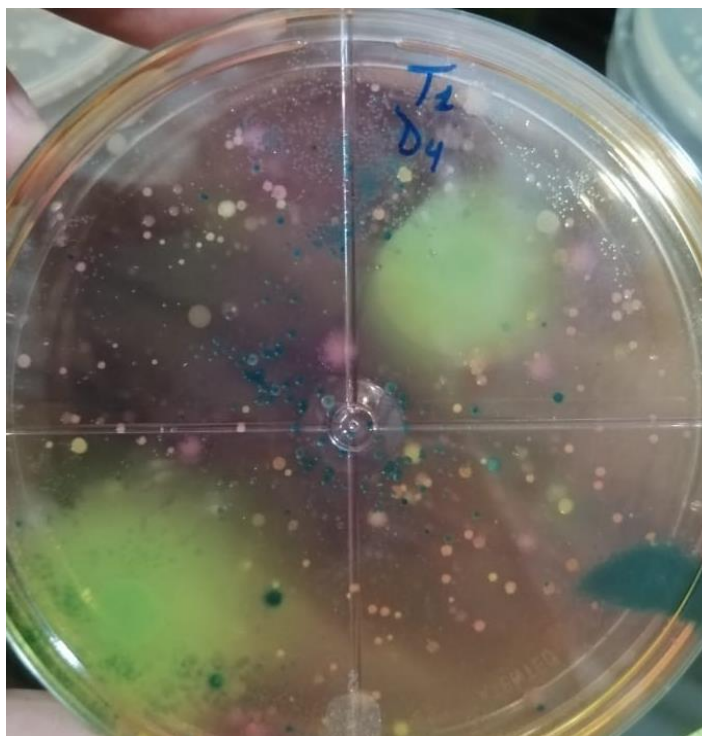
La figura 5 nos da a conocer la tasa de crecimiento de *Bacillus* en los dos niveles de pH. En el pH 7 para los intervalos de tiempo entre las 0 y 8 horas el crecimiento fue decreciendo aproximadamente a un 5,28%, mientras que entre las 8 y 24 horas se vio un ligero aumento de 6,09%, finalmente entre las 0 y 24 horas casi no se observó crecimiento ya que fue solo del 0,49%. En el tratamiento 2 existe una disminución de aproximadamente el 81,54% entre las 0 y 8 horas, en cambio entre 8 y 24 horas un aumento del 25%, y por último entre las 0 y 24 horas se vio una disminución del 75,36%.



**Figura 5.** Tasa de Crecimiento de *Bacillus* totales en pH 7 y pH 4.5

- **Tipos de *Bacillus* encontrados en pH 7 y pH 4,5**

Se determinó el tipo de *Bacillus* encontrados en nuestro cultivo mediante su coloración. Para ambos niveles de pH se observaron *Bacillus* con coloración azul, amarillo y roja.



