

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA Y GESTIÓN AMBIENTAL



**Eficiencia de la bioestimulación y bioaumentación como
estrategias de biorremediación en efluente de cultivo intensivo
de *Penaeus vannamei*, Tumbes, Perú**

TESIS

**Para optar el grado académico de maestra en Acuicultura y
Gestión Ambiental**

Autora: Br. Gady Hadad Nizama Sánchez

Tumbes, 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA Y GESTIÓN AMBIENTAL



**Eficiencia de la bioestimulación y bioaumentación como
estrategias de biorremediación en efluente de cultivo intensivo
de *Penaeus vannamei*, Tumbes, Perú**

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dra. Enedia Graciela Vieyra Peña (presidenta)

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6541-7075>

Dr. Alberto Ordinola Zapata (secretario)

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9644-0531>

Dr. Milton Sandro Sócola Sunción (vocal)

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9392-5499>

Tumbes, 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN ACUICULTURA Y GESTIÓN AMBIENTAL



**Eficiencia de la bioestimulación y bioaumentación como
estrategias de biorremediación en efluente de cultivo intensivo
de *Penaeus vannamei*, Tumbes, Perú**

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido
y forma**

Br. Gady Hadad Nizama Sánchez (autora)

ORCID: <http://orcid.org/0009-0000-8965-5510>

Dr. Milton Sandro Sócola Sunción (asesor)

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9392-5499>

Dr. Edgar Alfonso López Landavery (coasesor)

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8086-2425>

Tumbes, 2026



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
Licenciada
Resolución del Consejo Directivo N° 155-2019-SUNEDU/CD
ESCUELA DE POSGRADO
Tumbes – Perú

"Año de la Esperanza y el Fortalecimiento de la Democracia"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los veintiséis días del mes de agosto del dos mil veintiséis, siendo las dieciséis horas y quince minutos en el aula N° 02 de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, se reunieron los miembros del jurado calificador constituidos con la **RESOLUCIÓN No 0124-2025/UNTUMBES-EPG-D** del once de marzo del dos mil veinticinco, presidido por la **Dra. Enedia Graciela Vieyra Peña** e integrado por el **Dr. Alberto Ordinola Zapata** (secretario) y el **Dr. Milton Sandro Sócola Sunción** (vocal y asesor).

Instalado el jurado, se procedió a la evaluación, deliberación y calificación del acto de la sustentación de la tesis titulada: **"Eficiencia de la bioestimulación y bioaumentación como estrategias de biorremediación en efluente de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, Tumbes, Perú"**, presentado por la maestranda: **Gady Hadad Nizama Sanchez**, del programa de Maestría en Acuicultura y Gestión Ambiental.

Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte del sustentante y después de la correspondiente deliberación el jurado, conforme a lo normado en el artículo N° 111 del Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a la maestranda **..APROBADA.....** por **..UNANIMIDAD..** con el calificativo de **..SOBRESALIENTE..**

Por lo anterior, la sustentante está apta para iniciar los trámites correspondientes y conducentes a la obtención del grado académico de **Maestra en Acuicultura y Gestión Ambiental**, en conformidad con lo normado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, El Reglamento General, el Reglamento General de Grados Títulos y el Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las **..DIECISIETE..** horas y **..CUARENTA..** minutos, del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia de público asistente.

Dra. Enedia Graciela Vieyra Peña
Presidenta
DNI N° 00217076
<https://orcid.org/0000-0002-4919-8607>

Dr. Alberto Ordinola Zapata
Secretario
DNI N° 00326333
<https://orcid.org/0000-0002-9644-0531>

Dr. Milton Sandro Sócola Sunción
Vocal y Asesor
DNI N° 00241901
<https://orcid.org/0000-0001-9392-5499>

Gady Hadad Nizama Sánchez

TURNITIN_Informe de tesis RD 380-2025_Gady Nizama_vf

 Maestría en Acuicultura y Gestión Ambiental

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trnoid::3117611892540

Fecha de entrega

2 ago 2026, 12:23 GMT-5

Fecha de descarga

2 ago 2026, 12:28 GMT-5

Nombre del archivo

TURNITIN_Informe de tesis RD 380-2025_Gady Nizama_vf.docx

Tamaño del archivo

1.7 MB

85 páginas

24.292 palabras

146.336 caracteres



Dr. Milton Sandro Sócola Sunción

ORCID:0000-0001-9392-5499

2% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Fuentes principales

- 1%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



Dr. Milton Sandro Sócola Sunción

ORCID:0000-0001-9392-5499

Fuentes principales

- 1% Fuentes de Internet
- 0% Publicaciones
- 1% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	dspace.unitru.edu.pe	<1%
2	Trabajos del estudiante	University of Salford on 2017-05-10	<1%
3	Trabajos del estudiante	Universidad Nacional de Tumbes on 2023-09-10	<1%
4	Internet	repositorio.untumbes.edu.pe	<1%
5	Trabajos del estudiante	University of Salford on 2017-05-10	<1%
6	Trabajos del estudiante	UNIBA on 2025-04-07	<1%
7	Trabajos del estudiante	Universidad Nacional de Tumbes on 2025-11-23	<1%
8	Trabajos del estudiante	Universidad Autónoma de Nuevo León on 2024-07-29	<1%
9	Internet	revistas.utm.edu.ec	<1%
10	Trabajos del estudiante	Universidad Nacional de Cajamarca on 2026-03-12	<1%
11	Internet	www.campustudionline.com	<1%

Dr. Milton Sandro Sócola Sunción

ORCID:0000-0001-9392-5499

12	Internet	
biblioteca.utb.edu.co		<1%
13	Internet	
lrp.cdn-website.com		<1%
14	Trabajo del estudiante	
ucss on 2025-06-14		<1%



Dr. Milton Sandro Sócola Sunción

ORCID:0000-0001-9392-5499

DEDICATORIA

A Jehová Dios.

Por concederme fortaleza, sabiduría y su gracia para culminar esta etapa de mi vida.

A la memoria de mi tía Gerarda Sánchez.

Por sembrar en mí el optimismo, creer en mis capacidades e inspirarme a ser perseverante.

A Ramon Lima y Gady Verónica, esposo e hija.

Por ser mi mayor motivación, acompañarme en este camino y recordarme cada día el verdadero sentido del esfuerzo y la superación.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi agradecimiento a mi asesor, Dr. Milton Sócola Sunción, por su orientación y acompañamiento durante el desarrollo de esta investigación. Asimismo, expreso mi gratitud a mi coasesor, Dr. Edgar López, por sus valiosos aportes técnicos y científicos, especialmente en el componente de metagenómica, que contribuyeron a fortalecer el rigor científico y metodológico de esta tesis.

Mi especial reconocimiento a los miembros del jurado, Dra. Enedia Graciela Vieyra, Dr. Alberto Ordinola y Dr. Milton Sócola, por la rigurosa revisión de esta investigación y por sus valiosas observaciones y sugerencias, que contribuyeron a fortalecer su calidad científica y consolidar el trabajo realizado.

Al Dr. David Saldarriaga por su acompañamiento académico y valiosos aportes durante el proceso de formulación de esta tesis, que contribuyeron a fortalecer el planteamiento, la estructura y el desarrollo de la investigación.

A los representantes del laboratorio Agroacuanálisis S.R.L., Ing. José Serna y Mg. Maritza Navarro, expreso mi especial gratitud por su disposición, profesionalismo y apoyo durante el proceso de análisis y desarrollo de la investigación.

Finalmente, expreso mi profunda gratitud a mis colegas y amigos, Ing. Edgar Medina, Blgo. Gerardo Camino, Ing. Cecilia Cabrera y Mg. Mervin Guevara, quienes, con su disposición, apoyo y palabras de aliento, estuvieron presentes en diferentes momentos de este proceso. Su colaboración y confianza fueron valiosas para superar las dificultades y continuar avanzando hasta alcanzar esta meta.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	x
ÍNDICE GENERAL.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	19
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	22
2.1. Acuicultura de <i>Penaeus vannamei</i> y la generación de efluentes	22
2.1.1. Características típicas de los efluentes acuícolas.....	22
2.1.2. Impactos ambientales de los efluentes acuícolas	23
2.2. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en efluentes acuícolas	25
2.2.1. Sólidos suspendidos totales	25
2.2.2. Compuestos nitrogenados	25
2.2.3. Fósforo.....	26
2.2.4. Demanda bioquímica de oxígeno	26
2.2.5. Sulfuros.....	27
2.2.6. Indicadores microbiológicos.....	27
2.3. Procesos biogeoquímicos en la biorremediación de efluentes.....	28
2.3.1. Mineralización de la materia orgánica.....	28
2.3.2. Nitrificación	29
2.3.3. Asimilación microbiana de nutrientes.....	29
2.3.4. Sucesión microbiana.....	30
2.4. Bioestimulación y bioaumentación como estrategias de biorremediación de efluentes.....	31
2.4.1. Bioestimulación de la microbiota autóctona.....	31
2.4.2. Bioaumentación mediante inoculación microbiana	32
2.5. Proceso simultáneo de bioestimulación y bioaumentación	32

2.6. Antecedentes de investigación	33
2.6.1. Bioestimulación en efluentes acuícolas	33
2.6.2. Bioaumentación en efluentes acuícolas.....	34
2.6.3. Proceso simultáneo de bioestimulación y bioaumentación.....	35
2.7. Metagenómica de comunidades bacterianas en sistemas acuícolas	36
2.8. Impactos y estrategias de biorremediación en efluentes de <i>Penaeus vannamei</i>	37
III. MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.1. Lugar y periodo de ejecución de la investigación	39
3.2. Tipo y diseño de investigación.....	40
3.3. Población, muestra y muestreo	40
3.3.1. Población	40
3.3.2. Muestra y muestreo del efluente.....	41
3.4. Descripción y aplicación de los tratamientos experimentales.....	41
3.4.1. Preparación y aplicación del bioestimulante	41
3.4.2. Aplicación del bioaumentador.....	41
3.4.3. Aplicación simultánea	42
3.4.4. Condiciones experimentales.....	42
3.5. Procedimiento de muestreo y análisis para la determinación de la calidad del efluente	43
3.6. Procedimiento para el análisis metagenómico de la comunidad microbiana. 44	
3.6.1. Toma y procesamiento de muestras para análisis metagenómico	44
3.6.2. Extracción y evaluación del ácido desoxirribonucleico (ADN) metagenómico	45
3.6.3. Preparación de bibliotecas y secuenciación del gen 16S rRNA	45
3.7. Procesamiento y análisis de datos experimentales.....	46
3.7.1. Cálculo de la eficiencia de remoción (ER)	46
3.7.2. Procesamiento y análisis estadísticos de datos.....	46
3.7.3. Análisis bioinformático de metagenómica.....	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1. Línea base de la calidad del agua del cuerpo receptor	48
4.2. Caracterización inicial del efluente de cultivo intensivo de <i>Penaeus vannamei</i>	50
4.2.1. Condiciones fisicoquímicas iniciales del efluente	51

4.2.2. Condiciones microbiológicas iniciales del efluente	53
4.3. Evolución de las condiciones ambientales durante el experimento.....	54
4.3.1. Temperatura	54
4.3.2. Oxígeno disuelto	55
4.3.3. Potencial de hidrógeno (pH)	56
4.3.4. Salinidad	58
4.4. Variación temporal de los sólidos suspendidos totales (SST)	58
4.5. Variación de los compuestos nitrogenados en el efluente	61
4.5.1. Amoníaco (NH_3).....	61
4.5.2. Nitritos (NO_2^-).....	63
4.5.3. Nitratos (NO_3^-).....	65
4.6. Variación de fosfatos (PO_4^{3-})	68
4.7. Variación de sulfuros (S^{2-})	70
4.8. Variación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5)	72
4.9. Variación de coliformes termotolerantes	73
4.10. Eficiencia de remoción de contaminantes	75
4.11. Evaluación comparativa de la calidad del agua del efluente y cuerpo receptor respecto a los Estándares de Calidad Ambiental – Categoría 2	80
4.12. Análisis metagenómico de la comunidad microbiana.....	83
4.12.1. Calidad y concentración del ADN metagenómico	84
4.12.2. Estadísticas generales de secuenciación	85
4.12.3. Control de calidad y procesamiento de secuencias.....	87
4.12.4. Diversidad microbiana	88
4.12.4.1. Curvas de rarefacción.....	89
4.12.4.2. Diversidad alfa de la comunidad microbiana	91
4.12.5. Composición taxonómica de la comunidad microbiana	93
4.12.5.1. Composición a nivel de filo	93
4.12.5.2. Composición a nivel de género.....	96
4.12.5.3. Interpretación de la composición microbiana.....	99
V. CONCLUSIONES.....	101
VI. RECOMENDACIONES	102
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones de compuestos químicos inorgánicos en el cuerpo receptor	43
Tabla 2. Caracterización inicial del efluente del cultivo intensivo de <i>P. vannamei</i>	45
Tabla 3. Temperatura (°C) durante el ensayo	47
Tabla 4. Oxígeno disuelto (mg/l) durante el ensayo	49
Tabla 5. pH durante el ensayo	50
Tabla 6. Variación temporal de los sólidos suspendidos totales (mg/l) en los tratamientos experimentales	53
Tabla 7. Variación temporal de la concentración de amoníaco (mg/l) en los tratamientos experimentales.	55
Tabla 8. Variación temporal de la concentración de nitritos (mg/l) en los tratamientos experimentales	57
Tabla 9. Variación temporal de la concentración de nitratos (mg/l) en los tratamientos experimentales	59
Tabla 10. Variación temporal de la concentración del fosfato (mg/l) en los tratamientos experimentales	60
Tabla 11. Variación temporal de la concentración de sulfuros (mg/l) en los tratamientos experimentales	62
Tabla 12. Variación de la demanda bioquímica de oxígeno (mg/l) en los tratamientos experimentales	63
Tabla 13. Variación de la concentración de los coliformes termotolerantes (NMP/100 ml) en los tratamientos experimentales	65
Tabla 14. Eficiencia de remoción (%) de parámetros fisicoquímicos del efluente del cultivo intensivo de <i>Penaeus vannamei</i> al día 10 del experimento (media ± desviación estándar).	67
Tabla 15. Comparación de los parámetros de calidad del efluente inicial, los tratamientos de biorremediación y el cuerpo marino receptor con los Estándares de Calidad Ambiental para agua (ECA), Categoría 2 – Subcategoría C2.	72
Tabla 16. Concentración de ADN bacteriano y relaciones de absorbancia (A260/280 y A260/230) para las muestras de efluente obtenidas de estanque de cultivo de <i>P. vannamei</i> en el departamento de Tumbes	74

Tabla 17. Estadísticas de lecturas obtenidas en la secuenciación del gen 16S rRNA	75
Tabla 18. Resumen de la calidad de las lecturas de secuenciación y métricas de las secuencias obtenidas en cada etapa del flujo de trabajo con DADA2..	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Unidades experimentales constituidas por botellas plásticas de 20 litros que contenían efluente procedente del cultivo intensivo de <i>Penaeus vannamei</i>	31
Figura 2. Índice de diversidad de Shannon para cada tratamiento de interés con respecto a la profundidad de secuenciación.....	75
Figura 3. Índice de diversidad de Shannon para el tiempo de muestreo con respecto a la profundidad de secuenciación. T1: inicio del experimento (antes de la aplicación de los tratamientos). T2: final del experimento (después de la aplicación de los tratamientos).....	81
Figura 4. Composición de la abundancia y diversidad bacteriana a nivel de filo observadas en los diferentes tratamientos y efluente (EFT). Ctrl (Control), BA (Bioaumentación), BE (Bioestimulación) y PS (Proceso simultáneo). 1: Tiempo1, 2: Tiempo 2.	84
Figura 5. Composición de la abundancia y diversidad bacteriana a nivel de género observadas en los diferentes tratamientos y efluente (EFT). Ctrl (Control), BA (Bioaumentación), BE (Bioestimulación) y PS (Proceso simultáneo). 1: Tiempo1, 2: Tiempo 2.	87

RESUMEN

El presente estudio evaluó la eficiencia de estrategias de biorremediación en el efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* en Tumbes, Perú, mediante bioestimulación, bioaumentación y la aplicación combinada de ambas, con la finalidad de determinar la alternativa más eficiente para mejorar la calidad del efluente y reducir impactos ambientales asociados a la actividad acuícola. Se evaluaron cuatro tratamientos: control (Ctrl), bioestimulación (BE), bioaumentación (BA) y proceso simultáneo (PS), con tres repeticiones cada uno. Se analizaron parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y la composición de la comunidad bacteriana mediante secuenciación del gen 16S rRNA antes y después de los tratamientos. Durante el experimento, las condiciones ambientales presentaron valores promedio de temperatura de 29,96 °C, oxígeno disuelto de 2,58 mg/l, pH de 8,06 y salinidad de 35 g/l, favoreciendo la actividad microbiana del sistema. Al día 10, el PS alcanzó las mayores eficiencias de remoción de sólidos suspendidos totales (88,56 %), fosfatos (51,02 %) y demanda bioquímica de oxígeno (70,53 %), con diferencias significativas respecto al control ($p < 0,05$). La bioaumentación presentó remociones de DBO₅ (63,14 %) y fosfatos (40,61 %), mientras que la bioestimulación alcanzó 53,57 % y 26,37 %, respectivamente. El amoníaco, sulfuros y coliformes termotolerantes mostraron remociones superiores al 98 % en todos los tratamientos, sin diferencias significativas ($p > 0,05$). El análisis metagenómico evidenció mayor abundancia relativa del filo Bacillota en BA y PS, asociada con una reducción del género *Vibrio*. Se concluye que el proceso simultáneo fue la estrategia más eficiente para la biorremediación del efluente, favoreciendo la remoción de materia orgánica, sólidos suspendidos totales y nutrientes, mientras que el indicador microbiológico de coliformes termotolerantes mostró elevada reducción en todos los tratamientos.

