

Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador

Bioremediation of shrimp farming effluents by means of autochthonous microbial consortia and native microalgae in Manabí, Ecuador

Jhonny Navarrete Álava¹ , Patricio Noles Aguilar¹ , Carlos Delgado Villafuerte¹ , Nancy Hernández de Guerrero^{2*} , Randi Guerrero-Ríos³

¹Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Manuel Félix López, Manabí, Ecuador

²Laboratorio de Ecología, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

³Laboratorio de Zoología de invertebrados, Facultad de Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

Correspondencia: Nancy Hernández de Guerrero, **E-mail:** nancyhernandez@fa.luz.edu.ve

Artículo original | Original article

Palabras clave

Penaeus vannamei
Contaminación
Chlamydomonas sp.
Desmodesmus sp.
Chlorella sp.
Trichoderma harzianum
Lactobacillus spp.
Saccharomyces cerevisiae.

Keywords

Penaeus vannamei
Contamination
Chlamydomonas sp.
Desmodesmus sp.
Chlorella sp.
Trichoderma harzianum
Lactobacillus spp.
Saccharomyces cerevisiae.

RESUMEN | La camaronicultura es una actividad en constante crecimiento, lo que ha llevado al deterioro de los ecosistemas por la deposición de efluentes que impactan al medio ambiente, generando no solo daños a los ecosistemas sino también a la misma calidad del agua que ingresa al cultivo. Esta investigación busca evaluar la eficiencia de consorcios microbianos autóctonos (*in vitro*) en la biorremediación del efluente de una finca camaronera ubicada en el sector Cabello Manabí, Ecuador. Para ello, se analizaron los parámetros: fosfatos, amonio, nitritos, nitratos, sólidos en suspensión, oxígeno disuelto, temperatura, pH, DBO₅ y coliformes totales. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con un factor y 4 niveles y se realizaron 4 tratamientos: consorcio bacteriano (T₁) incluyendo la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, consorcio de microalgas (T₂), consorcio de hongos (T₃) conformado por *Trichoderma harzianum*, *S. cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, y como (T₄) un consorcio combinado de los tres tratamientos anteriores. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en T₂ con respecto a los demás tratamientos, pues debido a sus actividades metabólicas se logró la biorremediación de elementos como fosfatos, compuestos nitrogenados y coliformes totales, mientras que en los demás parámetros no se logró una mejora significativa. El proceso llevado a cabo por las microalgas permitió ajustar los parámetros analizados a criterios de calidad del agua para ser reutilizados en actividades agrícolas y ganaderas e incluso vertidos en cuerpos de agua dulce, concluyendo que la aplicación de microalgas autóctonas de la zona es útil para la biorremediación de los efluentes camaroneros de la localidad.

ABSTRACT | Shrimp farming is a constantly growing activity, which has led to the deterioration of ecosystems due to the deposition of effluents that impact the environment, which generates not only damage to ecosystems but also to the same quality of the water that enters the cultivation area. That is why this research seeks to evaluate the efficiency of autochthonous microbial consortia (*in vitro*) in the bioremediation of the effluent of a shrimp farm located in the Cabello Manabí sector - Ecuador. For this, the following parameters were analyzed: phosphates, ammonium, nitrites, nitrates, suspended solids, dissolved oxygen, temperature, pH, BOD₅ and total coliforms. A Completely Randomized Design with one factor and 4 levels was used, using 4 treatments: bacterial consortium (T₁) including the yeast *Saccharomyces cerevisiae*., microalgae consortium (T₂), fungal consortium (T₃) made up of *Trichoderma harzianum*, *S. cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*., and as (T₄) a combined consortium of the three previous treatments. A statistically significant difference was observed in T₂ with respect to the other treatments, since thanks to its metabolic activities, the bioremediation of elements such as phosphates, nitrogen compounds and total coliforms was observed, while in the other parameters a significant improvement was not achieved. The process carried out by the microalgae made it possible to adjust the parameters analyzed to water quality criteria to be reused in agricultural and livestock activities and even discharged into freshwater bodies, concluding that the application of microalgae native to the area was useful for the bioremediation of shrimp effluents from the locality.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de camarón es una actividad económica iniciada desde la década de los 60, realizada actualmente en 17 países de América, desde los Estados Unidos hasta Brasil, representando menos del 30% de la producción mundial. Uno de los productores más grandes es el continente asiático donde países como Tailandia y China intervienen en el mercado internacional ocasionando variaciones en el precio debido a su alta producción (Ordoñez, 2015). El aumento y densidad de los cultivos ha llevado a una degradación ambiental, aparición de enfermedades y caída en los niveles de la producción, como ocurrió en países como Tailandia, China, Indonesia, Taiwán; estos países tuvieron en común un rápido desarrollo de la producción, bajo control ambiental y, consecuentemente, la aparición de enfermedades (Anderson *et al.*, 2016). Ecuador es un país de importancia en la producción de camarones en Latinoamérica y de constante aumento en su producción.

El aumento de materia orgánica producida por las excretas de los camarones, debido a la alimentación excesiva y por otros insumos añadidos en los estanques de cultivo, ha sido un problema desde los inicios de la actividad (Sandifer y Hopkings, 1995). El exceso de suministro de nitrógeno con respecto a la capacidad de asimilación de los estanques de cultivo, provoca un deterioro de la calidad del agua por la acumulación de amonio, nitritos y nitratos, los cuales son tóxicos para la biota, afectando a su vez el pH, la concentración de oxígeno disuelto y promoviendo la proliferación de microorganismos no deseados (Kathayani *et al.*, 2019). Los contaminantes del efluente de la acuicultura de camarón son sólidos en suspensión, alimento para camarones, camarones muertos, heces de camarón, amoníaco y urea, los cuales son vertidos en vías fluviales cercanas (Hong *et al.*, 2020).