**Ilustración 9.** Tipos de *Bacillus*

### ***Bacillus thuringiense***

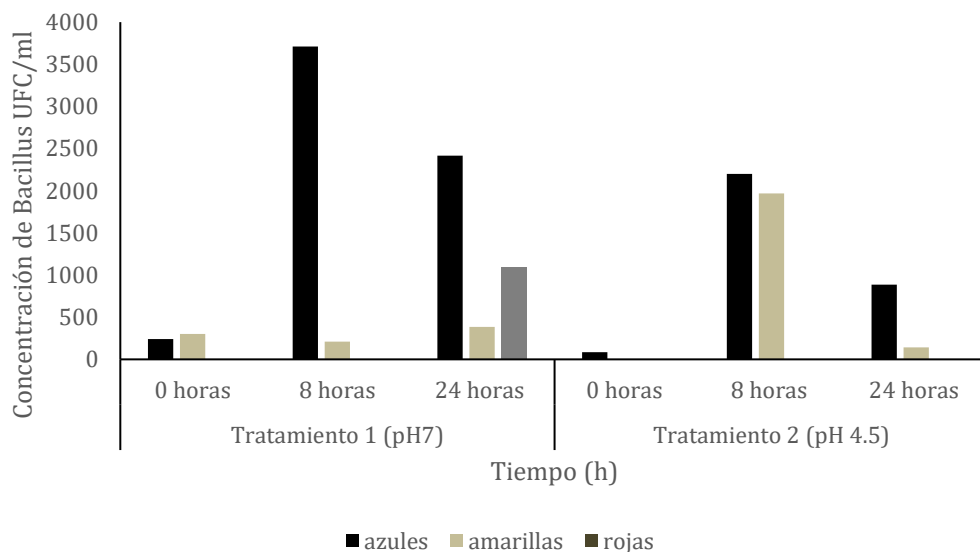
En el pH 7 a las 0 horas hubo una proliferación de *Bacillus* azules de aproximadamente 240 UFC/ml, a las 8 horas se vio un incremento donde se desarrollaron 3.712 UFC/ml, a las 24 horas se observó una disminución de aproximadamente el 35%. En pH 4.5 el crecimiento de este *Bacillus* en las 0 horas fue muy bajo 86 UFC/ml, mientras que para las 8 horas se vio un aumento llegando a 2.200 UFC/ml, finalmente a las 24 horas disminuyó quedando un total de 887 unidades UFC/ml.

### ***Bacillus subtilis***

En el pH 7 se evidenció crecimiento de *Bacillus* con coloración amarilla, en las 0 horas inició con una concentración de 300 colonias, a las 8 horas disminuyó quedando 210 UFC/ml y para las 24 horas estas aumentaron casi el doble. Sin embargo, para el pH 4.5 no se vio crecimiento de este *Bacillus* a las 0 horas, pero a las 8 horas se logró contabilizar 1.968 colonias y fue disminuyendo al llegar a las 24 horas quedando un total de 141 UFC/ml.

### ***Bacillus coagulante***

En los dos niveles de pH a las 0 y 8 horas no se vio crecimiento de este *Bacillus* con coloración roja, sin embargo, al llegar a las 24 horas en el pH 7 se contabilizaron 1.096 UFC/ml, mientras que para el pH ácido a esta hora no se encontró ninguna colonia.



**Figura 6.** Concentración de *Bacillus* en diferentes tiempos durante 24 horas.

## 3.2. DISCUSIÓN

### 3.2.2. *Efecto del pH en el crecimiento bacterias heterótrofas totales*

Con respecto a la tasa de crecimiento bacteriano en condiciones ácidas, los resultados indican que un pH de 4,5 puede ser favorable para la activación y proliferación de microorganismos liofilizados. Esta observación sugiere que los microorganismos presentes en el producto son acidófilas o tolerantes a condiciones ácidas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Johnson y Hallberg (2005) donde destacan que las bacterias acidófilas poseen adaptaciones específicas que les permiten prosperar en condiciones de pH bajo.

La capacidad de las bacterias para crecer y activarse a un pH de 4,5 implica que el producto biorremediador puede ser eficaz en la remediación de ambientes contaminados que poseen un pH naturalmente ácido o que han sido acidificados por actividades industriales. Esto es particularmente relevante en el tratamiento de suelos y aguas ácidas, donde otras bacterias no podrían sobrevivir o ser eficientes. En un estudio de González-Toril et al. (2003), se encontró que las bacterias acidófilas poseen adaptaciones específicas que les permiten prosperar en condiciones de pH bajo, como la producción de compuestos protectores y la regulación del pH interno. Los autores confirman que estas adaptaciones son cruciales para la viabilidad y efectividad de los microorganismos en ambientes ácidos, lo que concuerda con nuestros resultados y apoya la potencial eficacia de los productos biorremediadores cuando son sometidas a un proceso de activación en condiciones ácidas.