Palabras clave: *Penaeus vannamei*, biorremediación, bioestimulación, bioaumentación, efluente, comunidad microbiana.

ABSTRACT

This study evaluated the efficiency of bioremediation strategies in the effluent from an intensive *Penaeus vannamei* farming system in Tumbes, Peru, through biostimulation, bioaugmentation, and the combined application of both approaches, aiming to determine the most efficient alternative for improving effluent quality and reducing environmental impacts associated with aquaculture activities. Four treatments were evaluated: control (Ctrl), biostimulation (BE), bioaugmentation (BA), and simultaneous process (PS), each with three replicates. Physicochemical and microbiological parameters were analyzed, along with bacterial community composition through 16S rRNA gene sequencing before and after treatment application. During the experiment, environmental conditions showed average values of temperature (29.96 °C), dissolved oxygen (2.58 mg/L), pH (8.06), and salinity (35 g/L), which supported microbial activity within the system. On day 10, PS achieved the highest removal efficiencies for total suspended solids (88.56%), phosphates (51.02%), and biochemical oxygen demand (70.53%), with significant differences compared to the control ($p < 0.05$). Bioaugmentation achieved removals of BOD₅ (63.14%) and phosphates (40.61%), whereas biostimulation reached 53.57% and 26.37%, respectively. Ammonia, sulfides, and thermotolerant coliforms showed removal efficiencies above 98% in all treatments, with no significant differences ($p > 0.05$). Metagenomic analysis revealed a higher relative abundance of the phylum Bacillota in BA and PS, associated with a reduction in the genus *Vibrio*. It is concluded that the simultaneous process was the most efficient strategy for effluent bioremediation, enhancing the removal of organic matter, total suspended solids, and nutrients, while the microbiological indicator of thermotolerant coliforms showed high reduction across all treatments.

Keywords: *Penaeus vannamei*, bioremediation, biostimulation, bioaugmentation, effluent, microbial community.

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura se ha consolidado como una de las actividades productivas de mayor expansión a nivel mundial, desempeñando un papel clave en la provisión de alimentos y en la seguridad alimentaria. En 2022, la producción global de organismos acuáticos alcanzó 232,20 millones de toneladas, de las cuales más del 52% provinieron de la acuicultura, superando por primera vez a la pesca de captura. En este contexto, la especie *Penaeus vannamei* destaca por su elevada productividad, su adaptabilidad a sistemas intensivos de cultivo y su aporte significativo a la producción mundial de crustáceos (FAO, 2024). En países en desarrollo, la acuicultura adquiere especial relevancia, pues genera empleo, dinamiza las economías rurales y mejora la disponibilidad de recursos alimentarios de origen acuático (World Bank, 2023).

En el Perú, la región Tumbes concentra la mayor producción de *P. vannamei*, aportando en 2023 más de 18 000 toneladas de las aproximadamente 39 000 toneladas métricas producidas a nivel nacional (SNA, 2024; PRODUCE, 2024). Este crecimiento ha estado acompañado de la adopción de sistemas intensivos que incrementan la productividad; sin embargo, también generan altas cargas de residuos orgánicos y nutrientes provenientes del alimento no consumido, las excretas y los procesos metabólicos de los organismos cultivados. Los efluentes resultantes pueden contener concentraciones significativas de nitrógeno, fósforo, sólidos suspendidos y microorganismos patógenos (Alonso Fernández, et al., 2023).

La descarga de efluentes sin tratamiento adecuado puede alterar las condiciones fisicoquímicas y ecológicas de los cuerpos receptores debido al aporte continuo de nutrientes y materia orgánica, favoreciendo la eutrofización, disminución del oxígeno disuelto y cambios en las comunidades biológicas (Alonso Fernández et al., 2023). En los estuarios y manglares de Tumbes, la actividad langostinera se ha relacionado con alteraciones microbiológicas y ecológicas, como la presencia de

coliformes termotolerantes, bacterias resistentes a antibióticos y acumulación de sedimentos que incrementan la turbidez y modifican la dinámica del ecosistema (Gonzales, 2025; Autoridad Nacional del Agua, 2024).

A nivel normativo, el Perú no establece límites máximos permisibles (LMP) específicos para la acuicultura, por lo que los impactos de los efluentes se evalúan mediante los estándares de calidad ambiental (ECA) para agua (MINAM, 2017). Esta ausencia de regulación directa, sumada a la falta de evaluaciones comparativas de estrategias de tratamiento, evidencia la necesidad de desarrollar soluciones efectivas que aseguren la sostenibilidad de los ecosistemas y la viabilidad del sector acuícola.

En este marco, la biorremediación se ha posicionado como una estrategia eficiente, económica y de bajo impacto ambiental para tratar efluentes acuícolas. Entre sus enfoques destacan la bioestimulación, que optimiza las condiciones ambientales para potenciar la microbiota nativa, y la bioaumentación, que incorpora microorganismos exógenos con capacidades metabólicas específicas. Ambas estrategias han demostrado reducir significativamente la materia orgánica, el nitrógeno y el fósforo total en sistemas acuáticos (Barba et al., 2021; Li et al., 2023; Gualán et al., 2025).

La bioestimulación, como ocurre en la tecnología de biofloc, promueve el desarrollo y la actividad de comunidades microbianas autóctonas mediante la regulación de la relación entre carbono y nitrógeno y el suministro adecuado de oxígeno por aireación continua. Estas condiciones favorecen la formación de agregados microbianos capaces de asimilar nitrógeno inorgánico y retener nutrientes en la biomasa, contribuyendo a la reducción de compuestos nitrogenados como amonio y nitrito, así como de la demanda bioquímica de oxígeno, mejorando la calidad del agua sin requerir la incorporación de microorganismos externos (Barba et al., 2021; Li et al., 2023; Gualán et al., 2025).

Por su parte, la bioaumentación con consorcios bacterianos ha logrado remociones de 81 % a 84 % de compuestos nitrogenados (TAN, nitrito y nitrato), hasta 76 % de fósforo total y más del 84 % de la demanda química de oxígeno. Sistemas

combinados de microalgas y bacterias en biofilms han mostrado eficiencias de 70% a 90 % en nitrógeno total y hasta 88 % en demanda química de oxígeno, evidenciando el potencial de estrategias biológicas integradas para optimizar la calidad del efluente (Muter, 2023; Alonso Fernández et al., 2023).

La combinación de bioestimulación y bioaumentación genera efectos sinérgicos que favorecen la diversidad funcional microbiana y la remoción de compuestos nitrogenados. Estudios metagenómicos y sistemas biofloc han evidenciado la sucesión microbiana y la selección de bacterias degradadoras asociadas con eficiencias superiores al 78 % y baja toxicidad residual (Sena et al., 2024; Panigrahi et al., 2021; Baca, 2019). Asimismo, experiencias en Ecuador y norte del Perú demostraron que consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas contribuyen a reducir fosfatos, compuestos nitrogenados y coliformes totales, respaldando la aplicación de estas estrategias en sistemas acuícolas productivos (Navarrete Álava et al., 2022; Noriega, 2023).

A pesar del potencial de estas estrategias, la limitada capacidad de la microbiota nativa frente a altas cargas orgánicas y condiciones ambientales desfavorables provoca la acumulación de nutrientes y compuestos tóxicos. Este vacío de conocimiento, junto con la ausencia de LMP específicos para la acuicultura en Perú, dificulta identificar las soluciones más efectivas. Por ello, evaluar de manera comparativa la eficiencia de la bioestimulación y la bioaumentación, tanto de forma individual como combinada, resulta crucial para optimizar la gestión de efluentes, garantizar el cumplimiento de los ECA, reducir los impactos ambientales, proteger la salud pública y fortalecer la sostenibilidad económica y social del sector acuícola.

Por consiguiente, la presente investigación tiene como objetivo evaluar comparativamente la eficiencia de la bioestimulación y la bioaumentación, aplicadas de manera individual y simultánea, en la remoción de contaminantes de los efluentes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* en Tumbes, Perú, con el fin de identificar la estrategia más eficiente para promover una acuicultura sostenible en la región.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Acuicultura de *Penaeus vannamei* y la generación de efluentes

El cultivo de langostino constituye un pilar económico clave en América Latina y Perú, generando divisas y empleo rural, además de contribuir a la seguridad alimentaria (FAO, 2020; Panigrahi et al., 2021). El crecimiento sostenido de la demanda ha impulsado la adopción de sistemas intensivos, caracterizados por densidades de entre 100 y 200 organismos/m², el empleo de dietas balanceadas y el uso de recambios controlados de agua para mantener la calidad del medio de cultivo (Gogoi et al., 2021; Anh et al., 2021).

Si bien estos sistemas incrementan la productividad, también generan efluentes con concentraciones elevadas de nitrógeno inorgánico, principalmente nitrógeno amoniacal total, nitrito y nitrato, además de fósforo, sólidos suspendidos y materia orgánica biodegradable. La descarga de estos efluentes sin tratamiento promueve procesos de eutrofización, disminución del oxígeno disuelto y deterioro de la calidad del agua en estuarios y zonas costeras receptoras (Anh et al., 2021; Wang et al., 2022; Lananan et al., 2014).

La composición y magnitud de esta carga contaminante dependen de factores como la densidad de cultivo, el tipo y eficiencia del alimento administrado, y las prácticas de manejo del agua. Unidades con mayor intensidad productiva presentan acumulación acelerada de nutrientes y materia orgánica, lo que aumenta la presión sobre el ecosistema circundante si no se implementan estrategias adecuadas de tratamiento de efluentes (Anh et al., 2021).

2.1.1. Características típicas de los efluentes acuícolas

Los efluentes generados en los sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* están constituidos principalmente por alimento no consumido, excretas de los organismos y partículas de sedimento suspendidas por efecto de la aireación. Asimismo, su composición es modificada por la actividad metabólica de la

microbiota asociada al sistema, la cual interviene en los procesos de transformación de la materia orgánica y del reciclaje de nutrientes (Anh et al., 2021; Gogoi et al., 2021). Estos efluentes suelen contener elevados niveles de sólidos suspendidos totales (SST), compuestos nitrogenados como el nitrógeno amoniacal total (TAN), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) fósforo reactivo, materia orgánica biodegradable (DBO_5) y una diversidad de microorganismos indicadores de calidad sanitaria, entre ellos coliformes termotolerantes (Panigrahi et al., 2021).

En sistemas intensivos, las concentraciones reportadas reflejan la magnitud de la carga orgánica generada: SST entre 500 y 1 500 mg/l, $\text{NH}_3\text{-N}$ entre 1 y 15 mg/l, fosfatos entre 0,5 y 5,0 mg/l y valores de DBO_5 que oscilan entre 200 y 1 000 mg/l (Anh et al., 2021; Gogoi et al., 2021). Estas condiciones se acentúan en ambientes salinos e hipersalinos, donde los efluentes presentan típicamente concentraciones relevantes de TAN, nitritos y nitratos derivados del proceso de nitrificación, así como fosfato inorgánico procedente del alimento no asimilado (Patil et al., 2021).

El nitrógeno amoniacal total y el nitrito son tóxicos para organismos acuáticos, por lo que su control implica la acción de rutas microbianas específicas. En la primera etapa de nitrificación, las bacterias oxidantes de amonio (AOB) y arqueas oxidantes de amonio (AOA) transforman el NH_4^+ en NO_2^- . Posteriormente, las bacterias oxidantes de nitrito (NOB) convierten este NO_2^- en NO_3^- , una forma menos tóxica y más estable. Finalmente, bajo condiciones anóxicas, el NO_3^- puede ser reducido a nitrógeno gaseoso (N_2) mediante la desnitrificación heterotrófica o incorporado a la biomasa microbiana a través de procesos de asimilación (Pekkoh et al., 2022; Patil et al., 2021).

2.1.2. Impactos ambientales de los efluentes acuícolas

La descarga de efluentes acuícolas sin tratamiento adecuado genera una serie de alteraciones fisicoquímicas y biológicas que afectan de manera directa los ecosistemas estuarinos y costeros. Uno de los efectos más documentados es la eutrofización, provocada por el ingreso excesivo de nitrógeno y fósforo, nutrientes que estimulan el crecimiento acelerado de fitoplancton y microalgas. Este proceso conduce a la reducción progresiva del oxígeno disuelto, especialmente durante la descomposición de la biomasa algal, lo que puede desencadenar eventos de

hipoxia y mortalidad de organismos acuáticos (Thakur et al., 2023; Jiang et al., 2025).

Además de la disminución del oxígeno disuelto, los efluentes con elevadas cargas de materia orgánica y sólidos suspendidos favorecen la acumulación de sedimentos finos y la alteración de los ciclos biogeoquímicos en el fondo de los cuerpos receptores. El exceso de detritos incrementa la actividad microbiana anaeróbica, promoviendo la formación de compuestos potencialmente tóxicos como el sulfuro de hidrógeno (H_2S), capaces de afectar a peces y crustáceos en ambientes costeros (Anh et al., 2021). Asimismo, estudios locales han evidenciado que estos procesos contribuyen a la colmatación y disminución del intercambio hídrico en áreas de manglar, incrementando la susceptibilidad de estos ecosistemas a procesos de degradación (Autoridad Nacional del Agua, 2024).

Los efluentes acuícolas también generan impactos microbiológicos, debido a la liberación de altas concentraciones de bacterias heterótrofas y coliformes termotolerantes. Esto incrementa el riesgo sanitario para la fauna silvestre y, en algunos casos, para poblaciones humanas que dependen de estos cuerpos de agua. Investigaciones desarrolladas en zonas langostineras de Tumbes reportan la presencia de bacterias resistentes a antibióticos asociados a la descarga crónica de efluentes, lo que constituye un riesgo emergente para la salud pública y la resiliencia ecosistémica (Gonzales Gómez, 2025).