Las descargas de este tipo de aguas son de gran preocupación, por la contaminación que pueden generar directamente en los cuerpos receptores como ríos o lagos. La afectación del medio ha traído una baja calidad de agua ocasionando enfermedades dentro de los cultivos y esto ha generado la necesidad del uso de antibióticos para prevenir y controlar los problemas relacionados con la mala calidad del agua. Sin embargo, el uso excesivo de estos agentes ha generado consecuencias desfavorables ocasionadas por la resistencia de las bacterias patógenas y su efecto en la salud humana, llevando a la búsqueda de nuevas tecnologías que permitieran reducir la pérdida potencial de los productores, el riesgo en el consumo y su impacto hacia el medio ambiente (Brunton *et al.*, 2019).

Por este motivo, se ha propuesto la implementación de tecnologías limpias a través del uso de consorcios microbianos en la acuicultura, los cuales han sido definidos como microorganismos con efectos benéficos para mejorar la calidad del agua y degradación de la materia orgánica, contrarrestando enfermedades en los camarones por medio del restablecimiento de la calidad del agua (Babatsouli *et al.*, 2015). Al norte de Manabí existe una intensa actividad acuícola, que abarca aproximadamente un 10% del total de las hectáreas de las camaroneras del Ecuador. Tanto esta actividad, como la agropecuaria, están influyendo en la degradación del agua, alterando sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas; afectando los cuerpos de agua adyacentes y perdiendo su potencial como agua de riego (Mendoza *et al.*, 2016; Peña Casado, 2017). Por esta razón, la presente investigación se fundamenta en la búsqueda de un equilibrio que garantice la sostenibilidad, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del Ecuador por medio de la utilización de consorcios microbianos autóctonos para la biorremediación de efluentes camaroneros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y diagnóstico inicial del cuerpo de agua

Las muestras de agua fueron obtenidas de los efluentes de la granja camaronera ubicada en El Arrastradero (0°49' 37" S; 80°9' 10" O), cantón Bolívar, provincia de Manabí, Ecuador. Los muestreos fueron realizados en época de lluvia (mayo/julio). Las muestras fueron recolectadas en el centro del estanque a las 9:00 am, a una profundidad de 0,50 y 1,50 m con una periodicidad de 15 días, es decir, dos veces al mes durante 105 días. Los parámetros como pH, oxígeno disuelto y temperatura fueron tomados *in*

situ. Para estimar los parámetros como Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), nitrato (NO₃), nitrito (NO₂), amoníaco (NH₃), fosfato (PO₄), sólidos totales en suspensión (SST) y coliformes totales, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de microbiología del área Agropecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” para su análisis.

Diseño experimental y montaje de los ensayos

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 4 tratamientos y 4 repeticiones. El ensayo se llevó en 16 unidades experimentales (48 en total incluyendo sus réplicas) en recipientes de vidrio de 500 mL, en los que se vertió 480 mL de agua efluente, a la que se le aplicó una dosis estándar de los distintos consorcios de microorganismos autóctonos (Tabla 1) según Fajardo (2020). Para la preparación de los distintos consorcios, se utilizaron microorganismos previamente aislados, conservados e identificados en el laboratorio; y su elección se basó en revisión bibliográfica y ensayos previos, que permitieron evaluar la capacidad de actuar conjuntamente, creando una comunidad mutualista eficiente.

Tomando como referencia los procedimientos establecidos por las Normas Técnicas Ecuatorianas INEN (2176:20132 y 2169:2013), cada 7 días durante 3 semanas se midieron las variables físicas y químicas en un periodo de 21 días, tiempo que duró el proceso de biorremediación.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Factor A (Consortios)	Factor B (Dosis)
T1	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>Lactobacillus plantarum</i> .	1,5 mL/dm ³
T2	<i>Chlamydomonas</i> sp., <i>Desmodesmus</i> sp., y <i>Chlorella</i> sp.	1,5 mL/dm ³
T3	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .	1,5 mL/dm ³
T4	Mix de consorcios	4,5 mL/dm ³

Determinar la eficiencia del consorcio microbiano utilizado

El cálculo de la remoción para cada parámetro se realizó mediante la siguiente relación:

$$Eficiencia = \frac{muestra\ inicial - muestra\ remediada}{muestra\ inicial} * 100$$

Para saber si existen diferencias significativas entre los ensayos se realizaron análisis de varianza con un nivel de confiabilidad del 95%, usando pruebas *a posteriori* de Tukey. Para realizar estos análisis se empleó el software INFOSTAT® 2019 (Di Rienzo *et al.*, 2019).

Relación costo beneficio

Con la finalidad de conocer la viabilidad económica de la implementación de consorcios microbianos para la biorremediación de los efluentes, se tomó como referencia el costo del tratamiento de 1 m³ de efluente para cada tratamiento por medio de lo establecido por Curriquiry *et al.* (2019), donde el costo beneficio neto de cada iniciativa es la diferencia entre los beneficios o ingresos, menos los egresos como se estipula en la siguiente relación:

$$BC = \frac{Total\ de\ ingresos}{Total\ de\ Egresos}$$

Los beneficios para cada tratamiento se realizaron de acuerdo a la tarifa para tratar 1 m³ del efluente de la camaronera y del cumplimiento de las variables de: temperatura, oxígeno disuelto, pH, DBO₅, NO₃, NO₂, NH₃, PO₄, SST y coliformes totales. El mejor tratamiento realizado se basó en la capacidad biorremediadora del consorcio y sobre los ingresos (beneficios) y su relación con los egresos (costos).