El uso de bacterias que pueden activarse y crecer a pH bajos presenta varias ventajas. Primero, no se necesitaría ajustar el pH del entorno, lo cual podría ser costoso y técnicamente desafiante. Segundo, estas bacterias pueden ser más competitivas en entornos ácidos, superando a otros microorganismos no deseados y aumentando la eficiencia de la biorremediación. Según Mora et al. (2019), este enfoque no solo disminuye la necesidad de ajustar el pH del entorno contaminado, sino que también permite que estas bacterias compitan de manera más efectiva en entornos ácidos.

Los resultados sugieren que, producir compuestos con microorganismos inactivos, es importante considerar la selección de cepas bacterianas que sean no solo eficientes en la degradación de contaminantes, sino también adaptadas a las condiciones específicas del



sitio de remediación, incluyendo el pH. Este enfoque garantizará una mayor eficacia y sostenibilidad en los procesos de biorremediación. Según Meyer et al. (2020), la selección de cepas bacterianas debe realizarse con base en su capacidad para tolerar y prosperar en condiciones ambientales específicas, como el pH y la salinidad, lo que asegura una mayor eficacia en la remediación.

### **3.2.2. Efecto del pH en el Crecimiento de *Bacillus* totales**

Al comparar la tasa de crecimiento entre los tratamientos en cuanto a la concentración de *Bacillus* en el tiempo uno y dos para pH 7 la concentración de *Bacillus* fue ligeramente inferior a la de pH 4.5. Sin embargo, a las 8 y las 24 horas en cuanto al pH 7 fue muy superior a la tasa de crecimiento encontrada en pH 4.5. Finalmente, la tasa de crecimiento entre las 0 y 24, comparando ambos tratamientos en ese intervalo de tiempo se encuentra que en el pH 7 los *Bacillus* lograron mantenerse activos en relación a la hora anterior mientras que para pH 4.5 se vio un ligero aumento. Estos resultados concuerdan con el estudio de Zhao et al. (2019), quienes encontraron que un pH más cercano a la neutralidad favorece la actividad metabólica de *Bacillus*, permitiendo un crecimiento más robusto y sostenido.

*Bacillus thuringiense* (coloración azul) inicio en ambos niveles de pH con una concentración baja y su concentración máxima se dio a las 8 horas en el pH 7 este valor fue el mayor entre ambos niveles de pH, debido a que se encontró que en el pH ligeramente ácido la concentración máxima solo fue de 2.200 colonias mientras que en el pH 7 fue de aproximadamente el doble, a las 24 horas en los dos niveles de pH se evidenció decrecimiento. En cambio, el crecimiento del *Bacillus subtilis* (coloración amarilla) en el pH 7 inicio con una concentración de 300 UFC/ml, mientras que para pH 4.5 no se observó colonias, al llegar a las 8 horas disminuyó en el pH 7 pero empezó a crecer en el pH ácido, al llegar a las 24 horas se vio un aumento de 84 colonias más que las 0 horas en el pH 7 y para el pH 4.5 se observó una disminución significativa. El crecimiento de *Bacillus coagulante* (coloración roja) fue muy limitado ya que únicamente se observó crecimiento de esta especie a las 24 horas en el pH 7. De todas las especies de *Bacillus* encontradas en nuestro cultivo la que tuvo mayor proliferación fue *Bacillus thuringiense* con 3.712 UFC/ml a las 8 horas en pH 7.

Aunque está claramente identificado que la concentración de bacterias aumenta, el estudio fue realizado con una enorme limitación por la falta de una incubadora. Las

condiciones ambientales del laboratorio durante el experimento no pudieron ser completamente controladas, lo que podría haber introducido variabilidad en los resultados. A pesar de ello el crecimiento bacteriano fue desarrollado bajo temperatura controlada, por lo tanto, no reduce la importancia en la relevancia de los resultados obtenidos.