Otro efecto relevante es la proliferación de microorganismos oportunistas y potencialmente patógenos. La liberación continua de nutrientes y materia orgánica genera condiciones ideales para el crecimiento de géneros como *Vibrio*, ampliamente reconocido por su patogenicidad en ambientes de cultivo de *P. vannamei*. Estudios metagenómicos han evidenciado que los cambios en la composición bacteriana inducidos por los efluentes pueden favorecer la dominancia de estos taxones, incrementando la probabilidad de brotes infecciosos en zonas receptoras y en sistemas de cultivo cercanos (Navarrete Álava et al., 2022; Martínez-Córdova et al., 2011).

Finalmente, estos impactos ambientales subrayan la necesidad de implementar tecnologías de biorremediación que reduzcan la carga de nutrientes, sólidos y microorganismos antes del vertido o la recirculación del agua. Estrategias basadas en consorcios bacterianos, consorcios de microalgas y bacterias, lodos granulares y sistemas biofloc han demostrado ser eficaces para disminuir la concentración de nitrógeno inorgánico, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) y microorganismos potencialmente patógenos, contribuyendo a mitigar los riesgos ecológicos y sanitarios asociados a los efluentes acuícolas (Oliveira et al., 2023; Wang et al., 2022; Patil et al., 2021).

2.2. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en efluentes acuícolas

2.2.1. Sólidos suspendidos totales

Los sólidos suspendidos totales (SST) corresponden a partículas orgánicas e inorgánicas presentes en la columna de agua, provenientes principalmente del alimento no consumido, las excretas de los organismos y sedimentos removidos por la aireación durante las operaciones de cultivo. Su acumulación incrementa la turbidez, favorece el transporte de nutrientes y contribuye a la sedimentación en los cuerpos de agua receptores, afectando la calidad del agua y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos (Anh et al., 2021). En sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, las concentraciones de SST pueden superar los 1 000 mg/l, dependiendo de la densidad de cultivo, las prácticas de alimentación y el manejo del sistema (Gogoi et al., 2021).

2.2.2. Compuestos nitrogenados

Los compuestos nitrogenados constituyen algunos de los principales contaminantes presentes en los efluentes de los sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, debido a la excreción de los organismos, la descomposición del alimento no consumido y la mineralización de la materia orgánica. El nitrógeno amoniacal total representa el principal producto de excreción nitrogenada y se encuentra en equilibrio entre la forma no ionizada (NH_3), altamente tóxica para los organismos acuáticos, y la forma ionizada (NH_4^+), cuya proporción depende principalmente del pH y la temperatura del agua (Ismail et al., 2022). Durante el proceso de nitrificación, el amonio es oxidado a nitrito (NO_2^-), un compuesto intermedio de elevada toxicidad que puede afectar el crecimiento, la supervivencia

y los procesos fisiológicos de los organismos cultivados, incluso a bajas concentraciones (Thakur et al., 2023). Posteriormente, el nitrito es transformado en nitrato (NO_3^-), la forma más oxidada y menos tóxica del nitrógeno inorgánico, cuya concentración está determinada por la actividad de las comunidades microbianas nitrificantes y desnitrificantes, así como por las condiciones de oxigenación del sistema (Jiang et al., 2025).

2.2.3. Fósforo

El fósforo es uno de los nutrientes esenciales para el crecimiento de los organismos acuáticos y constituye un componente importante de los efluentes generados en los sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*. Su principal fuente es el alimento balanceado, ya que una fracción del fósforo suministrado no es asimilada por los organismos y es excretada o liberada al agua mediante la descomposición del alimento no consumido y de la materia orgánica (Anh et al., 2021). En los efluentes acuícolas, el fósforo se encuentra en formas disueltas y particuladas, siendo el ortofosfato (PO_4^{3-}) la fracción más biodisponible para los productores primarios.

El enriquecimiento de fósforo en los cuerpos receptores favorece la proliferación excesiva de fitoplancton y macroalgas, acelerando los procesos de eutrofización, el incremento de la demanda bioquímica de oxígeno y la alteración de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas acuáticos (Li et al., 2023). En consecuencia, la concentración de ortofosfatos constituye un indicador relevante para evaluar la calidad de los efluentes y el potencial de impacto ambiental de las actividades acuícolas.

2.2.4. Demanda bioquímica de oxígeno

La demanda bioquímica de oxígeno a cinco días (DBO_5) es uno de los principales indicadores de la contaminación orgánica en los cuerpos de agua y efluentes acuícolas, ya que cuantifica la cantidad de oxígeno disuelto requerida por los microorganismos aerobios para degradar la materia orgánica biodegradable bajo condiciones estandarizadas de incubación. En los sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, la DBO_5 está asociada principalmente a la acumulación de alimento no consumido, excretas y otros residuos orgánicos generados durante el

proceso productivo, cuya degradación por microorganismos aerobios incrementa el consumo de oxígeno disuelto (Gogoi et al., 2021).

Elevadas concentraciones de DBO_5 incrementan el consumo de oxígeno disuelto, lo que puede provocar condiciones de hipoxia o anoxia en los cuerpos de agua receptores, alterando la estructura de las comunidades acuáticas, favoreciendo procesos anaerobios y la formación de compuestos potencialmente tóxicos, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S) (Anh et al., 2021). Por esta razón, la DBO_5 constituye un parámetro ampliamente utilizado para evaluar la calidad de los efluentes y estimar su potencial impacto sobre los ecosistemas acuáticos.

2.2.5. Sulfuros

Los sulfuros constituyen compuestos reducidos del azufre que se forman durante la descomposición anaerobia de la materia orgánica en sedimentos y cuerpos de agua con baja disponibilidad de oxígeno. Su formación está asociada a la actividad de bacterias reductoras de sulfatos, las cuales utilizan el sulfato como aceptor final de electrones en condiciones anóxicas, generando diferentes especies de sulfuros cuya distribución depende del pH y del potencial de óxido-reducción del medio. Concentraciones elevadas de estos compuestos deterioran la calidad del agua, alteran los procesos biogeoquímicos y generan condiciones desfavorables para el crecimiento y la supervivencia de los organismos cultivados. En este contexto, las estrategias de biorremediación que incrementan la disponibilidad de oxígeno y estimulan la actividad de microorganismos aerobios contribuyen a limitar la formación de sulfuros y a restablecer condiciones ambientales más favorables para el funcionamiento del ecosistema acuático (Thakur et al., 2023).

2.2.6. Indicadores microbiológicos

los coliformes termotolerantes son ampliamente utilizados como indicadores de contaminación de origen fecal, debido a que su presencia refleja el posible ingreso de microorganismos de origen entérico y permite evaluar la eficacia de los procesos de tratamiento biológico. Asimismo, las bacterias heterótrofas desempeñan un papel importante en la degradación de la materia orgánica y en el reciclaje de nutrientes, por lo que su abundancia está estrechamente relacionada con la dinámica microbiana de los sistemas acuáticos.

Las estrategias de biorremediación, como la bioestimulación, la bioaumentación y los sistemas biofloc, promueven el establecimiento de comunidades microbianas más estables y funcionales, capaces de competir con microorganismos potencialmente patógenos y contribuir a la reducción de los coliformes termotolerantes. Por ello, la disminución de estos indicadores microbiológicos constituye un criterio ampliamente utilizado para evaluar la eficiencia de los tratamientos biológicos aplicados a efluentes acuícolas y la mejora de su calidad sanitaria (Panigrahi et al., 2021).

2.3. Procesos biogeoquímicos en la biorremediación de efluentes

La biorremediación microbiana se ha consolidado como una estrategia sostenible para el tratamiento de efluentes acuícolas, debido a la capacidad metabólica de los microorganismos para transformar y reciclar nutrientes mediante diversos procesos biogeoquímicos. Estos procesos incluyen principalmente la mineralización de la materia orgánica, la nitrificación, la asimilación microbiana de nutrientes y la dinámica o sucesión de las comunidades microbianas, los cuales contribuyen a la reducción de contaminantes y al mantenimiento del equilibrio ecológico del sistema acuático (Huang et al., 2022; Zhao et al., 2024).

La interacción entre bacterias heterótrofas, bacterias nitrificantes y otros microorganismos funcionales permite la conversión de compuestos orgánicos e inorgánicos en formas menos tóxicas o en biomasa microbiana, facilitando así el reciclaje de nutrientes y la mejora de la calidad del agua en sistemas acuícolas intensivos (Panigrahi et al., 2021).

2.3.1. Mineralización de la materia orgánica

La mineralización de la materia orgánica constituye uno de los procesos iniciales y más importantes en la biorremediación de efluentes acuícolas. Este proceso es llevado a cabo principalmente por bacterias heterótrofas que utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía. Durante la degradación microbiana, las macromoléculas orgánicas presentes en los residuos acuícolas como proteínas, carbohidratos y lípidos son descompuestas mediante la acción de enzimas extracelulares hidrolíticas, produciendo compuestos más simples que pueden ser absorbidos por las células microbianas (Liu et al., 2024).

Una vez dentro de la célula, estos compuestos son metabolizados a través de rutas bioquímicas centrales, generando energía y produciendo como subproductos dióxido de carbono (CO_2), amonio (NH_4^+) y fosfatos (PO_4^{3-}). Este proceso contribuye significativamente a la reducción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) del efluente y facilita la posterior transformación de los nutrientes liberados mediante otros procesos del ciclo biogeoquímico (Wang et al., 2023).

2.3.2. Nitrificación

La nitrificación es un proceso microbiológico aerobio esencial en la transformación del nitrógeno presente en los efluentes acuícolas. Este proceso ocurre en dos etapas sucesivas mediadas por bacterias quimioautótrofas especializadas. En la primera etapa, bacterias oxidantes de amonio, como *Nitrosomonas*, convierten el amonio (NH_4^+) en nitrito (NO_2^-) mediante la acción de enzimas específicas involucradas en la oxidación del nitrógeno reducido. En la segunda etapa, bacterias oxidantes de nitrito, como *Nitrobacter* o *Nitrospira*, transforman el nitrito en nitrato (NO_3^-) (Huang et al., 2022).

Este proceso resulta fundamental para la reducción de la toxicidad del amonio en los sistemas acuáticos, ya que concentraciones elevadas de este compuesto pueden afectar negativamente la fisiología y el crecimiento de los organismos cultivados. Además, el nitrato producido puede ser posteriormente eliminado mediante procesos como la desnitrificación o incorporado a la biomasa microbiana (Zhao et al., 2024).

2.3.3. Asimilación microbiana de nutrientes

La asimilación microbiana es un proceso mediante el cual los microorganismos incorporan nutrientes inorgánicos disueltos, principalmente nitrógeno y fósforo, a su biomasa celular. Este mecanismo contribuye a disminuir las concentraciones de nutrientes disponibles en el agua al transformarlos en biomasa particulada, que posteriormente puede sedimentar o integrarse en redes tróficas dentro del sistema acuícola (Panigrahi et al., 2021).

Las bacterias heterótrofas pueden asimilar rápidamente el amonio disuelto, especialmente en sistemas con alta disponibilidad de carbono orgánico. Este

fenómeno es particularmente relevante en tecnologías como los sistemas biofloc, donde la manipulación de la relación entre carbono y nitrógeno favorece el crecimiento de comunidades bacterianas que capturan el nitrógeno inorgánico y lo incorporan en flóculos microbianos (Wang et al., 2023).

Además, el fósforo presente en el agua, principalmente en forma de fosfato inorgánico, es absorbido por los microorganismos y utilizado en la síntesis de moléculas esenciales como ATP, ácidos nucleicos y fosfolípidos, contribuyendo al reciclaje de nutrientes dentro del sistema (Liu et al., 2024).

2.3.4. Sucesión microbiana

Durante el tratamiento biológico de efluentes acuícolas, las comunidades microbianas experimentan cambios dinámicos en su estructura y composición, proceso conocido como sucesión microbiana. Este fenómeno está influenciado por factores ambientales como la disponibilidad de sustratos orgánicos, la concentración de nutrientes, el oxígeno disuelto, la temperatura y el pH (Zhang et al., 2021).

En las etapas iniciales del tratamiento predominan bacterias heterótrofas capaces de degradar rápidamente compuestos orgánicos fácilmente biodegradables. Con el tiempo, a medida que disminuye la carga orgánica y cambian las condiciones ambientales, se favorece el establecimiento de microorganismos especializados en procesos específicos del ciclo de nutrientes, como bacterias nitrificantes y desnitrificantes (Li et al., 2022).

Los avances recientes en técnicas de secuenciación de alto rendimiento y metagenómica han permitido comprender con mayor detalle la dinámica de estas comunidades microbianas en sistemas acuícolas, evidenciando que la diversidad y estabilidad de los microbiomas acuáticos desempeñan un papel clave en la eficiencia de los procesos de biorremediación y en el mantenimiento de la calidad del agua (Panigrahi et al., 2021; Zhao et al., 2024).

2.4. Bioestimulación y bioaumentación como estrategias de biorremediación de efluentes

La biorremediación es un proceso biotecnológico que emplea microorganismos o su actividad metabólica para degradar, transformar o mineralizar compuestos contaminantes presentes en el agua, los sedimentos y otras matrices ambientales, con el propósito de reducir su impacto sobre los ecosistemas (Anh et al., 2021). En la acuicultura intensiva de *Penaeus vannamei*, esta estrategia constituye una alternativa sostenible para el tratamiento de efluentes, debido a que permite disminuir la carga orgánica y los nutrientes derivados del alimento no consumido, las excretas y otros residuos generados durante el cultivo, favoreciendo el mejoramiento de la calidad del agua antes de su descarga al ambiente receptor (Gogoi et al., 2021).

La eficiencia de la biorremediación depende de la interacción entre las comunidades microbianas y las condiciones fisicoquímicas del medio, las cuales regulan procesos como la degradación de la materia orgánica, la transformación de compuestos nitrogenados y fosforados y la estabilización de otros contaminantes presentes en los efluentes acuícolas (Thakur et al., 2023). Entre las estrategias biológicas más empleadas para potenciar estos procesos destacan la bioestimulación, orientada a incrementar la actividad metabólica de la microbiota autóctona, y la bioaumentación, basada en la incorporación de microorganismos con capacidades específicas de biodegradación. Ambas estrategias han demostrado mejorar la remoción de sólidos suspendidos totales (SST), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), compuestos nitrogenados y fosforados, contribuyendo a la reducción de la carga contaminante y al fortalecimiento de la sostenibilidad ambiental de los sistemas acuícolas (Anh et al., 2021; Thakur et al., 2023).

2.4.1. Bioestimulación de la microbiota autóctona

La bioestimulación es una estrategia de biorremediación que consiste en potenciar la actividad metabólica y el crecimiento de las comunidades microbianas autóctonas mediante la optimización de las condiciones fisicoquímicas del sistema o la incorporación de nutrientes específicos, sin introducir microorganismos exógenos. Entre los principales factores que regulan este proceso se encuentran la

relación entre carbono y nitrógeno, la disponibilidad de oxígeno disuelto, el pH, la salinidad y el aporte de fuentes de carbono fácilmente biodegradables, los cuales favorecen el desarrollo de microorganismos con capacidad para degradar la materia orgánica y transformar los nutrientes presentes en el efluente (Lananan et al., 2014; Wang et al., 2022).

2.4.2. Bioaumentación mediante inoculación microbiana

La bioaumentación es una estrategia de biorremediación basada en la incorporación de microorganismos seleccionados o consorcios microbianos con capacidades metabólicas específicas para incrementar la eficiencia de los procesos de transformación y eliminación de contaminantes presentes en los efluentes.