RESULTADOS

Comportamiento de los parámetros fisicoquímicos en las lagunas

La medición de los parámetros mostró una disminución constante de la temperatura, con una variación de 9° C por debajo de la temperatura inicial. Un decrecimiento semejante fue observado en la concentración de los nitritos y nitratos durante todo el ciclo, y un caso similar ocurrió con los sólidos totales en suspensión. Por otro lado, el pH, el cual mantuvo una tendencia básica, y los sólidos totales en suspensión, no mostraron una tendencia clara durante el ciclo (Tabla 2). A pesar de las fluctuaciones de estos parámetros es importante señalar que se mantuvieron dentro de los límites permitidos de los reglamentos para el descarte de agua dulce a cuerpos de agua naturales (TULSMA, 2017).

Los parámetros que no estuvieron dentro de los límites permitidos fueron el fósforo, superando los límites permitidos incluso para ser vertido en el sistema de alcantarillado público, llegando a 30 mg/L al final del ciclo. Otro elemento con un aumento considerable fue el amonio con 12 mg/L, por ende, estas altas concentraciones repercutieron sobre la DBO₅ la cual aumentó disminuyendo el OD en el cuerpo de agua a 0,44 mg/L siendo inapropiadas hasta para el uso agrícola. Por último, el comportamiento de los coliformes totales se mantuvo constante con un valor mayor a 1600 NMP observando presencia de *E. coli* en los días 75, 90 y 105 del ciclo de cultivo (Tabla 2).

Esta evaluación de parámetros permitió conocer su comportamiento y valores arrojados durante un ciclo de cultivo normal, con el fin de comparar posteriormente los resultados generados de los ensayos con los consorcios microbianos y determinar su efecto biorremediador.

Bioensayos

En los resultados observados en el ensayo de biorremediación, se mostraron comportamientos muy variados (Tabla 3). El T2 obtuvo la mayor eficiencia para la degradación del fosfato obteniendo una reducción de 99,67% a los 14 días ($p < 0,00001$), igual para la degradación del amonio con una reducción del 99,39% ($p < 0,001$), lo cual estuvo asociado a la temperatura promedio de los tratamientos, y se registró una diferencia significativa solo en el 7mo día del ensayo en el T2. Por otro lado, en el caso de los coliformes totales, los tratamientos T1, T2, T3 tuvieron un 100% de eficiencia y el T4 con un 99,18% presentaron diferencias estadísticamente significativas.

En el caso del nitrato y el nitrito, ambos con una eficiencia del 100% y sin diferencia significativas entre los tratamientos según la prueba *post hoc* de Tukey. Resultados similares se observaron con la DBO₅. Para la concentración de OD tampoco se observaron diferencias entre tratamientos. Sin embargo, se evidenció un aumento en todos, con un promedio de 5,78 mg/l para T3, 5,368 mg/l para T2, 5,34 mg/l para T4 y 4,97 mg/l para T1. Contrariamente, para la reducción de sólidos totales suspendidos, se observó una mayor eficiencia en el T1 con 48% sin diferencia en las pruebas *post hoc* de Tukey. Un resultado similar se observó con el pH, alcanzando un valor de 10,09 en el T1.

Tabla 3. Intervalos porcentuales de eficiencia de los tratamientos (T₁, T₂, T₃ y T₄) a los 7, 14 y 21 días.

Parámetro	T ₁			T ₂			T ₃			T ₄		
	7	14	21	7	14	21	7	14	21	7	14	21
Nitritos (mg/l)	01-100	220-822	115-100	100	100	-	52	901-100	-	-	100	-
Nitratos (mg/l)	01-100	220-822	118-100	100	100	-	-	901-100	100	-	100	-
Amonio (mg/l)	131-525	644-848	699-780	698-938	-16-901	506-918	153-48	731-884	528-861	101-782	628-891	826-944
Fosfato (mg/l)	620-633	409-777	307-967	830-873	552-894	764-100	533-716	364-858	733-100	573-706	750-909	718-100
Oxígeno Disuelto (mg/l)	120-318	930-965	174-167	120-661	814-944	397	867	617-965	-	102-488	913-948	06-98
DBO ₅ (mg/l)	127-454	995-100	100	127-836	100	-	363-997	100	-	227-754	996-100	100
S.S.T (mg/l)	453-686	58-873	148	473-966	588-645	-	54-82	695-724	-	633-893	62-672	-
Coliformes Totales (UFC)	-	100	-	-	100	-	-	885-985	100	-	993-997	500-888

Relación costo–beneficio

En la Tabla 4 se puede apreciar una proyección económica donde se detallan la base de los ingresos (beneficios) que se forjaron y su relación con los egresos (costos), con una relación superior a 1. Se observó una rentabilidad económica en la utilización de microorganismos autóctonos para la biorremediación de los efluentes camaroneros, determinando una relación >1 , indicando que los ingresos netos son mayores a los egresos netos (Tabla 4); en consecuencia, se genera una rentabilidad. La camaronera tiene una tarifa de 1,65 USD para cada m³ de agua a tratar por lo que es económicamente rentable aplicar el consorcio de microalgas con un valor de 1,56 USD.

Tabla 4. Proyección de costos/beneficios para la producción de 1 dm³.