#### IV. CONCLUSIONES

- La mayor tasa de crecimiento en agar TSA se dio cuando estas fueron sometidas a un pH ligeramente ácido (4.5) en comparación a aquellas que fueron sometidas a pH 7. Duplicándose el número de bacterias en un período de 24 horas de activación. Se identificó que para ambos tratamientos (pH 7 - pH 4,5) la concentración máxima de microorganismos se dio a las 24 horas después de su activación.
- *Bacillus sp* tuvo un crecimiento de 4.157,25 UFC/ml a las 8 horas, pero se observó que este crecimiento fue decreciendo con el paso de las horas en el pH 4.5.
- *Bacillus sp* a pH 7 tuvo un crecimiento de 3.854,5 UFC/ml a las 8 horas manteniendo su estabilidad de números de colonias hasta las 24 horas de activación.
- Se logró evidenciar que el pH sí afecta en el crecimiento de microorganismos liofilizados (bacterias heterótrofas totales y *Bacillus*) confirmándose ya que cuando se utilizó agua de mar esterilizada con pH 7 hubo constante crecimiento microbiano en comparación con el tratamiento 2 (pH 4,5) donde el crecimiento microbiano se observó marcado con diferencias significativas.

## **RECOMENDACIONES**

- Se sugiere analizar el crecimiento microbiano durante un período más extenso, lo cual permitirá conocer cuántos días los microorganismos permanecen activos en los sistemas de acuicultura.
- El presente trabajo puede ayudar a futuras investigaciones, por lo que se sugiere aplicar las mismas dosis, pero agregar un tratamiento adicional de tal manera que se tenga pH ácido, neutro y alcalino. Lo cual permitirá conocer la tasa de crecimiento de las bacterias en condiciones alcalinas también.

## BIBLIOGRAFÍA

- AgroAndres C. Ltda. (2024). HGS-7. AgroAndres. Recuperado de <https://agroandres.com.ec/producto-agropecuario/probioticos-y-enzimas/hgs-7/>
- Álava, J. N., Aguilar, P. N., Villafuerte, C. D., de Guerrero, N. H., & Guerrero-Ríos, R. (2022). Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura.*, 4(1), 53-65.
- Anangono Méndez, A. E., & Lloacana Bonilla, E. X. (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).
- AL, E. D. V. S. A., & PURPURATU, C. L. " Departamento de Acuicultura. Universidad de Antofagasta: Casilla 170. Antofagasta. "Departamento de Microbiología. Universidad de Santiago de Compostela. España. Financiado por Proyecto FONDECYT 92-0997 y Proyecto Ao-1-263 de la CEE.(Toranzo A).
- Arias, A. M., & Drake, P. (2019). Acuicultura extensiva en la Bahía de Cádiz: importancia del macrobentos en los cultivos de peces en esteros. *ESTADO ACTUAL Y PERSPECTIVAS EN ACUICULTURA*, 7.
- Bahafid W., Joutey N.T., Asri M., Sayel H., Tirry N. & El Ghachtouli N. 2017. Yeast biomass: an alternative for bioremediation of heavy metals (Chapter 12). *YeastIndustrial Applications*, 269-289.
- Barón-Sevilla, B., Bückle-Ramírez, L. F., & Hernández-Rodríguez, M. (2019). Intensive culture of *Litopenaeus vannamei* Boone 1931, in a recirculating seawater system. *Ciencias marinas*, 30(1B), 179-188.
- Barman, D. (2020). Bioremediation of Waste Waters and Application in Aquaculture - A Mini Review. *Research Biotica*, 2(1), 20–25. <https://doi.org/10.54083/resbio.2.1.2020.20-25>
- Baxel Company. (2021). Bac Zyme® Industrial Strength Waste Digester (Natural Bacteria Enzyme). Recuperado de [https://www.baxelcompany.com/Industrial\\_Und\\_Municipality:!Bac-Zyme](https://www.baxelcompany.com/Industrial_Und_Municipality:!Bac-Zyme)
- Bazurto E. J. (2020) de Patógenos, P. D. L. P., De Los Microorganismos, M. L. A., & De Piscinas, E. E. S. Facultad De Ciencias Agropecuarias. PREVENCIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE PATÓGENOS MEDIANTE LA ACCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL SUELO DE PISCINAS CAMARONERAS RESCATADO DE: <Http://Repositorio.Utmachala.Edu.Ec/Bitstream/48000/16107/1/ECUACA-2020-IAC-DE00006.Pdf>
- Boyd, C.E. 2021. Consideraciones sobre la calidad del agua y del suelo en cultivos de camarón. En: Haws, M.C., Boyd, C.E. (eds.). *Métodos para Mejorar la Camaronicultura en Centroamérica*. Editorial-Imprenta UCA, Managua, Nicaragua. 24-25p.
- Burns, R. G. (2019). The interaction of microorganisms, their substrates, and their products with soil surfaces. In *Adhesion of microorganisms to surfaces* (pp. 109-138). Academic Press.
- Castañeda Alvarez, E., & Consuelo Sánchez, L. (2019). Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v14n26/v14n26a06.pdf>
- Castrillón, O., Bedoya, O., & Montoya, D. (2020). Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost. *Producción+ limpia*, 1(2), 87-89.
- Cervantes-Martínez, J., Orihuela-Equihua, R., & Rutiaga-Quiñones, J. G. (2019). Acerca del desarrollo y control de microorganismos en la fabricación de papel. *Conciencia Tecnológica*, (54).
- Chephamsinhhocbio. (2021). Instrucciones sobre cómo utilizar la melaza en la cría de camarones. Chephamsinhhocbio. Obtenido de <https://chephamsinhhocbio.com/tin-tuc/huong-dan-cach-dung-mat-ri-duongtrong-nuoi-tom-105.html>
- Ecotechnology. (2016). Bio-Digestor de materia orgánica para acuicultura. *ECO-AQUABLEND*.