En sistemas acuícolas intensivos, esta estrategia se ha aplicado mediante la inoculación de consorcios conformados por microorganismos nitrificantes, como las arqueas y bacterias oxidantes de amonio (AOA/AOB) y bacterias oxidantes de nitrito (NOB), así como microorganismos desnitrificantes (DNB), adaptados a condiciones variables de salinidad, incluyendo rangos entre 2 y 35 g/l. Estos grupos microbianos participan de manera complementaria en la transformación del nitrógeno inorgánico, convirtiendo el amonio en nitrito y posteriormente en nitrato mediante nitrificación, y reduciendo los compuestos nitrogenados oxidados mediante procesos de desnitrificación (Patil et al., 2021).

2.5. Proceso simultáneo de bioestimulación y bioaumentación

La aplicación combinada de bioestimulación y bioaumentación constituye una estrategia integrada de biorremediación que busca aprovechar la capacidad metabólica de la microbiota autóctona y las funciones específicas de microorganismos incorporados al sistema.

La interacción entre las comunidades microbianas nativas y los microorganismos incorporados puede generar efectos sinérgicos al favorecer una mayor diversidad funcional y una distribución más eficiente de las actividades metabólicas dentro del sistema microbiano. Esta complementariedad permite mejorar la estabilidad del sistema, acelerar los procesos biogeoquímicos asociados al ciclo del carbono, nitrógeno y fósforo, y favorecer la remoción de contaminantes mediante

mecanismos de asimilación, oxidación y transformación microbiana (Anh et al., 2021; Panigrahi et al., 2021).

2.6. Antecedentes de investigación

2.6.1. Bioestimulación en efluentes acuícolas

La bioestimulación consiste en optimizar condiciones ambientales (relación carbono y nitrógeno), oxigenación, pH, salinidad y superficie disponible para biopelículas) para potenciar el desempeño de la microbiota nativa y acelerar la mineralización de materia orgánica y la transformación del nitrógeno inorgánico. En la tecnología biofloc, el ajuste de la relación entre el carbono y nitrógeno (C:N) y la aireación *in situ* promueven la formación de agregados microbianos capaces de asimilar nitrógeno y fósforo, y reducir el nitrógeno amoniacal total (TAN), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), estabilizando la calidad del agua sin la inoculación de cepas microbianas externas (Panigrahi et al., 2021; Lananan et al., 2014).

Evidencias recientes en estanques de recirculación con consorcios de bacterias y microalgas muestran reducciones importantes de nitrógeno amoniacal total (TAN, -51,28 %), nitrito (NO_2^- , -33,48 %) y nitrógeno total (TN, -29,15 %), junto con un incremento marcado de genes funcionales asociados a los procesos de nitrificación (amoA, +330,75 %) y desnitrificación (nirK, +464,44 %). Estos resultados sugieren una relación directa entre la estructura y la función de la comunidad microbiana, evidenciando que la bioestimulación, mediante el uso de soportes o portadores, fortalece las rutas microbianas clave del ciclo del nitrógeno en condiciones reales de cultivo (Wang et al., 2022).

Además, la resiliencia operativa de los consorcios fototróficos granulares respalda la aplicación de sistemas basados en lodos granulares microalga–bacteria, debido a su capacidad para mantener altas eficiencias de remoción de contaminantes bajo condiciones variables de operación. Estos sistemas han alcanzado remociones de carbono entre 83 % y 100 % y de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) entre 93 % y 100 %, además de evidenciar una rápida recuperación funcional después de la exposición a compuestos antimicrobianos como el florfenicol. Estos resultados sugieren que la optimización de variables ambientales mediante estrategias de bioestimulación

favorece la estabilidad de las comunidades microbianas y mantiene la coexistencia de microambientes aeróbicos y anóxicos dentro del mismo reactor, permitiendo la ocurrencia simultánea de procesos como oxidación de materia orgánica, nitrificación y desnitrificación (Oliveira et al., 2023).

2.6.2. Bioaumentación en efluentes acuícolas

La bioaumentación incorpora microorganismos seleccionados para intensificar rutas clave de nitrificación (AOB/AOA $\rightarrow$ NOB) y desnitrificación (DNB), o bien para mineralizar materia orgánica recalcitrante. En cultivos de *Penaeus vannamei*, consorcios AOB/AOA – NOB – DNB lograron reducciones de TAN del 47 – 90 %, con tasas de oxidación de 1,57 ppm por día ($\text{NH}_3 - \text{N}$) y 1,46 ppm por día ($\text{NO}_2^- - \text{N}$), y desnitrificación de 2,9 – 4,6 ppm por hora; resultados consistentes en un rango de 2 a 35 g/l de salinidad (Patil et al., 2021).

En matrices salinas e hipersalinas, la aplicación de microorganismos halófilos moderados ha demostrado un alto potencial para el tratamiento de efluentes acuícolas costeros. Cepas como *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* y *Marinirhabdus* sp. han alcanzado eficiencias de remoción de aproximadamente 92 % de demanda química de oxígeno y entre 80 % y 85 % de nitrógeno total en un periodo de nueve días, además de favorecer la disminución de compuestos nitrogenados inorgánicos como nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) y amonio (NH_4^+). Estos resultados evidencian la capacidad de los microorganismos marinos adaptados a condiciones de elevada salinidad para participar en procesos de degradación de materia orgánica y transformación del nitrógeno, respaldando la aplicación de estrategias de bioaumentación con consorcios microbianos autóctonos o adaptados en efluentes acuícolas de ambientes costeros (Anh et al., 2021). Asimismo, la inoculación con *Bacillus* (heterótrofos robustos) y bacterias nitrificantes ha mostrado reducción de NH_3 y DBO, y mejor control sanitario, subrayando el papel de heterótrofos enzimáticamente activos en paquetes bioaumentados (Gogoi et al., 2021).

En síntesis, la bioaumentación representa una estrategia eficiente para optimizar los procesos de biorremediación al favorecer el establecimiento temprano de microorganismos funcionales, acelerar la transformación de compuestos

nitrogenados y mejorar la estabilidad del sistema bajo condiciones de elevada carga orgánica y salinidad. Sin embargo, su efectividad depende de la capacidad de adaptación, compatibilidad ecológica y persistencia de las cepas incorporadas dentro de la comunidad microbiana del sistema de cultivo, factores determinantes para garantizar una actividad metabólica sostenida y una remoción eficiente de contaminantes (Patil et al., 2021; Anh et al., 2021; Gogoi et al., 2021).

2.6.3. Proceso simultáneo de bioestimulación y bioaumentación

El enfoque integrado combina la bioestimulación (mediante ajustes de la relación carbono y nitrógeno, oxígeno disuelto, pH, salinidad y el uso de portadores para el desarrollo de biopelículas) con la bioaumentación, a través de consorcios de bacterias oxidantes de amonio (AOB/AOA), bacterias oxidantes de nitrito (NOB), bacterias desnitrificantes (DNB) y microorganismos heterótrofos de alta eficiencia. Esta combinación genera sinergias que aceleran los procesos de nitrificación, desnitrificación y mineralización de la materia orgánica. En sistemas de estanques recirculados con bacterias, microalgas y soportes microbianos, la reducción simultánea de TAN, NO_2^- y TN, junto con el incremento de los genes funcionales *amoA* y *nirK*, evidencia cómo la bioestimulación mantiene condiciones ambientales óptimas, mientras que la bioaumentación aporta la capacidad biológica necesaria para intensificar la transformación del nitrógeno (Wang et al., 2022).

A escala de lodos granulares microalga y bacteria, la combinación se traduce en remociones elevadas de carbono, nitrógeno y resiliencia frente a estresores (antibióticos), por la coexistencia de microhábitats con distintos potenciales redox dentro de los gránulos (Oliveira et al., 2023). En contextos salinos, integrar consorcios nitrificantes y desnitrificantes (bioaumentación) con soportes para biopelículas y ajuste de carbono y nitrógeno (bioestimulación) es una ruta complementaria para acelerar cinéticas y mantener estabilidad del proceso (Patil et al., 2021; Wang et al., 2022; Oliveira et al., 2023).

Pekkoh et al. (2022), evaluaron una estrategia integrada para el tratamiento de aguas residuales acuícolas mediante la adición conjunta de un consorcio de bacterias probióticas y un consorcio de microalgas, complementada con melaza y salvado de arroz como fuente de carbono y soporte para el crecimiento microbiano.

El sistema combina la inoculación de microorganismos (bioaumentación) con la optimización de las condiciones para el desarrollo de la comunidad microbiana mediante el suministro de carbono y materiales soporte, principios propios de la bioestimulación. Los resultados mostraron que esta estrategia produjo los bioflóculos más compactos (0,59 g/l), mayor eficiencia de sedimentación (71,91 %), partículas de mayor diámetro (4,25 mm) y mejoras en la remoción de NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} y materia orgánica, además de modificar favorablemente la estructura de la comunidad microbiana. Los autores concluyeron que la combinación de ambas estrategias mejora la eficiencia del tratamiento de efluentes acuícolas.

2.7. Metagenómica de comunidades bacterianas en sistemas acuícolas

La metagenómica basada en el gen del ARN ribosomal 16S se ha convertido en una herramienta clave para relacionar la composición de la comunidad microbiana con su funcionamiento durante los tratamientos biológicos. En la tecnología biofloc, se ha observado que este tipo de sistemas favorece la selección de microorganismos especializados en la degradación de materia orgánica y nutrientes, además de reorganizar la comunidad microbiana hacia grupos con funciones específicas, como *Bacillus*, *Ruegeria*, *Flavobacterium* y *Paracoccus*. Este cambio en la estructura microbiana se asocia con mejoras en los indicadores de calidad del agua (Panigrahi et al., 2021). En estanques con bacterias más microalgas, la expansión de *amoA* y *nirK* confirma una respuesta funcional del consorcio a la bioestimulación, alineada con la reducción de $\text{TAN}/\text{NO}_2^-/\text{TN}$ observada (Wang et al., 2022).

En consorcios de microalgas y bacterias, se han observado cambios estructurales ante choques de florfenicol, incluyendo la proliferación de *Muricauda*, *Filomicrobium* y familias Rhizobiaceae y Parvularculaceae, mientras se mantiene la remoción de NH_4^+ , evidenciando resiliencia mediante redundancia funcional y reconfiguración adaptativa de la comunidad (Oliveira et al., 2023). En conjunto, la metagenómica permite optimizar las condiciones de operación del sistema, como la relación carbono y nitrógeno, la aireación y la disponibilidad de soportes microbianos, así como realizar el seguimiento de cambios en la estructura y actividad funcional de las comunidades microbianas mediante indicadores moleculares de desempeño (Panigrahi et al., 2021; Wang et al., 2022; Oliveira et al., 2023).

2.8. Impactos y estrategias de biorremediación en efluentes de *Penaeus vannamei*

Los efluentes provenientes de sistemas de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* contienen concentraciones variables de sólidos suspendidos totales (SST), nitrógeno amoniacal total (TAN), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-), fósforo disuelto y demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), derivados principalmente del alimento no consumido, excretas y procesos de degradación de la materia orgánica. La descarga continua de estos compuestos sin tratamiento adecuado puede alterar la calidad fisicoquímica de los cuerpos receptores, favoreciendo el enriquecimiento de nutrientes, procesos de eutrofización, disminución del oxígeno disuelto y modificaciones en los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y fósforo (Anh et al., 2021; Lananan et al., 2014).

En ecosistemas costeros del norte del Perú, se han reportado procesos asociados a la acumulación de sedimentos en canales de marea y modificaciones en la dinámica microbiológica de áreas de manglar influenciadas por descargas acuícolas, incluyendo la presencia de microorganismos con perfiles de resistencia a antimicrobianos. Estos antecedentes evidencian la necesidad de implementar estrategias biotecnológicas adaptadas a las condiciones locales, orientadas a la reducción de cargas contaminantes y al manejo sostenible de los vertimientos acuícolas (Autoridad Nacional del Agua, 2024; Gonzales Gómez, 2025).

Como estrategias de mitigación, la literatura regional reporta la aplicación de filtros biológicos, consorcios microalga–bacteria y organismos filtradores como alternativas eficientes para el tratamiento de efluentes acuícolas. En este contexto, los bivalvos, como *Chione fluctifraga*, han demostrado capacidad biorremediadora mediante la remoción de sólidos suspendidos y la mejora de indicadores asociados a la calidad del agua (Martínez-Córdova et al., 2011). Asimismo, en Ecuador, la aplicación de consorcios microbianos autóctonos asociados con microalgas nativas permitió reducir las concentraciones de fosfatos, nitrógeno inorgánico y coliformes, evidenciándose un mayor aporte del componente algal en la depuración del sistema (Navarrete Álava et al., 2022).

En ambientes marinos costeros, la bioaumentación mediante consorcios nitrificantes y desnitrificantes conformados por microorganismos oxidantes de amonio (AOB/AOA), oxidantes de nitrito (NOB) y desnitrificantes (DNB) ha demostrado eficiencias significativas en sistemas de cultivo, alcanzando reducciones de nitrógeno amoniacal total entre 47 % y 90 %, además de una adecuada adaptación a condiciones variables de salinidad. De manera complementaria, microorganismos halófilos moderados han logrado remociones de nitrógeno total entre 80 % y 85 % y de demanda química de oxígeno cercanas al 92 % en periodos de nueve días, evidenciando el potencial de los consorcios microbianos adaptados para la biorremediación de efluentes acuícolas bajo condiciones reales de operación (Patil et al., 2021; Anh et al., 2021).

Por lo tanto, la combinación de estrategias de bioestimulación y bioaumentación, complementada con la utilización de sustratos, constituye una alternativa eficaz para cumplir con los estándares de calidad del agua, favorecer su recirculación y reducir los riesgos ambientales y sanitarios asociados al cultivo de *Penaeus vannamei*. (Wang et al., 2022; Oliveira et al., 2023; Patil et al., 2021).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y periodo de ejecución de la investigación

La presente investigación, se ejecutó en el taller de Recursos Acuáticos II, de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes, ubicada en la localidad de Villa Puerto Pizarro, distrito y provincia de la región Tumbes, a 0567428 E y 9612561 N, zona geográfica 17. En estas instalaciones se acondicionó el sistema experimental, el cual estuvo conformado por botellas plásticas de 20 litros de capacidad que contenían el efluente proveniente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* (Figura1).

El periodo de experimentación comprendió del 10 al 21 de junio de 2025. Los análisis metagenómicos se realizaron aproximadamente cuatro meses después de finalizado el experimento, llevándose a cabo en condiciones controladas de laboratorio para garantizar la integridad de las muestras y la reproducibilidad de los resultados.

Figura 1

*Unidades experimentales constituidas por botellas plásticas de 20 litros que contenían efluente procedente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei**



3.2. Tipo y diseño de investigación

La investigación fue de tipo aplicada, orientada a evaluar alternativas tecnológicas para reducir el impacto ambiental generado por los efluentes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* mediante estrategias de bioestimulación y bioaumentación.

El enfoque fue cuantitativo y de nivel explicativo, ya que se buscó determinar la relación causal entre los tratamientos biológicos (variables independientes) y la eficiencia de remoción de contaminantes (variable dependiente).

El estudio fue experimental, dado que se manipularon deliberadamente las variables independientes: bioestimulación (BE), bioaumentación (BA) y la aplicación simultánea de ambos (PS). Se incluyó un tratamiento control (Ctrl) sin intervención, que sirvió como referencia para comparar y cuantificar los efectos de los tratamientos aplicados.

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, totalizando doce unidades experimentales. La asignación aleatoria de los tratamientos garantizó la validez interna del experimento.

Las evaluaciones se realizaron en cuatro momentos experimentales: día 0 (correspondiente a la caracterización inicial del efluente), día 3, día 7 y día 10, con la finalidad de analizar la variación temporal de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos evaluados, así como determinar la eficiencia de remoción de los contaminantes en cada tratamiento.