MICROORGANISMOS	
CONCEPTO	Consortio 2: <i>Clamidomonas</i> sp.
	<i>Desmodesmus</i> sp.
	<i>Chlorella</i> sp.
Egresos	
Costo de aislamiento (USD)	1,5
Costo de los nutrientes (NITROFOSKA) (USD)	3,5
Sanidad (USD)	1,25
Materiales (USD)	2,5
Mano de obra (USD)	2,5
Total de Egresos (USD)	11,25
Ingresos	
Dosis para cada unidad experimental (ml/dm³)	1,5
Dosis para remediar 1 m³ (ml/m³)	1500
Total de litros de algas producidos	15
Precio por cada litro de producido (USD)	1,17
Total de Ingresos (USD)	17,55
Beneficio/Costo (USD)	1,56

DISCUSIÓN

Variables fisicoquímicas de las lagunas camaroneras

Aunque se ha documentado una sinergia positiva entre microalgas y bacterias para la degradación de nutrientes en efluentes, Saravanan *et al.* (2021) ha evidenciado que los consorcios mixtos no siempre resultan positivos cuando los nutrientes no son suficientes para que ambas comunidades se establezcan; las bacterias tienden a inhibir el crecimiento de las microalgas bien sea por la competencia de los nutrientes o por la segregación de enzimas como glucosidasas, quitinasas y celulasas que descomponen la pared celular de las microalgas, lo que ocasiona la lisis de estas, cuyos compuestos intracelulares son utilizados por las bacterias para su crecimiento (Fuentes *et al.*, 2016).

La temperatura es uno de los parámetros más independientes y estables en los cuerpos de agua, estando relacionado directamente con el clima local. Sin embargo, en la actualidad este parámetro se ve influenciado por los sistemas de aireación mecánica que permiten disipar el calor, como ocurrió en el estudio al observar un decrecimiento constante en la temperatura. Esta variable ha sido un factor asociado con la mortalidad de los peneidos, donde las temperaturas superiores a 34°C aumentan la tasa de mortalidad (González -Ruiz *et al.*, 2020), por la disminución de la solubilidad del oxígeno en el agua y aumento del consumo de oxígeno por parte de los organismos marinos, lo que resulta en bajas concentraciones de oxígeno en los ambientes marinos, una condición conocida como hipoxia (Breitburg *et al.*, 2018).

El aumento de los compuestos nitrogenados puede provenir por el exceso de alimento. Sin embargo, la excreción de los crustáceos también aporta nitrógeno al medio, en forma de nitrógeno amoniacal en sus formas ionizadas (NH_4^+) o no (NH_3), pero estas formas son rápidamente usadas por las microalgas impidiendo aumentos excesivos como parece haber ocurrido en el estudio (Katayama *et al.*, 2020). El aumento de las microalgas conlleva a un aumento en los procesos fotosintéticos, siendo éstos un factor que causa aumento del pH en las lagunas camaroneras por las altas densidades del fitoplancton que retiran el CO_2 del cuerpo de agua para sus procesos metabólicos (Millard *et al.*, 2020), como se supone que ocurrió en el presente estudio. A pesar de las variaciones observadas, estos valores se mantuvieron dentro de los intervalos adecuados para el cultivo de camarón (Boyd, 1990).

El pH es un factor influyente sobre otros compuestos, al hacer más solubles a los compuestos que se encuentran en el sedimento de los estanques, como el caso del fósforo, y el aumento de la toxicidad del amoníaco. De igual forma, desequilibrios en el pH puede resultar en una deposición excesiva de calcio debajo del exoesqueleto dificultando realizar la muda. Por lo tanto, el pH debe manejarse para minimizar la toxicidad del amoníaco, evitar cosechas de emergencia innecesarias y asegurar una formación rápida y eficiente del caparazón, minimizando así las pérdidas por canibalismo (Millard *et al.*, 2020).

La concentración aceptable para el fosfato en los afluentes en las camaroneras, según Boyd (2001), es de 0,26 mg/L; las concentraciones de este compuesto están ligadas a las formas de fosfato inorgánico disuelto y materia orgánica proveniente del suelo (Castro y Ceballos, 2011), o en forma de fósforo orgánico particulado contenido en el fitoplancton (Boyd y Tucker, 1998). Sin embargo, los principales aportes de fosfatos en los estanques de cultivo pueden venir dado por la adición de fertilizantes inorgánicos en áreas agrícolas adyacentes, como pudiera haber ocurrido en el presente estudio. Además, el exceso de alimento no consumido también lleva a un aumento de estos parámetros (Ramírez, 2017).

El oxígeno disuelto es un factor muy importante en la actividad acuícola, y la solubilidad de este es proporcional con el aumento de la temperatura ya que afecta el metabolismo respiratorio y la excreción de amonio en organismos acuáticos (Breitburg *et al.*, 2018), además de aumentar la sinergia de las moléculas de agua. Sin embargo, en el presente estudio este parámetro se mantuvo controlado por aireadores mecánicos, aún y cuando la disminución drástica de la última medición puede deberse por el aumento excesivo de los compuestos nitrogenados lo que llevó a una demanda por el oxígeno, afectando la calidad de agua por la formación de compuestos tóxicos como el amonio (Boyd y Thunjai, 2003). En este sentido, el intervalo óptimo de crecimiento fue de 4 a 7 mg/L, y cuando éste disminuye entre 1 a 3 mg/L el crecimiento se vuelve más lento (Sonnenholzner, 2014).

La alta DBO_5 excedió el límite de 50,7 mg/L considerado por Boyd (2001), incluso otros autores como Ullua (2015), sugieren no exceder los 20 mg/L en estanques sin aireación mecánica. Se ha evidenciado que la DBO_5 podría estar relacionada con la suspensión de partículas finas de sedimento y alimento no consumido, donde el exceso de microalgas y arcilla son los principales sólidos totales suspendidos (STS) que se reportan en los estanques camaroneros. De manera que, las fluctuaciones de este parámetro vendrán dadas por factores de movimiento de la masa de agua, siendo esto uno de los más difíciles de comprender debido a la diversidad de variables (Cardoso-Mohedano *et al.*, 2016), habiendo un intervalo óptimo de 200 a 600 mg/L de SST para evitar obstrucción de las branquias de los peneidos (Schveitzer *et al.*, 2013).