- <https://ecotechnology.com.ec/wp-content/uploads/2018/12/FICHA-TECNICA-aquablend.pdf>
- Encalada Quezada, C. A., Núñez Villacís, M. A., & Márquez, A. (2022). Factibilidad técnica y económica de dos métodos de análisis microbiano del insumo acuícola melaza de caña (Doctoral dissertation, ESPOL. FIMCM: Acuicultura)
- Espinoza Almeida, S. V. (2019). La producción de camarón, análisis de rentabilidad del sistema semi-intensivo entre alimentación tradicional y alimentación automática (Master's thesis, Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Económicas).
- Espinoza Simón, Emilio, Rosas Lemus, Mónica, Cabrera Orefice, Alfredo, Uribe Álvarez, Cristina, Chiquete Félix, Natalia, & Uribe Carvajal, Salvador. (2019). Oxígeno, para bien y para mal. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 57(6), 57-60. Recuperado de 12 de enero de 2024, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422014000600057&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422014000600057&lng=es&tlng=es).
- Ferreira, G. S., Bolivar, N. C., Pereira, S. A., Guertler, C., do Nascimento Vieira, F., Mouriño, J. L. P., & Seiffert, W. Q. (2020). Microbial biofloc as source of probiotic bacteria for the culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 448, 273-279.
- Fernández, A. M. A., Arrieta, D. P., & Martínez, N. G. (2023). Biorremediación en Aguas Residuales Acuícolas: Una Revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 8538-8568.
- Fernandez Chiara, J. G., & Guzman Ponce, K. S. (2019). Bioadsorción de Cromo (VI) con *Saccharomyces Cerevisiae* Inmovilizada, Como Residuo de la Elaboración de la Cerveza, para su Aplicación en Biorremediación de Aguas Contaminadas de la Industria del Curtido, Arequipa 2019
- Garbisu Crespo, C., Amézaga Arregi, I., & Alkorta Calvo, I. (2022). Biorremediación y ecología. Hosiner D., Gerber S., Lichtenberg-Fraté H., Glaser W., Schüller C. & Klipp E. 2019. Impact of Acute Metal Stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLOS ONE*, 9(1): e83330. DOI: 10.1371/journal.pone.0083330
- González-León, L. M., Rizo Porro, M., & Arenal Cruz, A. (2022). *Bacillus firmus*: aplicaciones y potencialidades como probiótico en la acuicultura. *Revista de Producción Animal*, 34(2), 1–12. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-79202022000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202022000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Ijoma, G. N., Selvarajan, R., Oyourou, J. N., Sibanda, T., Matambo, T., Monanga, A., & Mkansi, K. (2019). Exploring the application of biostimulation strategy for bacteria in the bioremediation of industrial effluent. *Annals of Microbiology*, 69(5), 541–551. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-1443-6>
- Kamilya, D., & Devi, W. M. (2022). *Bacillus* Probiotics and Bioremediation: An Aquaculture Perspective. 335–347. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-85465-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-85465-2_15)
- Kuebutornye, F. K. A., Abarike, E. D., & Lu, Y. (2019). A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 87, 820–828. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.010>
- Lajones Ruano, G. V. (2023). Aplicación de biotecnologías “ómicas” para la caracterización y evaluación de bacterias y microalgas domesticadas de biofloc en cultivo super-intensivo a baja salinidad de *Litopenaeus vannamei* y con recirculación de agua
- Lema Navarro, J. P. (2023). Relación entre calidad de agua y amonio tóxico en un periodo de producción del cultivo de camarón *Litopenaeus Vannamei* en Santa Elena-Santa Elena (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2023).
- Martínez Falero, J., & Henares Moreno, C. (2023). Caracterización de Microorganismos Eficientes Nativos para su potencial uso en procesos de compostaje y biorremediación.
- Méndez, Y., Pérez, Y., Torres, Y., Ramirez, J., Tamayo, E., & Cortes, E. (2019). El efecto del bacterol- SHRIMP sobre respuesta productiva en juveniles de camarón. 26 *REDVET*, 18(12), 1-9. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640021.pdf>
- Monroy, C., Castro, T., Castro, J., Castro, G., & Lara, R. (2018). Beneficios del uso de probióticos en la flora bacteriana intestinal de los organismos Acuáticos. *Contacto S*, 85, 11-18.
- Muñoz Kuehne, V. N. (2018). Contribución del biofloc inoculado con diferentes probióticos sobre