3.3. Población, muestra y muestreo

3.3.1. Población

La población estuvo constituida por el efluente líquido no tratado proveniente de los estanques de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* de un centro de producción acuícola ubicado en el distrito de Zorritos, provincia Contralmirante Villar, región Tumbes.

El efluente presentó características típicas de sistemas intensivos, como sólidos suspendidos, alta carga orgánica y concentraciones elevadas de compuestos nitrogenados y fosforados, representando la carga contaminante inicial del sistema.

3.3.2. Muestra y muestreo del efluente

La muestra estuvo representada por 240 litros de efluente líquido no tratado, que se distribuyeron en doce bidones plásticos de 20 litros, los cuales constituyeron las unidades experimentales de la investigación. Se recolectó inmediatamente después de la salida de los estanques, antes de su ingreso a la poza de sedimentación, asegurando que reflejara las condiciones reales de descarga del sistema de producción.

La recolección inicial se realizó mediante baldes de 20 litros, depositando el efluente acumulado en un tanque de 500 litros de capacidad y se trasladó al Taller de Recursos Acuáticos II, se homogenizó mediante agitación manual y se distribuyó en las unidades experimentales.

3.4. Descripción y aplicación de los tratamientos experimentales

3.4.1. Preparación y aplicación del bioestimulante

Se utilizó un bioestimulante orgánico comercial con el objetivo de estimular la actividad metabólica de la microbiota nativa presente en el efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*. Este producto está formulado con una matriz de nutrientes orgánicos (ácidos orgánicos, proteínas hidrolizadas, aminoácidos, péptidos, vitaminas y enzimas) e inorgánicos (nitrógeno, potasio, cobalto y níquel), diseñados para favorecer la degradación de la materia orgánica y disminuir la concentración de amonio, nitritos y sulfuros en el medio.

Para la preparación de la solución madre, se mezclaron 0,25 litros de bioestimulante con 2,50 litros de melaza, utilizada como fuente adicional de carbono, y 62 litros de agua dulce. Posteriormente, la mezcla fue sometida a aireación constante hasta el momento de su aplicación.

Cada unidad experimental fue dosificada con 10,40 ml de la solución madre de bioestimulante, lo que permitió alcanzar una concentración final de 2 mg/l de bioestimulante en el medio de tratamiento.

3.4.2. Aplicación del bioaumentador

Se empleó un bioaumentador orgánico comercial constituido por un consorcio de cepas bacterianas certificadas, que incluyó a *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* y *Pediococcus pentosaceus*, con la finalidad de

incrementar la densidad poblacional de microorganismos con capacidad para degradar la materia orgánica y reducir el exceso de nutrientes presentes en el efluente.

Se pesaron 0,06 g de bioaumentador utilizando una balanza analítica y se agregaron directamente a cada unidad experimental. La dosificación aplicada se calculó para obtener una concentración final de 3 mg/l en cada unidad experimental, sin requerir activación previa del producto, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

3.4.3. Aplicación simultánea

La estrategia de aplicación simultánea consistió en la incorporación conjunta del bioestimulante y el bioaumentador en cada unidad experimental, utilizando los productos preparados y descritos en el ítem 3.4.1. y 3.4.2.

Para ello, cada unidad experimental recibió 10,40 ml de la solución madre de bioestimulante, alcanzando una concentración final de 2 mg/l, y 0,06 g de bioaumentador, logrando una concentración final de 3 mg/l.

Esta combinación buscó promover de manera sinérgica la degradación de la materia orgánica y la reducción de nutrientes en el efluente, aprovechando la estimulación de la microbiota nativa por el bioestimulante y la introducción de microorganismos exógenos con capacidades metabólicas específicas mediante el bioaumentador.

3.4.4. Condiciones experimentales

Durante el período de investigación, todas las unidades experimentales fueron mantenidas bajo condiciones controladas y similares, asegurando que las diferencias observadas en la eficiencia de remoción se debieran exclusivamente a los tratamientos aplicados. Los bidones se mantuvieron con aireación constante para favorecer la actividad metabólica microbiana y evitar condiciones anóxicas, permaneciendo a temperatura ambiente durante los diez días del experimento.

La parte superior de los recipientes fue cubierta con papel aluminio para minimizar la incidencia lumínica y prevenir la contaminación externa. No se utilizó luz artificial directa sobre las unidades experimentales; durante el día se contó únicamente con iluminación natural, y durante la noche se dispuso de la iluminación artificial general

del taller, sin incidir directamente sobre los bidones. No se realizó recambio de agua, manteniendo un sistema cerrado, lo que permitió evaluar exclusivamente el efecto de los tratamientos.

Estas condiciones se aplicaron de manera uniforme a todos los tratamientos, garantizando la validez comparativa del diseño experimental.

3.5. Procedimiento de muestreo y análisis para la determinación de la calidad del efluente

La toma de muestra se realizó en los días 0, 3, 7 y 10 del periodo experimental. Previamente a la recolección, los recipientes de muestreo fueron debidamente rotulados e identificados según tratamiento y fecha de evaluación. La toma de muestras se efectuó aplicando medidas de bioseguridad y procedimientos adecuados de manipulación, con la finalidad de evitar contaminación externa y preservar la integridad de las muestras para los análisis posteriores.

Para los análisis microbiológicos se utilizaron frascos estériles, mientras que los parámetros fisicoquímicos se recolectaron en botellas plásticas blancas de primer uso, de boca ancha y capacidad de 1l. Para la determinación de la DBO_5 se emplearon botellas ámbar, minimizando la exposición a la luz.

En cada unidad experimental se homogenizó manualmente el contenido del bidón para garantizar la representatividad de la muestra, extrayéndose un volumen de 1l por unidad.

Entre los parámetros físicos se determinó la concentración de sólidos suspendidos totales (SST). Los parámetros químicos evaluados fueron amoníaco (NH_3), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-), fosfatos (PO_4^{3-}), sulfuros (S^{2-}) y demanda bioquímica de oxígeno a cinco días (DBO_5). Como indicador microbiológico se analizaron los coliformes termotolerantes, con el fin de evaluar la calidad sanitaria del efluente.

Inmediatamente después de la toma, las muestras se colocaron en una caja de tecnopor con gel packs de hielo, manteniendo una temperatura de conservación aproximadamente 5°C , y fueron transportadas al laboratorio Agroacuanálisis S.R.L. en un tiempo menor a 1 hora. No se utilizaron preservantes químicos y los análisis se realizaron inmediatamente al arribo de las muestras, aplicando métodos analíticos estandarizados conforme al *Standard Methods for the Examination of*

Water and Wastewater (APHA-AWWA-WEF, 23rd edition) y procedimientos colorimétricos certificados (Palintest).

Adicionalmente, la temperatura y el oxígeno disuelto se registraron diariamente in situ mediante un medidor YSI Pro20 previamente calibrado, el pH se determinó con un equipo YSI pH10 y la salinidad se midió los días 0, 3, 7 y 10 mediante refractómetro. Los resultados fueron sistematizados en un registro estandarizado, asegurando la trazabilidad y facilitando el análisis de la evolución de los parámetros en cada tratamiento.

3.6. Procedimiento para el análisis metagenómico de la comunidad microbiana

3.6.1. Toma y procesamiento de muestras para análisis metagenómico

Para caracterizar la composición de la comunidad microbiana mediante secuenciación de la región V3–V4 del gen ribosomal 16S (rRNA), se recolectaron muestras del efluente en dos momentos del experimento: al inicio (día 0) y al final del periodo experimental (día 10).

La muestra inicial correspondió al efluente sin tratamiento, recolectado directamente del centro de producción de *Penaeus vannamei*, con el propósito de caracterizar la comunidad microbiana presente antes de la aplicación de las estrategias de biorremediación. La muestra fue transportada inmediatamente al laboratorio en condiciones de refrigeración (5 °C) para preservar la integridad de la biomasa microbiana.

Al finalizar el experimento (día 10), se recolectó una muestra compuesta de cada tratamiento experimental (control, bioestimulación, bioaugmentación y proceso simultáneo), la cual, se obtuvo mezclando volúmenes iguales de las tres unidades experimentales correspondientes a cada tratamiento, con el objetivo de obtener una muestra representativa de la comunidad microbiana desarrollada bajo cada condición experimental. Posteriormente, las muestras se conservaron en refrigeración (5°C) y fueron transportadas de inmediato al laboratorio para su procesamiento metagenómico.

De cada muestra se tomaron 50 ml, los cuales fueron sometidos a un proceso de filtración utilizando filtros de nitrocelulosa hidrofílicos Millipore™ de 0,22 µm de poro y 47 mm de diámetro, con el propósito de concentrar la biomasa microbiana

presente en el efluente. Los filtros obtenidos fueron plegados con material estéril, depositados en tubos Eppendorf que contenían alcohol absoluto como preservante y almacenados a -20°C hasta la extracción del ADN.

3.6.2. Extracción y evaluación del ácido desoxirribonucleico (ADN) metagenómico

La extracción del ADN se realizó utilizando el kit comercial ZymoBIOMICS DNA Miniprep (Zymo Research, CA, USA), siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante.

El ADN obtenido fue eluido en 50 μl de *buffer* de elución y cuantificado mediante espectrofotometría con un Epoch Spectrophotometer (BioTek, EE. UU.). La pureza se evaluó mediante las relaciones de absorbancia $A_{260/280}$ y $A_{260/230}$. La integridad del ADN se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % utilizando buffer TAE 1x.

3.6.3. Preparación de bibliotecas y secuenciación del gen 16S rRNA

El ADN extraído de las muestras de agua fue enviado a la empresa Novogene (Sacramento, CA, EE. UU.) para la construcción de bibliotecas y su posterior secuenciación. Previamente, el ADN fue sometido a ensayos de PCR para confirmar la presencia de bacterias mediante la amplificación del gen 16S rRNA.

En el primer paso de PCR, se amplificó la región hipervariable V_3-V_4 del gen 16S rRNA utilizando los *primers* modificados Bakt_341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) y Bakt_805R (GGACTACNNGGGTATCTAAT) (Sinclair et al., 2015), a los cuales se les añadieron adaptadores de secuenciación compatibles con la tecnología Illumina (*overhang adapter sequences*). Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis capilar en un Bioanalyzer (Agilent, Alemania) y se purificaron con perlas AMPure XP (Beckman Coulter).

En el segundo paso de PCR, se incorporaron los códigos de barra (*barcodes*) para identificar cada muestra, siguiendo el protocolo 16S de Illumina. Las bibliotecas generadas se evaluaron nuevamente en el Bioanalyzer y se cuantificaron mediante fluorometría con el Qubit (Thermo Scientific) utilizando el kit Qubit® dsDNA High Sensitivity Assay (Life Technologies, EE. UU.). Posteriormente, se calculó la concentración nanomolar (nM) de cada biblioteca y se ajustó a la concentración de

trabajo adecuada. Se incluyó además un control de secuenciación conocido como PhiX.

La secuenciación se realizó en la plataforma NovaSeq 6000 de Illumina (San Diego, CA, EE. UU.) en formato *paired-end*, generando lecturas de 2 × 250 pares de bases (bp).

3.7. Procesamiento y análisis de datos experimentales

3.7.1. Cálculo de la eficiencia de remoción (ER)

La eficiencia de remoción (ER) de los contaminantes en los tratamientos de bioestimulación, bioaumentación, proceso simultáneo y el control se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$ER = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100$$

Donde:

ER = Eficiencia de remoción (%)

Co = Concentración del contaminante en el efluente antes del tratamiento

Cf = Concentración del contaminante en el efluente (después del tratamiento)

Esta estimación permitió cuantificar el efecto de cada tratamiento sobre la reducción de contaminantes físicos, químicos y microbiológicos durante el periodo experimental.

3.7.2. Procesamiento y análisis estadísticos de datos

Los datos obtenidos en las unidades experimentales fueron procesados y sistematizados mediante el software IBM SPSS Statistics versión 25. Se calcularon estadísticos descriptivos, incluyendo media, desviación estándar y coeficiente de variación, los cuales se muestran en los anexos de la investigación.

Para las variables físicas y químicas, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, considerando como factores el tratamiento (bioestimulación, bioaumentación, proceso simultáneo y control) y el tiempo de evaluación (0, 3, 7 y

10 días), así como su interacción tratamiento por tiempo. Cuando se detectaron diferencias significativas ($\alpha = 0,05$), se aplicó la prueba post hoc de Tukey (HSD) para la comparación de medias.

La verificación de los supuestos del ANOVA, incluyendo la homogeneidad de varianzas, se realizó exclusivamente para las variables físicas y químicas consideradas en el análisis inferencial.

3.7.3. Análisis bioinformático de metagenómica

Para el análisis metagenómico, la calidad de las secuencias se evaluó mediante FastQC y se procesó con Trimmomatic para eliminar adaptadores y secuencias de baja calidad. Posteriormente, los datos fueron analizados utilizando el flujo de trabajo de QIIME2, que permitió el filtrado de calidad, la inferencia de variantes de secuencia (ASVs) y la asignación taxonómica empleando la base de datos SILVA v138.

Se realizaron análisis filogenéticos y de diversidad alfa y beta dentro del mismo entorno. La diversidad beta se estimó mediante la métrica UniFrac en sus versiones ponderada y no ponderada, evaluando diferencias cualitativas y cuantitativas en la estructura de la comunidad microbiana entre tratamientos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Línea base de la calidad del agua del cuerpo receptor

Para caracterizar la calidad del agua del cuerpo receptor marino asociado al vertimiento del efluente generado por el cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, ubicado en las coordenadas 03°45'33,91" S y 80°47'41,83" W, se recopilaron y analizaron los resultados de los monitoreos ambientales semestrales correspondientes al segundo semestre del año 2023 y a los dos semestres de los años 2024 y 2025, reportados en los informes oficiales de monitoreo ambiental proporcionados por el centro de producción acuícola. Esta información permitió establecer la línea base ambiental de la calidad del agua del cuerpo receptor, considerando la variación temporal de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos evaluados durante el periodo de estudio.

Los parámetros evaluados en la línea base correspondieron a los establecidos en el Instrumento de Gestión Ambiental (IGA) del centro de cultivo, clasificado en la Categoría II, Subcategoría 2, conforme al Decreto Supremo N°004-2017-MINAM. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

Concentraciones de compuestos químicos inorgánicos en el cuerpo marino receptor

Parámetros	L.D.	L.C.	II-2023	I-2024	II-2024	I-2025	II-2025
Amoniaco (mg NH ₃ /l)	0,24		<0,24	<0,24	<0,24	<0,24	<0,24
Amonio (mg NH ₄ ⁺ /l)	0,26		<0,26	<0,26	<0,26	<0,26	<0,26
Fósforo total (mg/l)		0,01	0,054	0,041	0,032	0,01	<0,010
Nitratos (mg/l)		0,221	1,50	3,37	1,60	5,42	9,14
Sulfuros (mg/l)		0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002

Fuente: Elaboración propia a partir de los informes oficiales de los monitoreos ambientales semestrales del Centro de Producción Acuícola.

El análisis de los compuestos nitrogenados inorgánicos evidenció que las concentraciones de amonio y amoníaco se mantuvieron por debajo del límite de detección del procedimiento analítico durante todo el período de monitoreo ($< 0,26$ mg/l y $< 0,24$ mg/l, respectivamente). Por tanto, la interpretación de los resultados se basó en dichos valores, lo que indica que el cuerpo receptor no presentó concentraciones detectables de nitrógeno amoniacal en niveles potencialmente críticos durante el período de evaluación. Esta condición sugiere un bajo riesgo de toxicidad asociado al amoníaco no ionizado (NH_3), resultado consistente con condiciones ambientales favorables para la supervivencia de organismos acuáticos, incluidos los crustáceos (López et al., 2022).