El análisis microbiológico logró confirmar la contaminación por aporte fecal de personas o animales por la presencia de coliformes totales desde los inicios del cultivo. Una posible causa puede ser la existencia de pozos ciegos o sépticos situados a 50 m de las piscinas, siendo *E. coli* una medida indirecta para indicar la presencia potencial de otros patógenos eventualmente perjudiciales (bacterias, virus, parásitos gastrointestinales, entre otros) y transmisibles por el agua (Eregno *et al.*, 2018). La presencia de estas bacterias dentro de los cultivos de camarón supone un riesgo para el control, ya que el uso de antibióticos, tanto terapéuticos como no terapéuticos, es una práctica considerada de riesgo para la salud pública (Abisha *et al.*, 2019).

Biorremediación

En general, se ha evidenciado que la fijación de nutrientes por microalgas (principalmente nitrógeno y fósforo) es una función directa de la irradiancia media, siendo la poca profundidad beneficiosa para la irradiancia media y esto a su vez aumenta la tasa de fijación de nitrógeno y fósforo (Ación *et al.*, 2016). El fósforo es un nutriente esencial para las poblaciones de microalgas y no se conoce que éste pueda causar toxicidad a esta fracción del plancton, considerado como un factor limitante en ambientes no controlados. Uno de los principales factores restrictivos para la absorción del fósforo es el boro; sin embargo, en este estudio no hubo limitaciones con micronutrientes ya que la disminución de este elemento fue absorbido casi en su totalidad. Otros elementos son el hierro, el zinc y el cobre, los cuales participan en reacciones redox y como cofactores de enzimas claves involucradas en importantes vías metabólicas relacionadas con el crecimiento celular de las microalgas (Gil-Izquierdo, 2021). Un problema adicional, asociado a la degradación del fósforo, es cuando hay presencia elevada de calcio ya que tiende a precipitar en condiciones alcalinas (Ación *et al.*, 2018).

El amonio es un compuesto nitrogenado eficazmente energético por su fácil captación por parte del fitoplancton, específicamente por las chlorophytas, utilizando como vía principal para la asimilación de amonio la ruta glutamina sintetasa, y como ruta auxiliar bajo condiciones de estrés, la glutamato deshidrogenasa (Meza *et al.*, 2013). La principal vía de nitrógeno de *Scenedesmus* procede de la reducción del nitrato, incorporándolo por portadores específicos al citoplasma donde se encuentran las enzimas nitrato reductasa, reduciendo el compuesto a nitrito y por acción de la enzima nitrito reductasa lo reduce a amonio usando a la ferredoxina como donador de electrones (Ruiz-Martínez *et al.*, 2015; Lekshmi *et al.*, 2015). Sin embargo, es importante considerar que una pobre biorremediación del amonio se deba a que las poblaciones de microalgas cultivadas en medios de nitrato tienden a inhibir la expresión genética de la enzima nitrato reductasa (NR) cuando está en presencia de amonio (Paes *et al.*, 2016).

Las microalgas *Scenedesmus dimorphus* y *Chlorella vulgaris* han sido muy eficientes para el tratamiento de efluentes agroindustriales (Bohutskyi *et al.*, 2016); esto se debe a la actividad fotosintética de las microalgas, la cual proporciona oxígeno para que las bacterias realicen descomposición aerobia. La presencia de OD en el agua residual en los procesos de biorremediación aeróbicos es un factor determinante en la disminución de contaminantes como sólidos suspendidos totales (SST), DBO₅, grasas y aceites, por lo que la combinación de microalgas en este trabajo produjo valores apropiados de OD para una biorremediación aeróbica (Saravanan *et al.*, 2021). En un estudio realizado por Luvi (2014) aplicando *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*, no se encontró significancia alguna en remover sólidos suspendidos, por lo que Sandoval, *et al.* (2018) atribuyen a *Chlorella vulgaris* un 57, 51% y 89,91% de efectividad de remoción en este parámetro, mientras que Alejandro y Loor (2018) muestran una efectividad del 99%.

La actividad fotosintética desarrolla el potencial de Oxido-Reducción al retirar el CO₂ generado por la descomposición (Sun, 2016) produciendo así un aumento gradual en el pH debido al efecto sobre la proporción de especies carbonatadas en el agua (García *et al.*, 2015). La microalga *Chlorella vulgaris*, puede competir por gases y minerales, actuando de forma bacteriostática en los coliformes totales. De igual forma, se ha reportado el aumento del pH por la actividad fotosintética desfavoreciendo la supervivencia de estas bacterias Gram negativas, resultados que coinciden con lo observado en los ensayos realizados (Dar *et al.*, 2019).

Sin embargo, uno de los factores más relevantes en los procesos de biorremediación es la temperatura por su influencia sobre la actividad enzimática, por lo que un descenso de temperatura supone una menor actividad enzimática, y por tanto una menor tasa de degradación biológica (Varshney *et al.*, 2015).