- el crecimiento y niveles de actividad enzimática digestiva en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus* Var SPRING). *Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California*.  
[https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2057/1/tesis\\_Mu%C3%B1oz\\_Kuehme\\_Vladimir\\_Nicolas\\_16\\_feb\\_2018.pdf](https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/2057/1/tesis_Mu%C3%B1oz_Kuehme_Vladimir_Nicolas_16_feb_2018.pdf)
- Musyoka, S. N. (2019). Types and Mechanisms of Bioremediation. *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 1(January), 138–155.}
- Narmadha D, Kavitha MS. Treatment of domestic wastewater using natural flocculants. *Int. J Life Sc BT & Pharm Res.* 2019; 1(3):206-213
- Nayak, S. K. (2020, September 27). Multifaceted applications of probiotic *Bacillus* species in aquaculture with special reference to *Bacillus subtilis*. *Reviews in Aquaculture*, 13(2), 862-906. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12503>.
- Navarrete Álava, J., Noles Aguilar, P., Delgado Villafuerte, C., Hernández de Guerrero, N., & Guerrero-Ríos, R. (2022). Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.6536004>
- Ojeda-Morales, M. E., & Juárez-Palacios, I. E. (2019). Biorremediación mejorada con preoxidación química de suelos arcillosos contaminados con petróleo. *Journal of Basic Sciences*, 5(15).
- Ome Barrera, Ó., & Zafra Mejía, C. (2018). Factores clave en procesos de biorremediación para la depuración de aguas residuales. Una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 21(2), 573-585.
- Oña Rocha, T., & Gualoto Oñate, M. (2022). Biorremediación ambiental: La Biodiversidad al Servicio del Ambiente. Universidad Técnica del Norte. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/12831>
- Pascual, L. C. (2019). ACUICULTURA EXTENSIVA EN EL DELTA DEL EBRO. *Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción*, 4, 37.
- Pathak, N., & Mahajan, P. V. (2019). Ethylene Removal From Fresh Produce Storage: Current Methods and Emerging Technologies. In *Reference Module in Food Science* (Issue 2014, pp. 1–6). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22330-5>
- Peña González, J. R. (2017). Procesos de biorremediación en el tratamiento de residuos sólidos del cigarrillo (Doctoral dissertation).
- Pérez-Chabela, M. D. L., Alvarez-Cisneros, Y., Soriano-Santos, J., & Pérez-Hernández, M. A. (2020). Los probióticos y sus metabolitos en la acuicultura. Una Revisión. *Hidrobiológica*, 30(1), 93-105. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2020v30n1/perez>
- Robinson, G., Caldwell, G. S., Jones, C. L. W., & Stead, S. M. (2019). The effect of resource quality on the growth of *Holothuria scabra* during aquaculture waste bioremediation. *Aquaculture*, 499, 101–108. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.09.024>
- Rodríguez, D. T. (2023). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas*, 12(2).
- Rojas, D., Monroi, M., Bustos, J., Ocampo, J., Barajas, E., & Ramirez, J. (2022). Estatus bacteriológico y calidad del agua de cultivo en granjas acuícolas ornamentales de Morelos, México. *Abanico Veterinario*, 12. <https://doi.org/10.21929/ABAVET2022.25>
- Sanabria, Y. A. P. (2019). Historia de la Acuicultura en Colombia. *Revista AquaTIC*, (37).
- Sorroza, L. Ochoa L. (2021). Propuesta de nuevas cepas probióticas para su uso en acuicultura (Doctoral dissertation).
- TAYRON, G. A. E. UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA. REVISIÓN ACERCA DE LA UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS EN EL MEJORAMIENTO DE SEDIMENTOS EN GRANJAS CAMARONERA RECUPERADO DE [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10512/1/DE00002\\_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10512/1/DE00002_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf)
- Vasava, R. (2020). Bioremediation: A tool for sustainable development of aquaculture. Article in *JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES*.