El fósforo total presentó concentraciones bajas durante todo el período de monitoreo ($0,054$ a $< 0,010$ mg/l), evidenciando una tendencia general decreciente a lo largo del tiempo. Estas fluctuaciones pueden estar asociadas a la dinámica de mareas, que influye en el intercambio y la dilución de nutrientes en ambientes marinos costeros. Aunque los valores registrados son relativamente bajos, el fósforo constituye un nutriente clave que, al acumularse, puede favorecer procesos de eutrofización, estimulando el crecimiento del fitoplancton y reduciendo el oxígeno disuelto durante la degradación de la materia orgánica (Thakur et al., 2023; Jiang et al., 2025).

Los nitratos presentaron un incremento progresivo durante el período de monitoreo, con valores que oscilaron entre $1,50$ y $9,14$ mg/l, evidenciando una tendencia creciente a lo largo del tiempo. Este comportamiento sugiere una acumulación progresiva de formas oxidadas de nitrógeno en el cuerpo receptor.

El incremento de nitratos podría estar asociado a procesos naturales del ciclo del nitrógeno, como la nitrificación de compuestos amoniacales y la descomposición de materia orgánica, así como a aportes derivados de la actividad acuícola.

Desde el punto de vista ambiental, los nitratos, junto con el fósforo, son nutrientes clave en los procesos de eutrofización, pudiendo incrementar la productividad primaria y afectar la disponibilidad de oxígeno disuelto (García et al., 2021).

Los sulfuros se mantuvieron por debajo del límite de cuantificación del método analítico durante todo el período de monitoreo ($< 0,002 \text{ mg/l}$), lo que indica la ausencia de concentraciones cuantificables de este compuesto en la columna de agua del cuerpo receptor.

La ausencia de sulfuros detectables sugiere condiciones ambientales que no favorecen procesos de reducción anaeróbica en la columna de agua, como la formación de sulfuro de hidrógeno (H_2S), el cual se asocia comúnmente a ambientes con baja disponibilidad de oxígeno y elevada carga orgánica. Este comportamiento refleja un estado ambiental relativamente estable, con mínima presencia de compuestos potencialmente tóxicos para la biota acuática, incluyendo crustáceos y peces, lo que permite establecer una línea base confiable para futuras evaluaciones de descargas de efluentes (Fernández et al., 2023; Anh et al., 2021).

En términos de impactos ambientales potenciales, la descarga de efluentes provenientes de cultivos intensivos de *Penaeus vannamei* sin un tratamiento previo orientado a la reducción de nutrientes, materia orgánica y sólidos suspendidos puede comprometer la calidad del cuerpo receptor, generando posibles alteraciones en sus características fisicoquímicas y biológicas. Estas alteraciones pueden favorecer procesos como la eutrofización, la hipoxia, la colmatación y la acumulación de sedimentos finos, afectando la dinámica ecológica de ecosistemas sensibles como manglares y estuarios (Autoridad Nacional del Agua, 2024). Asimismo, la liberación de bacterias heterótrofas y coliformes termotolerantes asociada a estos efluentes puede incrementar los riesgos microbiológicos y emergentes para la fauna acuática y, potencialmente, para las poblaciones humanas que dependen de los servicios ecosistémicos del cuerpo receptor (Gonzales Gómez, 2025).

4.2. Caracterización inicial del efluente de cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*

Para establecer la línea base del efluente proveniente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, se recolectaron muestras de las unidades experimentales que contenían el efluente previo a la aplicación de los tratamientos de biorremediación. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos asociados a la calidad del agua, tales como sólidos suspendidos totales (SST), amoníaco (NH_3), nitrito (NO_2^-), nitrato

(NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}), sulfuros (S^{2-}) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5). Asimismo, se determinó la calidad microbiológica del efluente mediante la cuantificación de coliformes termotolerantes, empleados como indicadores de contaminación microbiológica de origen fecal y como parámetro de evaluación de la eficiencia de los tratamientos aplicados para la reducción de la carga microbiana del sistema. La caracterización inicial permitió establecer las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas de referencia del efluente previo a la aplicación de los tratamientos, constituyendo la línea base para evaluar la eficiencia de los procesos de bioestimulación y bioaumentación durante el periodo experimental

4.2.1. Condiciones fisicoquímicas iniciales del efluente

La caracterización inicial del efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* presentó valores elevados de sólidos suspendidos totales ($1\,409 \pm 15$ mg/l), amoníaco ($8,27 \pm 0,06$ mg/l) y fosfatos ($10,83 \pm 0,33$ mg/l), así como también la demanda bioquímica de oxígeno ($114,36 \pm 0,39$ mg/l), mientras que los nitritos ($0,002$ mg/l) y sulfuros ($0,03$ mg/l) se mantuvieron con niveles bajos, y el nitrato se encontró por debajo del límite de detección ($< 0,001$). Estos resultados se resumen en la Tabla 2, y son consistentes con lo reportado por Anh et al. (2021) y Gogoi et al. (2021), quienes describen que los efluentes de sistemas intensivos de *P. vannamei* se caracterizan por altas cargas de sólidos suspendidos totales, nutrientes nitrogenados y fósforo provenientes del alimento no consumido, las excretas de los organismos y la actividad microbiana del sistema de cultivo. Sin embargo, los valores de fosfatos obtenidos en este estudio superan los rangos típicos reportados en la literatura ($0,5 - 5$ mg/l), lo que resalta la necesidad de buscar estrategias que favorezcan la asimilación microbiana de fósforo (Panigrahi et al., 2021).

En el efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*, los compuestos nitrogenados, especialmente el amoníaco y el nitrito, representan un factor crítico para la efectividad de los tratamientos de bioestimulación y bioaumentación, debido a su toxicidad directa sobre crustáceos y peces (Patil et al., 2021; Pekkoh et al., 2022). La baja concentración de nitratos observada indica que la nitrificación en el efluente inicial es parcial, lo que coincide con lo reportado en sistemas hipersalinos, donde la actividad microbiana es limitada (Patil et al., 2021).

Los niveles de fosfatos y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) observados en el efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* presentan implicaciones relevantes para los procesos de biorremediación. Las concentraciones elevadas asociadas a estos parámetros evidencian una mayor disponibilidad de nutrientes y materia orgánica biodegradable, condiciones que pueden favorecer el desarrollo y la actividad de comunidades microbianas capaces de degradar compuestos orgánicos durante los tratamientos biológicos. En este sentido, la materia orgánica biodegradable y los nutrientes presentes en el efluente pueden actuar como sustratos que estimulan la actividad microbiana, contribuyendo a la transformación y reducción progresiva de la carga orgánica durante los procesos de biorremediación (Anh et al., 2021; Panigrahi et al., 2021).

Por otro lado, las bajas concentraciones de sulfuros registradas en el efluente inicial sugieren que los procesos asociados a la reducción de sulfato y la acumulación de compuestos sulfurados reducidos no constituían una ruta biogeoquímica dominante antes de la aplicación de los tratamientos experimentales. Aunque los valores iniciales de oxígeno disuelto (0,21 - 0,25 mg/l) evidenciaron condiciones de hipoxia severa, estas no se asociaron con una acumulación significativa de sulfuros, indicando que la formación de estos compuestos se encontraba limitada por la interacción de diversos factores ambientales, como la disponibilidad de materia orgánica biodegradable, sulfatos y la presencia de comunidades microbianas sulfato-reductoras activas. En este contexto, la concentración de sulfuros no depende únicamente de la disponibilidad de oxígeno, sino también de la disponibilidad de sustratos y de las condiciones fisicoquímicas que regulan la actividad metabólica microbiana. Este comportamiento coincide con lo reportado por Anh et al. (2021), quienes señalan que la producción de sulfuros está condicionada por la presencia de materia orgánica biodegradable, sulfatos y el desarrollo de comunidades bacterianas capaces de realizar procesos de reducción de sulfato.

Posteriormente, como parte del diseño experimental, se aplicó aireación mecánica al sistema de tratamiento, lo que permitió incrementar la disponibilidad de oxígeno disuelto y modificar las condiciones iniciales de baja oxigenación del efluente. Este suministro adicional de oxígeno favoreció un ambiente más oxidante, limitando potencialmente la acumulación de compuestos sulfurados reducidos y promoviendo

el predominio de procesos metabólicos aeróbicos relacionados con la oxidación y transformación de la materia orgánica. De esta manera, la aireación mecánica actuó como un factor de acondicionamiento ambiental que favoreció la actividad de microorganismos aerobios y complementó los procesos de biorremediación evaluados mediante las estrategias de bioestimulación y bioaumentación.

Tabla 2

*Caracterización inicial del efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei**

Parámetro	Promedio $\pm$ DE (mg/l)
Sólidos suspendidos totales (SST)	1 409 $\pm$ 15
Amoniaco (NH_3)	8,27 $\pm$ 0,06
Nitrito (NO_2^-)	0,002 $\pm$ 0,000
Nitrato (NO_3^-)	< 0,001
Fosfato (PO_4^{3-})	10,83 $\pm$ 0,33
Sulfuros (S^{2-})	0,03 $\pm$ 0,00
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5)	114,36 $\pm$ 0,39

Nota. Los valores corresponden a la media $\pm$ desviación estándar de 12 unidades experimentales (n = 12) analizadas en el día 0 previo a la aplicación de los tratamientos.

4.2.2. Condiciones microbiológicas iniciales del efluente

La concentración de coliformes termotolerantes en el efluente fue de 2 300 NMP/100 ml, lo que indica un nivel moderado a alto de contaminación microbiológica. Estos microorganismos son indicadores de contaminación fecal y de la posible presencia de patógenos entéricos en ambientes acuáticos (Raña et al., 2016). Este valor se encuentra dentro del rango reportado en sistemas acuícolas tropicales, donde las altas temperaturas y la disponibilidad de materia orgánica favorecen el crecimiento bacteriano. Por ejemplo, en efluentes acuícolas de la Bahía de Manila se reportaron concentraciones promedio de 2 808 NMP/100 ml en temporada de lluvias y 1 223 NMP/100 ml en temporada seca (Raña et al., 2016).

En sistemas de cultivo intensivo, estas concentraciones suelen estar asociadas a la acumulación de materia orgánica proveniente del alimento no consumido, las

heces y la descomposición del plancton, lo que incrementa la disponibilidad de nutrientes y estimula el crecimiento bacteriano en el agua y los sedimentos (Ferreira et al., 2011). En este contexto, la concentración inicial de coliformes fecales observada es consistente con las condiciones características de los efluentes generados en sistemas acuícolas intensivos.

4.3. Evolución de las condiciones ambientales durante el experimento

Durante el desarrollo del experimento se monitorearon la temperatura, el oxígeno disuelto, el pH y la salinidad, debido a que estos parámetros físicoquímicos regulan la actividad metabólica de las comunidades microbianas y la dinámica de los procesos biogeoquímicos que ocurren en el efluente. En los sistemas de cultivo acuícola, estas condiciones ambientales desempeñan un papel fundamental en la eficiencia de los tratamientos biológicos, ya que influyen en el crecimiento y la actividad de los microorganismos, así como en la degradación de la materia orgánica y en las transformaciones biológicas de los compuestos nitrogenados, procesos esenciales para la remoción de contaminantes y la mejora de la calidad del agua (Boyd, 2015; Crab et al., 2012).

4.3.1. Temperatura

La temperatura no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$) y se mantuvo relativamente estable durante todo el ensayo, con ligeras variaciones entre los días de muestreo (Tabla 3). El proceso simultáneo presentó la menor variación, con valores entre 29,53 °C y 29,20 °C.

En el proceso de biorremediación, la temperatura es un factor determinante para la actividad metabólica de los microorganismos involucrados, influye en las tasas de reacción bioquímica y en la cinética de degradación de compuestos orgánicos y nitrogenados (Vinatea, 2006). En sistemas acuícolas de *Penaeus vannamei*, se ha reportado que temperaturas entre 24 y 30 °C favorecen el crecimiento microbiano y el balance del biofloc, mientras que incrementos sobre 30 °C tienden a aumentar concentraciones de amonio y disminuir el oxígeno disuelto, limitando la eficiencia de procesos biológicos (Souza et al., citado en Rapiz et al., 2019). En este estudio, la variable de temperatura no fue un factor limitante para la actividad microbiana a lo largo del experimento, permitiendo que las variaciones en los procesos de bioestimulación y bioaugmentación y el proceso simultáneo respondieran

principalmente a las intervenciones experimentales y no a fluctuaciones ambientales no controladas.

Tabla 3

Temperatura (°C) durante el ensayo

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	29,45 ± 0,05 ^a	29,48 ± 0,10 ^a	29,63 ± 0,15 ^a	29,53 ± 0,15 ^a
3	31,47 ± 0,29 ^a	31,33 ± 0,31 ^a	31,37 ± 0,06 ^a	31,27 ± 0,46 ^a
7	29,33 ± 1,07 ^a	29,30 ± 0,17 ^a	30,03 ± 0,93 ^a	29,73 ± 0,38 ^a
10	29,83 ± 1,00 ^a	29,27 ± 0,25 ^a	29,07 ± 0,25 ^a	29,20 ± 0,46 ^a

4.3.2. Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos y se mantuvo relativamente estable durante el ensayo. Sin embargo, se observó un incremento entre el día 0 y el día 3, seguido de valores relativamente estables hasta el final del experimento.

En el día 0, todos los tratamientos presentaron valores muy bajos (0,21 – 0,25 mg/l), lo que refleja las condiciones iniciales del efluente proveniente del sistema de cultivo intensivo, caracterizado por una elevada carga orgánica y un alto consumo de oxígeno, generando hipoxia severa. A partir del día 3, el oxígeno disuelto aumentó hasta valores entre 3,37 y 3,71 mg/l, asociado al inicio de la aireación mecánica y a una mayor disponibilidad de oxígeno en el sistema, lo que permitió condiciones más favorables para los procesos aeróbicos de biorremediación.

Desde el día 7 hasta el final del ensayo, los valores se mantuvieron relativamente constantes, con ligeras oscilaciones entre 2,74 y 3,71 mg/l. Esto sugiere un equilibrio entre el consumo de oxígeno por la actividad microbiana y su reposición mediante la aireación. El valor mínimo se registró en BA (2,74 mg/l) el día 7,

mientras que el máximo se observó en BE (3,71 mg/l) en los días 3 y 7. En conjunto, estos niveles se ubicaron próximos al límite inferior reportado para sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei* en Filipinas (3,5 – 6,4 mg/l) (Rapiz et al., 2025).

La disponibilidad de oxígeno es clave en la biorremediación aeróbica, ya que los microorganismos lo utilizan para degradar materia orgánica y transformar compuestos nitrogenados como amoníaco y nitrito en formas menos tóxicas (Vinatea, 2006). Cuando su disponibilidad disminuye, la eficiencia microbiana puede verse limitada y pueden favorecerse procesos anaerobios no deseados. No obstante, estudios en sistemas intensivos de cultivo de *Penaeus vannamei* han reportado condiciones similares sin efectos negativos relevantes sobre la comunidad microbiana, siempre que exista una aireación adecuada y una adecuada actividad de biofloc (Rapiz et al., 2019). En ese sentido, los niveles registrados fueron suficientes para sostener procesos aeróbicos compatibles con una biorremediación eficiente bajo condiciones controladas.

Tabla 4
Oxígeno disuelto (mg/l) durante el ensayo

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	0,25 ± 0,05 ^a	0,21 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,02 ^a
3	3,57 ± 0,29 ^a	3,71 ± 0,66 ^a	3,37 ± 0,06 ^a	3,47 ± 0,15 ^a
7	3,18 ± 0,22 ^a	3,16 ± 0,20 ^a	2,74 ± 0,60 ^a	3,13 ± 0,45 ^a
10	3,61 ± 0,08 ^a	3,71 ± 0,32 ^a	3,36 ± 0,22 ^a	3,35 ± 0,32 ^a

4.3.3. Potencial de hidrógeno (pH)

La Tabla 5 muestra que el pH del efluente se mantuvo dentro del intervalo de 7,33 a 8,50 durante todo el periodo experimental, con una baja dispersión de los datos entre las repeticiones, lo que evidencia un comportamiento consistente del parámetro en los tratamientos evaluados.