Comparación de parámetros de acuerdo al Boyd (2000) y TULSMA (2017)

Se observaron cambios durante los 14 y 21 días, siendo el mejor consorcio microbiano el constituido por las microalgas, el tratamiento el T₂ (Tabla 5). La mayoría de los parámetros evaluados cumplen con la norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes para el riego agrícola. De igual forma, la biorremediación llevada por las microalgas cumple con los criterios para el uso pecuario definidos, los parámetros DBO₅, sólidos suspendidos, nitritos/nitratos y OD cumplen con el criterio para ser vertidos a medio de agua dulce (TULSMA, 2017). En la mayoría de las variables medidas, los niveles están en intervalos similares a la muestra inicial, con excepción del pH, el cual estuvo fuera de los intervalos permitidos. El pH en cuerpos de agua dulce debe estar en el intervalo de 6,5 hasta 8,7 para evitar mortalidad no deseada, ya que este valor puede incrementar la forma de amonio no ionizado siendo tóxico para la fauna acuática (Park *et al.*, 2018), así como hacer más solubles iones de aluminio igualmente dañinos para la flora y fauna (Camacho-Jiménez *et al.*, 2020). Estos valores coinciden con los hallados por Boyd (2000), el cual menciona que el pH puede encontrarse en un intervalo entre 6 a 9,5 debido a la tasa fotosintética de las microalgas.

Tabla 5. Comparación de los resultados obtenidos en la investigación con los criterios de calidad de agua en granjas camaroneras según Boyd, (2000) y TULSMA (2017).

Tratamiento	Parámetros	Efluente tratado	Boyd (2000)	Estado	TULSMA (2017) Uso Agrícola		TULSMA (2017) Uso Pecuario		TULSMA (2017) Descargas en agua dulce	
					L.M. P	Estado	L.M. P	Estado	L.M. P	Estado
T ₂	pH	10	6 - 9,5	No Cumple	6,0 - 9	No Cumple	N/A	N/A	6,5 - 9	No cumple
	Nitritos (mg/l)	0,0	0 - 0,055	Cumple	0,5	N/A	0,2	Cumple	0,2	Cumple
	Amonio (mg/l)	0,074	0,01 - 0,38	Cumple	N/A	N/A	N/A	N/A	0,022	No Cumple
	Nitratos (mg/l)	0,0	0,001 - 0,3	Cumple	5	Cumple	50	Cumple	13	Cumple
	STS(mg/l)	82	10 -108	Cumple	130	N/A	3000	Cumple	<10%	Cumple
	Fosfatos (mg/l)	0,1	0,01 - 0,3	Cumple	N/A	N/A	N/A	N/A	<10%	Cumple
	OD (mg/l)	7,08 o 93,89 %	0,4 - >5,6	Cumple	3	Cumple	N/A	N/A	>80%	Cumple
	DBO ₅ (mg/l)	0	1,3 - 8,9	Cumple	N/A	N/A	N/A	N/A	20	Cumple

Cálculo de la relación costo-beneficio

El análisis económico mostró que por cada dólar invertido se proyecta una ganancia económica de 0,56 USD por cada dm³ del cultivo de algas producidas. La variación de los costos-beneficios se sustenta en factores como: purificación, aislamiento y multiplicación del consorcio microbiano autóctono, el ajuste del beneficio económico dependerá de la eficiencia observada en el consorcio microalgal utilizado.

En la actualidad, se gastan grandes cantidades de energía para eliminar los contaminantes de las aguas residuales que pueden llegar hasta 0,5 kWh / m³, con un costo de 0,2 € / m³, que pueden aumentar si se usan procesos avanzados de oxidación para la eliminación de nitrógeno teniendo un costo de hasta 5-8 € / kg. La capacidad de las microalgas autóctonas para crecer en función de la disponibilidad de radiación solar y absorber los nutrientes en exceso de los cuerpos de agua, lo convierte en un método viable económicamente y compatible ecológicamente (Acien *et al.*, 2018).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

CONCLUSIONES

Los parámetros evaluados durante el ciclo de cultivo presentaron una dinámica adecuada para un cultivo típico de camarón, donde la acumulación de nutrientes superó los límites permitidos para la reutilización del agua debido a baja calidad. En este sentido, el tratamiento con las microalgas autóctonas *Chlamydomonas* sp. *Desmodesmus* sp. y *Chlorella* sp. lograron una degradación de los nutrientes, llegando a niveles aceptables para usos agropecuarios, siendo el pH el único elemento por encima de los límites debido a la actividad metabólica de las microalgas. Sin embargo, con el tiempo, este elemento tiende a autoregularizarse. Por lo tanto, el empleo de las cepas autóctonas de las microalgas resulta un método económicamente rentable para el tratamiento de los efluentes de las camaronerías de la zona y ser utilizado para otras actividades agropecuarias según lo establecido en la normativa.

REFERENCIAS

- Abisha J., Dhayanath M., Tapas P. (2019). Prevalence and Characterization of Antibiotic Resistance Associated with *Escherichia coli* Isolated from Cultured *Penaeus vannamei* from Maharashtra, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8(07), 1790-1797. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.807.213>
- Acien F.G., Gómez-Serrano C., Morales-Amaral M., Fernández-Sevilla J., Molina-Grima E. (2016). Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment?. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100(21), 9013–9022. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7835-7>
- Acien F., Gómez-Serrano C., Fernández-Sevilla J. (2018). Recovery of Nutrients From Wastewaters Using Microalgae. *Frontiers in Sustainable Food Systems* <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00059>
- Alejandro A., Loo C. (2018). Tratamiento de aguas residuales de empacadora de pescado con micro-alga *Chlorella vulgaris* de origen marino mediante fotobiorreactores. Tesis de pregrado. Guayaquil, Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- Anderson J., Valderrama D., Jory D. (2016). Revisión GOAL de Producción de Camarones en 2016. Global aquaculture alliance. <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/revision-goal-de-produccion-de-camarones-en-2016/>
- Babatsouli P., Fodelianakis S., Paranychianakis N., Venieri D., Dialynas M., Kalogerakis N. (2015). Single stage treatment of saline wastewater with marine bacterial–microalgae consortia in a fixed-bed photobioreactor. *Journal of Hazardous Materials* 292(15), 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.060>
- Bohutskyi P., Kligerman D., Byers N., Nasr L., Cua C., Chow S., Su C., Tang Y., Betenbaugh M., Bouwer E. (2016). Effects of inoculum size, light intensity, and dose of anaerobic digestion centrate on growth and productivity of *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae and their poly-culture in primary and secondary wastewater. *Algal Research*. 19, 278-290. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.010>
- Boyd C.E., Thunjai T. (2003). Concentrations of major ions in waters of inland shrimp farms in China, Ecuador, Thailand, and the United States. *Journal of the World Aquaculture Society* 34(1), 524-532.