<https://www.thepharmajournal.com/archives/2021/vol10issue9/PartI/10-8-322-305.pdfViewproject>

- Vázquez-Euán, R., Garibay-Valdez, E., Martínez-Córdova, L. R., & Calderón, K. EFECTO DE DIFERENTES DIETAS CON PROBIÓTICOS EN LA CARACTERIZACIÓN MICROBIANA EN UN SISTEMA DE CULTIVO DE *Litopenaeus vannamei* SUPLEMENTADO CON BIOFLOCS. *Área 06 Bioinformática y oómicas*, 93.
- Widiyanto, T., Rusmana, I., Febrianti, D., Shohihah, H., Triana, A., & Mardiati, Y. (2020). Profiles of *Vibrio* and heterotrophic bacteria in the intensive *Vannamei* shrimp culture using bioremediation technique in Karawang. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 535(1), 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/535/1/012019>
- Johnson, D. B., & Hallberg, K. B. (2005). Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environment*, 338(1-2), 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.002>
- González-Toril, E., et al. (2003). Bacterial communities in acidic environments: The Río Tinto case. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2(2-4), 141-153. <https://doi.org/10.1023/B:RESB.0000040462.79973-68>
- Fadda, S., et al. (2022). "Efectividad de probióticos liofilizados en la acuicultura: Impacto en la calidad del agua y la salud de los peces". *Revista de investigación en acuicultura* ,
- Zhang, L., et al. (2021). "Optimización de la liofilización de probióticos para su aplicación en acuicultura." *Ciencia y Tecnología de la Acuicultura*
- Fernández, J., Martínez, A., & González, M. (2018). The effect of pH on the growth of *Bacillus* spp. in bioremediation processes. *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), 1473-1480.
- Meyer, J., Brown, T., & Smith, R. (2020). Selecting effective microbial strains for bioremediation: Importance of environmental adaptability. *Environmental Biotechnology*, 29(4), 367-380.
- Zhao, Y., Wang, J., & Li, X. (2019). Growth dynamics of *Bacillus* species under varying pH conditions: Implications for environmental applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(11), 4421-4430.