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre tratamientos únicamente al tercer día de evaluación ($p < 0,05$). En este periodo, la bioestimulación registró el mayor valor promedio de pH ($8,47 \pm 0,03$), diferenciándose significativamente de los demás tratamientos. El proceso simultáneo ($8,39 \pm 0,02$) y la bioaumentación ($8,38 \pm 0,04$) conformaron un mismo grupo estadístico, sin diferencias significativas entre sí, mientras que el control presentó el menor valor promedio ($8,30 \pm 0,04$). Sin embargo, la diferencia máxima entre tratamientos fue de 0,17 unidades de pH, por lo que todos los valores permanecieron dentro de un intervalo estrecho de variación. Asimismo, la ausencia de diferencias significativas en los días 0, 7 y 10 ($p > 0,05$) indica que las estrategias de bioestimulación, bioaumentación y proceso simultáneo no modificaron de manera sostenida el pH del efluente durante el desarrollo del experimento.

El pH constituye un parámetro fundamental en los procesos de biorremediación, ya que regula la actividad enzimática de las comunidades microbianas y condiciona la disponibilidad y transformación de diversos compuestos químicos presentes en el agua. En particular, influye en el equilibrio entre el amonio (NH_4^+) y el amoníaco no ionizado (NH_3), además de intervenir en procesos como la nitrificación, la mineralización de la materia orgánica y otras rutas metabólicas aerobias (Vinatea, 2006). Los valores registrados en este estudio se mantuvieron dentro del rango recomendado para sistemas acuícolas marinos (Boyd et al., 2003), y coinciden con el intervalo de pH (7,5 - 8,5) señalado por Rapiz et al. (2019) como favorable para el desarrollo de bacterias heterótrofas y nitrificantes, favoreciendo la degradación de la materia orgánica y la transformación de compuestos nitrogenados.

Tabla 5

pH durante el ensayo

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	$7,33 \pm 0,02^a$	$7,33 \pm 0,01^a$	$7,33 \pm 0,03^a$	$7,33 \pm 0,01^a$
3	$8,30 \pm 0,04^a$	$8,47 \pm 0,03^c$	$8,38 \pm 0,04^b$	$8,39 \pm 0,02^b$
7	$8,11 \pm 0,12^a$	$8,21 \pm 0,28^a$	$8,50 \pm 0,20^a$	$8,32 \pm 0,40^a$
10	$8,28 \pm 0,03^a$	$8,20 \pm 0,05^a$	$8,18 \pm 0,04^a$	$8,25 \pm 0,07^a$

4.3.4. Salinidad

La salinidad se mantuvo constante en todos los tratamientos (35 g/l), lo que representa condiciones típicas para *Penaeus vannamei*. La salinidad influye en la presión osmótica, la estructura de comunidades microbianas y la eficiencia de degradación de compuestos en procesos de biorremediación, ya que variaciones fuera del rango óptimo pueden alterar la composición bacteriana y disminuir la actividad de microorganismos benéficos. Por ejemplo, estudios han demostrado que cambios significativos en la salinidad fuera del rango tolerable para los microorganismos pueden afectar el equilibrio entre bacterias oxidantes y reductoras. Esto repercute directamente en los procesos claves de biorremediación, como la nitrificación y la mineralización de la materia orgánica, disminuyendo la eficiencia de la degradación de compuestos nitrogenados y de la materia orgánica presente en el efluente (Deng et al., 2020; Vinatea, 2006). La constancia de la salinidad en este ensayo, por tanto, provee un ambiente estable, permitiendo que las transformaciones biológicas se desarrollaran bajo condiciones fisiológicas adecuadas y facilitando la comparación entre tratamientos sin interferencias de cambios osmóticos.

4.4. Variación temporal de los sólidos suspendidos totales (SST)

El seguimiento de los sólidos suspendidos totales durante el experimento permite evaluar la dinámica de la materia particulada presente en el efluente y su respuesta a los diferentes tratamientos aplicados.

Los SST presentaron una disminución progresiva en todos los tratamientos durante el periodo experimental (Tabla 6). Al inicio del ensayo y al tercer día no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$), aunque en esta última evaluación ya era evidente una tendencia descendente de las concentraciones. A partir del séptimo día se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$), las cuales se mantuvieron hasta el décimo día. En la evaluación final, el proceso simultáneo (PS) registró la menor concentración de SST ($160,67 \pm 25,01$ mg/l), diferenciándose significativamente de los demás tratamientos, mientras que la bioaumentación (BA) presentó el valor más alto ($358,67 \pm 24,19$ mg/l). La bioestimulación (BE) mostró un comportamiento intermedio, sin diferencias significativas respecto al control y a la bioaumentación. Estos resultados evidencian que la combinación de bioestimulación y bioaumentación favoreció una mayor

reducción de los sólidos suspendidos en comparación con la aplicación individual de ambas estrategias.

Tabla 6

Variación temporal de los sólidos suspendidos totales (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	1 418,33 ± 16,07 ^a	1 411,67 ± 12,58 ^a	1 405,00 ± 18,03 ^a	1 403,33 ± 20,82 ^a
3	1 309,33 ± 128,77 ^a	1 196,67 ± 15,28 ^a	1 053,33 ± 184,75 ^a	1 032,67 ± 101,79 ^a
7	382,67 ± 28,10 ^b	492,00 ± 27,71 ^c	369,33 ± 10,07 ^b	256,67 ± 24,68 ^a
10	277,33 ± 24,11 ^b	328,00 ± 22,27 ^{bc}	358,67 ± 24,19 ^c	160,67 ± 25,01 ^a

La concentración de SST es un indicador relevante de la carga orgánica y un parámetro clave para la caracterización de la calidad del agua, ya que refleja partículas en suspensión que pueden influir en procesos biológicos y químicos del sistema. Estas partículas pueden servir como sustrato para el crecimiento de microorganismos heterotróficos, pero, cuando se acumulan en exceso, pueden afectar la composición microbiana y la disponibilidad de oxígeno, comprometiendo la eficiencia de los procesos de tratamiento biológico (Soaudy et al., 2023).

Aunque todos los tratamientos redujeron la concentración de SST respecto a los valores iniciales, las concentraciones finales (160,67 - 358,67 mg/l) permanecieron por encima del límite de 100 mg/l recomendado por la Alliance Global Seafood para efluentes provenientes del cultivo de langostino, cuyo valor objetivo es 50 mg/l (Boyd, 2001). En consecuencia, si bien las estrategias evaluadas mejoraron la calidad del efluente, los resultados indican que sería necesaria la incorporación de etapas complementarias de tratamiento, como sedimentación o biofiltración, antes de la descarga al cuerpo receptor. Esta interpretación coincide con lo señalado por

Soaudy et al. (2023), quienes indican que los sistemas intensivos de cultivo tienden a acumular sólidos suspendidos, por lo que el tratamiento biológico suele complementarse con procesos físicos para alcanzar niveles compatibles con la disposición final.

La mayor reducción de SST obtenida en el tratamiento PS puede atribuirse al efecto complementario de la bioestimulación y la bioaumentación sobre los procesos de degradación de la materia orgánica particulada. Soaudy et al. (2023), señalan que, las bacterias heterótrofas degradan compuestos orgánicos complejos mediante la acción de enzimas extracelulares, favoreciendo la fragmentación de las partículas y facilitando posteriormente su sedimentación. Asimismo, estos autores destacan que la relación carbono y nitrógeno regula la actividad heterótrofa y, por tanto, la velocidad de descomposición de la materia orgánica. De manera complementaria, Dwiardani et al. (2021), demostraron que, bacterias nitrificantes como *Nitrosomonas* sp. y *Nitrobacter* sp. contribuyen indirectamente a la reducción de los sólidos suspendidos al transformar el amoníaco liberado durante la mineralización de la materia orgánica, optimizando el funcionamiento del sistema cuando se mantienen densidades bacterianas adecuadas.

La eficiencia de remoción alcanzada por el tratamiento PS (88,55 %) superó a la obtenida por los tratamientos individuales y fue superior al 50 % reportado para procesos convencionales de digestión aeróbica y anaeróbica descritos por Soaudy et al. (2023). Asimismo, excedió la reducción aproximada del 75 % informada por Luo et al. (2025), en sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei* que combinaron bacterias autótrofas y heterótrofas con polihidroxibutirato-co-valerato (PHBV) como fuente de carbono y soporte para biopelículas. Estas diferencias podrían estar asociadas con las condiciones experimentales, la composición de las comunidades microbianas empleadas, las características del efluente tratado y el tiempo de evaluación considerado en cada estudio. En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la aplicación simultánea de bioestimulación y bioaumentación incrementó la remoción de sólidos suspendidos; sin embargo, las concentraciones finales aún superaron los valores de referencia recomendados, lo que respalda la necesidad de integrar el tratamiento biológico con procesos físicos complementarios antes de la descarga del efluente.

4.5. Variación de los compuestos nitrogenados en el efluente

Los compuestos nitrogenados constituyen uno de los principales componentes asociados a la carga contaminante en efluentes de sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei*, ya que se originan principalmente a partir de la excreción metabólica de los organismos y de la descomposición microbiana del alimento no consumido y las heces. Durante estos procesos, el nitrógeno orgánico es transformado en diferentes formas inorgánicas, principalmente amoníaco, nitrito y nitrato, que participan activamente en el ciclo del nitrógeno dentro de los sistemas acuícolas (Shan et al., 2024; Wang et al., 2024).

4.5.1. Amoníaco (NH₃)

La concentración inicial de amoníaco presentó valores homogéneos entre los tratamientos, con un rango de 8,24 a 8,30 mg/l, sin diferencias significativas ($p > 0,05$), lo que confirma que las unidades experimentales iniciaron bajo condiciones similares (Tabla 7). Durante el periodo experimental se observó una disminución progresiva de este compuesto en todos los tratamientos, alcanzando al décimo día concentraciones entre 0,08 y 0,16 mg/l. Sin embargo, el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre tratamientos únicamente al finalizar el ensayo ($p < 0,05$). En esta evaluación, la bioaumentación presentó la mayor concentración residual de amoníaco ($0,16 \pm 0,01$ mg/l), diferenciándose significativamente del control ($0,08 \pm 0,01$ mg/l), la bioestimulación ($0,08 \pm 0,02$ mg/l) y el proceso simultáneo ($0,09 \pm 0,02$ mg/l), los cuales conformaron un mismo grupo estadístico. Aunque la bioaumentación presentó la mayor concentración residual de amoníaco al finalizar el ensayo (0,16 mg/l), la diferencia respecto a los demás tratamientos fue reducida (0,08 mg/l), lo que indica un comportamiento similar entre las estrategias evaluadas en la etapa final del experimento.

En todos los tratamientos se observó una disminución superior al 98 % respecto a los valores iniciales, evidenciando una alta eficiencia de remoción de este compuesto nitrogenado. Si bien las concentraciones iniciales superaron el límite de < 1 mg/l recomendado para sistemas de cultivo de langostino (Boyd, 2020), estos niveles son compatibles con sistemas intensivos, donde la acumulación de amoníaco puede estar asociada a la excreción metabólica de los organismos cultivados, el aporte de nitrógeno proveniente del alimento no consumido y la degradación de la materia orgánica presente en el agua. En este contexto, la

reducción registrada al finalizar el ensayo refleja la capacidad del sistema biológico para favorecer la transformación y disminución del nitrógeno amoniacal durante el proceso de tratamiento.

La reducción del amoníaco puede estar asociada principalmente con la actividad de comunidades microbianas involucradas en los procesos de nitrificación y asimilación bacteriana del nitrógeno. La nitrificación comprende la oxidación secuencial del amoníaco a nitrito y posteriormente a nitrato, procesos realizados por microorganismos especializados. Según Soaudy y Ghonimy (2026), estos grupos incluyen bacterias oxidantes de amoníaco como *Nitrosomonas* y *Nitrospira*, bacterias heterótrofas con capacidad nitrificante como *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas putida* y *Bacillus licheniformis*, así como bacterias oxidantes de nitrito pertenecientes a los géneros *Nitrobacter* y *Nitrospira*. Asimismo, la asimilación bacteriana puede contribuir a la disminución del nitrógeno amoniacal mediante su incorporación a la biomasa microbiana durante el crecimiento celular.

En este estudio, la bioestimulación pudo favorecer la actividad de las comunidades microbianas presentes en el efluente mediante la modificación de las condiciones ambientales requeridas para su desarrollo, mientras que la bioaumentación permitió incorporar microorganismos con capacidades metabólicas asociadas a la transformación del nitrógeno. El proceso simultáneo integró ambas estrategias, promoviendo potencialmente una acción complementaria entre microorganismos introducidos y comunidades autóctonas. No obstante, debido a que la reducción del amoníaco fue elevada incluso en el tratamiento control, los resultados sugieren que las condiciones experimentales favorecieron también la actividad de la microbiota natural presente en el efluente.

Estos resultados son consistentes con investigaciones recientes que han demostrado la eficacia de estrategias microbianas para el tratamiento de efluentes acuícolas. Liao et al. (2025), reportaron que, comunidades microbianas sintéticas conformadas por bacterias con capacidad heterótrofa nitrificante y desnitrificante lograron remociones superiores al 90 % del nitrógeno total en efluentes de acuicultura bajo diferentes condiciones ambientales. En comparación, las eficiencias de remoción de amoníaco superiores al 98 % obtenidas en el presente estudio demuestran el potencial de las estrategias de bioestimulación y

bioaumentación para reducir compuestos nitrogenados en efluentes provenientes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*. Sin embargo, la mayor concentración residual de amoníaco registrada en la bioaumentación al finalizar el ensayo sugiere que la incorporación de microorganismos exógenos no necesariamente se traduce en una mayor eficiencia del proceso, debido a que su desempeño puede estar condicionado por la capacidad de adaptación al medio, la competencia con la microbiota nativa y las condiciones ambientales del sistema.

Tabla 7

Variación temporal de la concentración de amoníaco (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	8,24 ± 0,05 ^a	8,25 ± 0,06 ^a	8,30 ± 0,04 ^a	8,28 ± 0,08 ^a
3	2,62 ± 0,64 ^a	2,37 ± 0,26 ^a	2,85 ± 0,51 ^a	2,33 ± 1,05 ^a
7	0,64 ± 0,19 ^a	0,87 ± 0,55 ^a	2,07 ± 0,77 ^a	1,17 ± 0,76 ^a
10	0,08 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,02 ^a	0,16 ± 0,01 ^b	0,09 ± 0,02 ^a

4.5.2. Nitritos (NO₂⁻)

La concentración inicial de nitritos fue homogénea entre los tratamientos (0,002 ± 0,000 mg/l), sin diferencias significativas ($p > 0,05$), demostrando condiciones iniciales equivalentes para el desarrollo del experimento (Tabla 8). Durante los primeros tres días se observó un incremento ligero de este compuesto en todos los tratamientos; sin embargo, las diferencias entre ellos no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$). A partir del séptimo día se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). En esta evaluación, el control (2,433 ± 0,153 mg/l) y la bioestimulación (2,547 ± 0,148 mg/l) registraron las mayores concentraciones de nitrito, mientras que la bioaumentación (0,510 ± 0,111 mg/l) y el proceso simultáneo (0,015 ± 0,002 mg/l) presentaron los valores más bajos.