- Boyd C. (1990). Food habits of *Barbus luteus* in main outfall drain, Iraq. *Natural Science* 5(7), 482-486.
- Boyd C. (2000). Effluent Composition & Water Quality Standards. *Global Aquaculture Alliance* 1(1), 61-66.
- Boyd C. (2001). Consideraciones sobre la calidad del suelo en cultivos de camarón. Managua: Imprenta UCA.
- Boyd C.T. (1998). Gestión de la calidad del agua para estanque de Acuicultura. Boston, Estados Unidos: Kluwert Academic Publishers.
- Breitbart D., Levin L., Oshlies P., Grégoire M., Chavez F., Conley D., Garçon V., Gilbert D., Gutiérrez D., Isensee K., Jacinto G., Limburg K., Montes I., Naqvi S., Pitcher G., Rabalais N., Roman M., Rose K., Seibel B., Telszewski M., Yasuhara M., Zhang J. (2018). Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science* 359, 6371. <https://doi.org/10.1126/science.aam7240>
- Brunton L., Desbois A., Garza M., Wieland B., Mohan C., Häslér B., Tam C., Le P., Thanh Phuong N., Van P., Nguyen-Viet H., Eltholth M., Pham D., Duc P., Linh N., Rich K., Mateus A., Hoque A., Ahad A., Khan M., Adams A., Guitian J. (2019). Identifying hotspots for antibiotic resistance emergence and selection, and elucidating pathways to human exposure: Application of a systems-thinking approach to aquaculture systems. *Science of The Total Environment* 687, 1344–1356. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.134>
- Camacho-Jiménez L., Álvarez-Sánchez Y., Mejía-Ruiz C. (2020). Silver nanoparticles (AgNPs) as antimicrobials in marine shrimp farming: A review. *Aquaculture Reports* 18. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100512>
- Cardoso-Mohedano J., Bernardello R., Sanchez-Cabeza J., Páez-Osuna F., Ruiz-Fernández A., Molino E., Cruzado A. (2016). Reducing nutrient impacts from shrimp effluents in a subtropical coastal lagoon. *Science of The Total Environment* 571. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.140>
- Castro J., Ceballos B. (2011). Estrategias para optimizar el manejo del alimento en el engorde del camarón blanco del Caribe *Litopenaeus schmitti*. *AquaTIC* 35, 20-34.
- Curriquiry M., Piaggio M., Sena G. (2019). Guía de análisis costo-beneficio. Aplicación para medidas de adaptación al cambio climático en el sector agropecuario en Uruguay. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Montevideo, FAO, PNUD. p.165
- Dar R.A., Sharma N., Kaur K., Phutela U.G. (2019). Feasibility of Microalgal Technologies in Pathogen Removal from Wastewater. In: Gupta S.K., Bux F. (eds) *Application of Microalgae in Wastewater Treatment*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-13913-1_12
- Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C. (2019). InfoStat versión 2019. Grupo InfoStat. Córdoba Argentina, Universidad Nacional de Córdoba. <https://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=15>
- Eregno F., Tryland I., Tjomsland I., Kempa M., Heistad A. (2018). Hydrodynamic modeling of recreational water quality using *Escherichia coli* as an indicator of microbial contamination. *Journal of Hydrology* 561, 179-186. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.04.006>
- Fajardo P., Bravo R., Navarrete J., Hurtado E. (2020). Técnica de replicación de bacterias en melaza al 5%. In: IX Evento internacional La Universidad en el siglo XXI. (9, 2020, Manabí, Ecuador). Memoria. Manabí, Ecuador. <http://sigloxxi.espm.edu.ec/Ponencias/VI/ponencias/5.pdf>

- Fuentes J., Garbayo I., Cuaresma M., Montero Z., González-del-Valle M., Vílchez C. (2016). Impacto de las interacciones microalgas-bacterias en la producción de biomasa de algas y compuestos asociados. *Marine Drugs* 14(5), 100. <https://doi.org/10.3390/md14050100>
- García C., Arbid Z., Petrales J. (2015). Growth Kinetics and Nutrient Uptake of Microalgae in Urban Wastewaters with Different Treatment Levels. *Technology and water sciences* 1(1), 49-68.
- Gil-Izquierdo A., Pedreño M.A., Montoro-García S., Tárraga-Martínez M., Iglesias P., Ferreres F., Barceló D., Núñez-Delicado E., Gabaldón J.A. (2021). A sustainable approach by using microalgae to minimize the eutrophication process of Mar Menor lagoon. *Science of The Total Environment* 758(1), 143613. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143613>
- González-Ruiz R., Granillo-Luna O., Peregrino-Uriarte A., Gómez-Jiménez S., Yepiz-Plascencia G. (2020). Mitochondrial manganese superoxide dismutase from the shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular characterization and effect of high temperature, hypoxia and reoxygenation on expression and enzyme activity. *Journal of Thermal Biology* 88, 102519. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102519>
- Hong A., Hargan K., Williams B., Nuangsaeng B., Siriwong S., Tassawad P., Chatdanai C., Los Huertos M. (2020). Examining molluscs as bioindicators of shrimp aquaculture effluent contamination in a southeast Asian mangrove. *Ecological Indicators*. 11, 106365. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106365>
- Katayama T., Nagao N., Kasan N., Khatoon H., Rahman N., Takahashi K., Furuya K., Yamada Y., Wahid M., Jusoh M. (2020). Bioprospecting of indigenous marine microalgae with ammonium tolerance from aquaculture ponds for microalgae cultivation with ammonium-rich wastewaters. *Journal of Biotechnology* 323, 113 – 120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.08.001>
- Kathyayani, S., Poornima, M., Sukumaran, S., Nagavel, S., Muralidhar, M. 2019. Effect of ammonia stress on immune variables of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying levels of pH and susceptibility to white spot syndrome virus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184(30), 109626. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109626>
- Lekshmi B., Joseph R.S., Jos, A., Abinandan S., Shanthakumar S. (2015). Studies on reduction of inorganic pollutants from wastewater by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus abundans*. *Alexandria Engineering Journal* 54(4), 1291-1296. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.09.013>
- Luvi U. (2014). Evaluación de los índices microbiológicos y fisicoquímicos en aguas residuales de la ciudad de Puno – tratadas con microorganismos nativos. Tesis de pregrado Med. Vet. Puno, Perú, Universidad Nacional del Altiplano.
- Mendoza S., Tinoco O., Nieto K. (2016). Evaluación de la carga bacteriana y resistencia a antibióticos de bacterias aisladas en zonas marinas de alta influencia de producción larvaria en Ecuador. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica* 19(38), 137-146. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v19i38.13580>
- Meza B. (2013). Efecto del ácido indol-3-acético producido por *Azospirillum brasilense* en las enzimas de asimilación del amonio en *Chlorella vulgaris*, bajo condiciones de coinmovilización. Tesis de maestría. La Paz, México, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.
- Millard R., Ellis R., Bateman K., Bickley L., Tyler C., Van Aerle R., Santos E. (2020). How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on White Spot Disease. *Journal of Invertebrate Pathology* 186, 107369. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107369>

- Ordoñez S. (2015). Importancia del sector camaronero de la provincia del Oro en el Ecuador y su aporte a la recaudación total de impuestos, durante el periodo 2010 – 2011. Tesis de maestría. Guayas, Guayaquil, Universidad de Guayaquil.
- Paes C., Faria G., Tinoco N., Castro N., Barbarino E., Lourenço S. (2016). Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44(2), 275-292. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue2-fulltext-9>
- Park T., Lee T., Lee M., Park C., Lee C., Moon S., Chung J., Cu, R., An Y., Yeom D., Lee S., Lee J., Zoh J. (2018). Development of water quality criteria of ammonia for protecting aquatic life in freshwater using species sensitivity distribution method. *Science of The Total Environment* 634, 934-940. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.018>
- Peña Casado, L.A. (2017). El Sector Camaronero del Ecuador y las Políticas Sectoriales: 2007 – 2016. Tesis de pregrado Econ. Quito, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Ramírez A. (2017). Evaluación y determinación de la calidad del agua en las piscinas de la camaronera Boca Salima, para el mejoramiento de la producción de camarón (en línea). Tesis de pregrado Ing. Quím. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja.
- Ruiz-Martínez A., Serralta J., Seco A., Ferrer J. (2015). Effect of temperature on ammonium removal in *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 191, 346-349. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.070>
- Sandifer P., Hopkings, J. (1995). Conceptual design of a sustainable pond-based shrimp culture system. *Aquacultural Engineering* 15(1), 41-52. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(95\)00003-W](https://doi.org/10.1016/0144-8609(95)00003-W)
- Sandoval J., Malo B., Cartagena J., Fernández D. (2018). Laboratory evaluation of the organic matter removal capacity of *Chlorella vulgaris* in wastewater from the Salitre WWTP. *Revista Mutis* 8(1), 34 - 42. <https://doi.org/10.21789/22561498.1368>
- Saravanan A., Senthil P., Varjani S., Jeevanantham S., Yaashikaa P., Thamarai P. Abirami B., George C. (2021). A review on algal-bacterial symbiotic system for effective treatment of wastewater. *Chemosphere* (271), 129540. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129540>
- Schveitzer R., Arantes R., Costódio P., Santo C., Vinatea L., Seiffert W., Andreatta E. (2013). Effect of different biofloc levels on microbial activity, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* in a tank system operated with no water exchange. *Aquacultural Engineering* 56, 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.04.006>
- Sonnenholzner S. (2014). Oxígeno disuelto y su importancia en acuicultura: Sistemas de aireación para mejorar la productividad de los sistemas acuícolas. In: Congreso Internacional de Acuicultura en Aguas Continentales – ESPE. (4, 2014, Quito, Ecuador). Memoria. Quito, Ecuador.
- Sun S., Ge Z., Zhao Y., Hu C., Zhang H., Ping L. (2016). Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge. *Energy* 97, 229-237. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.12.126>
- Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente (TULSMA). (2017). Decreto Ejecutivo 3516. Quito, Ecuador. 407 p. <http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/01NOR2003-TULSMA.pdf>

Ullua R. (2015). El efecto de dos porcentajes de recirculación de agua en el cultivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de pregrado Ing. Acuicultor. Machala, Ecuador, Universidad Técnica de Machala.

Varshney P., Mikulic P., Vonshak A., Beardall J., Wangikar P. (2015). Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresour Technol* 184, 363-372. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.0>

Recibido: 13-08-2021

Aprobado: 07-01-2022

Versión final: 29-04-2022