Al décimo día, las diferencias entre tratamientos se mantuvieron ($p < 0,05$). El control alcanzó la mayor concentración de nitrito (4,843 ± 0,655 mg/l),

diferenciándose significativamente de los tratamientos con aplicación de estrategias biológicas. En contraste, la bioestimulación ($1,511 \pm 0,388$ mg/l), la bioaumentación ($1,232 \pm 0,190$ mg/l) y el proceso simultáneo ($0,735 \pm 0,047$ mg/l) conformaron un mismo grupo estadístico. Aunque estos tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí, el proceso simultáneo mostró la menor concentración promedio, seguido de la bioaumentación y la bioestimulación, evidenciando una tendencia favorable hacia una mayor transformación del nitrito durante la etapa final del experimento.

El comportamiento del nitrito estuvo estrechamente relacionado con la disminución observada en la concentración de amoníaco (Tabla 7). El incremento inicial de nitrito durante el ensayo coincide con la transformación del nitrógeno amoniacal mediante la primera etapa de la nitrificación, mientras que su posterior disminución en los tratamientos biológicos sugiere una mayor continuidad del proceso hacia formas oxidadas de nitrógeno. En contraste, la acumulación progresiva observada en el tratamiento control indica que la velocidad de formación de nitrito superó su tasa de transformación, generando una acumulación del intermediario dentro del sistema.

El nitrito constituye un compuesto clave en el ciclo del nitrógeno, debido a que su concentración refleja el equilibrio entre los procesos de oxidación del amoníaco y la posterior conversión del nitrito a nitrato (Boyd, 2020; Patil et al., 2021). Por ello, una acumulación elevada de este compuesto puede indicar una alteración en la continuidad del proceso nitrificante, mientras que su disminución evidencia una mayor capacidad del sistema para completar las etapas de transformación del nitrógeno. En esta investigación, los menores valores registrados en los tratamientos con bioaumentación y proceso simultáneo sugieren que estas estrategias favorecieron una transformación más eficiente del nitrito generado durante la degradación de los compuestos nitrogenados.

La disminución del nitrito observada en los tratamientos experimentales puede estar relacionada con las condiciones favorables generadas para la actividad microbiana. En el caso de la bioestimulación, la incorporación de melaza como fuente de carbono, junto con la aireación y la disponibilidad de nutrientes, pudo favorecer el desarrollo de comunidades microbianas capaces de participar en la transformación del nitrógeno. Chen et al. (2024), señalan que, factores como el oxígeno disuelto,

la disponibilidad de carbono, la concentración de materia orgánica y la relación carbono y nitrógeno influyen directamente sobre la eficiencia de los procesos microbianos de tratamiento en sistemas acuáticos.

Los resultados obtenidos son comparables con los reportados por Patil et al. (2021), quienes evaluaron un consorcio nitrificante y desnitrificante en sistemas intensivos de cultivo de *Penaeus vannamei*, registrando concentraciones de nitrito cercanas a 1,46 mg/l. Los autores indicaron que la acción conjunta de microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno permitió mantener bajas concentraciones de compuestos nitrogenados durante el cultivo. Durante el ensayo, los tratamientos con bioaumentación y proceso simultáneo alcanzaron valores de nitrito de 1,23 y 0,73 mg/l, respectivamente, mostrando un comportamiento similar al descrito en estudios previos y confirmando el potencial de estas estrategias para reducir la acumulación de nitrito en efluentes provenientes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*.

Tabla 8

Variación temporal de la concentración de nitritos (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	0,002 ± 0,000 ^a	0,002 ± 0,000 ^a	0,002 ± 0,000 ^a	0,002 ± 0,000 ^a
3	0,019 ± 0,002 ^a	0,016 ± 0,002 ^a	0,060 ± 0,044 ^a	0,037 ± 0,006 ^a
7	2,433 ± 0,153 ^c	2,547 ± 0,148 ^c	0,510 ± 0,111 ^b	0,015 ± 0,002 ^a
10	4,843 ± 0,655 ^b	1,511 ± 0,388 ^a	1,232 ± 0,190 ^a	0,735 ± 0,047 ^a

4.5.3. Nitratos (NO₃⁻)

Las concentraciones iniciales de nitrato fueron de 0,00 mg/l en todos los tratamientos, sin diferencias significativas ($p > 0,05$), evidenciando condiciones iniciales homogéneas para el desarrollo del experimento (Tabla 9). Durante los primeros tres días no se observaron cambios detectables en la concentración de este compuesto. Sin embargo, a partir del día 7 se registraron diferencias

significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), asociadas a una dinámica diferencial en la transformación del nitrógeno.

Al séptimo día, el tratamiento control presentó la mayor concentración de nitratos ($4,68 \pm 0,94$ mg/l), seguido de la bioestimulación ($4,31 \pm 0,55$ mg/l), ambos pertenecientes al mismo grupo estadístico. La bioaumentación presentó una concentración intermedia ($2,67 \pm 0,32$ mg/l), mientras que el proceso simultáneo registró el menor valor ($0,17 \pm 0,08$ mg/l), diferenciándose significativamente de los demás tratamientos. Al finalizar el ensayo (día 10), las diferencias estadísticas se mantuvieron ($p < 0,05$). El control alcanzó la mayor concentración de nitratos ($6,03 \pm 0,70$ mg/l), diferenciándose significativamente de los tratamientos experimentales. La bioestimulación presentó un valor intermedio ($2,58 \pm 0,30$ mg/l), mientras que la bioaumentación ($1,46 \pm 0,06$ mg/l) y el proceso simultáneo ($1,28 \pm 0,08$ mg/l) registraron las menores concentraciones, sin diferencias significativas entre ambos tratamientos.

El patrón de acumulación de nitratos observado durante el ensayo refleja diferencias en la dinámica de transformación del nitrógeno entre el control y los tratamientos experimentales. Los tratamientos PS, BA y BE presentaron un comportamiento caracterizado por un incremento inicial de nitrato hasta el día 7, seguido de una disminución hacia el día 10. Esta tendencia coincide con la transformación progresiva del amoníaco y la reducción posterior del nitrito observada en los tratamientos biológicos, indicando una mayor continuidad en las etapas del ciclo del nitrógeno. La acumulación inicial de nitrato puede atribuirse a la oxidación del nitrógeno reducido mediante la actividad de bacterias oxidantes de amonio (AOB) y bacterias oxidantes de nitrito (NOB), mientras que la disminución registrada durante la fase final podría estar relacionada con procesos complementarios de utilización del nitrógeno, como la asimilación bacteriana o posibles rutas desnitrificantes dentro del sistema.

En contraste, el tratamiento control presentó una acumulación continua de nitrato, alcanzando 6,03 mg/l al finalizar el ensayo. Este comportamiento sugiere que, bajo estas condiciones, predominó la transformación del amoniaco hacia formas oxidadas de nitrógeno, con una menor capacidad del sistema para regular la acumulación del nitrato generado. Por ello, una mayor concentración de nitrato en

el control no representa necesariamente una mayor eficiencia del tratamiento, sino una mayor acumulación del producto final de la nitrificación sin una reducción posterior significativa.

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios que han demostrado la capacidad de consorcios microbianos para modificar las rutas de transformación del nitrógeno en sistemas acuícolas. Su et al. (2025), desarrollaron el consorcio halotolerante SND223, conformado por *Acinetobacter* B2, B3 y *Zobellella* sp. MAD-44, para el tratamiento de efluentes salinos provenientes de la acuicultura. Este consorcio alcanzó una eliminación de nitratos del 97,10 % bajo condiciones óptimas, donde el 62,10 % del nitrógeno fue convertido a formas gaseosas y el 20,10 % fue incorporado mediante asimilación intracelular. La presencia de microorganismos con capacidades desnitrificantes en los tratamientos con bioaumentación podría explicar la menor acumulación de nitratos observada respecto al control, favoreciendo rutas adicionales de transformación del nitrógeno.

Asimismo, Esquén-Bayona et al. (2026), demostraron que, la bioaumentación con *Bacillus megaterium* y *Bacillus paralicheniformis* nativos permitió reducir significativamente las concentraciones de nitrato, alcanzando valores cercanos a 0 mg/l desde el cuarto día en los sistemas tratados, mientras que los controles presentaron concentraciones considerablemente mayores. Los autores señalaron que la participación de microorganismos asociados a procesos de nitrificación heterotrófica y desnitrificación aeróbica favoreció la transformación de compuestos nitrogenados en sistemas acuícolas. Estos antecedentes respaldan la importancia de la incorporación y estimulación de comunidades microbianas funcionales como estrategia para reducir la acumulación de nitratos en efluentes provenientes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*.

Los resultados indican que las estrategias de bioestimulación, bioaumentación y proceso simultáneo modificaron la dinámica de acumulación de nitratos respecto al control, favoreciendo una transformación más equilibrada del nitrógeno dentro del sistema. Particularmente, la menor concentración final de nitrato observada en BA y PS sugiere una mayor capacidad del consorcio microbiano para evitar la acumulación de productos finales de la nitrificación, posiblemente mediante mecanismos complementarios de asimilación y transformación del nitrógeno.

Tabla 9

Variación temporal de la concentración de nitratos (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
3	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
7	4,68 ± 0,94 ^c	4,31 ± 0,55 ^c	2,67 ± 0,32 ^b	0,17 ± 0,08 ^a
10	6,03 ± 0,70 ^c	2,58 ± 0,30 ^b	1,46 ± 0,06 ^a	1,28 ± 0,08 ^a

4.6. Variación de fosfatos (PO₄³⁻)

Los resultados obtenidos evidenciaron una disminución progresiva de las concentraciones de fosfato durante el periodo experimental, con una respuesta diferenciada entre los tratamientos evaluados (Tabla 10). Al inicio del ensayo, todos los tratamientos presentaron concentraciones similares de fosfato (10,50 - 11,00 mg/l), sin diferencias significativas ($p > 0,05$), lo que confirmó condiciones iniciales homogéneas. Durante los primeros tres días no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, aunque se evidenció una tendencia hacia una mayor reducción en el proceso simultáneo (PS).

A partir del día 7, se identificaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). El tratamiento control presentó la mayor concentración de fosfato ($10,50 \pm 0,00$ mg/l), seguido de la bioestimulación (BE) con $8,33 \pm 0,29$ mg/l, la bioaumentación (BA) con $7,17 \pm 0,29$ mg/l y el proceso simultáneo (PS) con $6,33 \pm 0,29$ mg/l. Al finalizar el ensayo, estas diferencias se mantuvieron, registrándose los mayores valores en el control ($9,33 \pm 0,29$ mg/l) y BE ($8,10 \pm 0,53$ mg/l), mientras que BA ($6,53 \pm 0,95$ mg/l) y PS ($5,13 \pm 0,15$ mg/l) presentaron las menores concentraciones. Estadísticamente, BA y PS conformaron el mismo grupo, indicando que no existieron diferencias significativas entre ambos tratamientos; sin embargo, ambos mostraron una reducción significativamente mayor respecto al control y la bioestimulación. Estos resultados sugieren que la incorporación de microorganismos mediante bioaumentación y su aplicación conjunta con

estrategias de estimulación favorecieron una mayor disminución del fosfato disponible en el efluente.

Tabla 10

Variación temporal de la concentración del fosfato (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	10,83 ± 0,29 ^a	11,00 ± 0,00 ^a	11,00 ± 0,00 ^a	10,50 ± 0,50 ^a
3	10,50 ± 0,50 ^a	10,50 ± 0,00 ^a	10,17 ± 0,29 ^{ab}	9,43 ± 0,12 ^a
7	10,50 ± 0,00 ^d	8,33 ± 0,29 ^c	7,17 ± 0,29 ^b	6,33 ± 0,29 ^a
10	9,33 ± 0,29 ^b	8,10 ± 0,53 ^b	6,53 ± 0,95 ^a	5,13 ± 0,15 ^a

En sistemas acuícolas intensivos, la acumulación de nutrientes, especialmente fósforo en forma de fosfato, está relacionada con el alimento no consumido, las excreciones metabólicas de los organismos cultivados y la mineralización de la materia orgánica acumulada en el sistema. Diversos estudios han reportado concentraciones de fosfato entre 0,5 y 5,0 mg/l en efluentes provenientes de sistemas intensivos (Anh et al., 2021; Gogoi et al., 2021). En este ensayo, las concentraciones iniciales fueron superiores a dicho rango, lo cual podría estar asociado con la elevada carga de nutrientes característica de los efluentes procedentes de cultivos intensivos de *Penaeus vannamei*, donde la acumulación de materia orgánica favorece la liberación continua de fósforo inorgánico al agua.

Asimismo, en ambientes salinos o hipersalinos asociados a sistemas de producción de langostino, los procesos de degradación de materia orgánica generan diferentes formas de nutrientes inorgánicos, incluyendo compuestos nitrogenados y fosfatos provenientes de la descomposición del alimento no asimilado y de los residuos metabólicos (Patil et al., 2021). Bajo estas condiciones, las comunidades microbianas cumplen una función esencial en la transformación y reciclaje de nutrientes, debido a que el fósforo constituye un elemento fundamental para el crecimiento celular y la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el sistema.

El fosfato disponible en el agua puede ser incorporado por las comunidades microbianas mediante procesos de asimilación biológica, siendo utilizado en la síntesis de moléculas esenciales como ATP, ácidos nucleicos y fosfolípidos. Este proceso favorece la incorporación del fósforo a la biomasa microbiana y contribuye a disminuir su concentración en la fase acuosa (Liu et al., 2024). En este contexto, la mayor reducción observada en los tratamientos BA y PS podría estar relacionada con una mayor actividad metabólica de los consorcios bacterianos incorporados, favoreciendo una mayor captación del fósforo disponible y una transformación más eficiente de los nutrientes presentes en el efluente.

Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Navarrete-Álava et al. (2022), quienes demostraron que consorcios microbianos autóctonos combinados con microalgas nativas fueron capaces de reducir significativamente las concentraciones de fosfatos, nitrógeno inorgánico y coliformes en efluentes acuícolas. Los autores destacaron que las interacciones entre microorganismos pueden incrementar la eficiencia de los procesos de biorremediación mediante la complementariedad de funciones metabólicas relacionadas con la captura y transformación de nutrientes. En concordancia con estos antecedentes, los resultados del presente ensayo muestran que la bioaumentación y el proceso simultáneo favorecieron una mayor reducción del fosfato respecto al control, evidenciando el potencial de estas estrategias para mejorar la calidad del efluente proveniente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*.

4.7. Variación de sulfuros (S^{2-})

Como se muestra en la Tabla 11, la concentración de sulfuros disminuyó progresivamente en todos los tratamientos, desde 0,03 mg/l al inicio del experimento hasta valores no detectables (0,00 mg/l) al día 10. Aunque en el día 7 los tratamientos con bioestimulación y bioaumentación registraron concentraciones de 0,00 mg/l, mientras que el control y el proceso simultáneo presentaron 0,01 mg/l, el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los tiempos de evaluación ($p > 0,05$). Estos resultados indican que las estrategias de bioestimulación, bioaumentación y proceso simultáneo no incrementaron significativamente la remoción de sulfuros respecto al tratamiento control bajo las condiciones experimentales evaluadas.

Tabla 11

Variación temporal de la concentración de sulfuros (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	0,03 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^a
3	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a
7	0,01 ± 0,01 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,01 ^a
10	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a

Los sulfuros son compuestos que se generan durante la descomposición anaerobia de la materia orgánica. En sistemas acuícolas intensivos, la acumulación de alimento no consumido, heces y otros residuos orgánicos favorece el desarrollo de bacterias reductoras de sulfato, responsables de la formación de compuestos sulfurados reducidos (Anh et al., 2021). Por ello, la concentración de sulfuros es considerada un indicador de las condiciones redox del sistema y del grado de descomposición anaerobia de la materia orgánica.

La disminución observada durante el experimento puede atribuirse principalmente a las condiciones de oxigenación generadas mediante la aireación mecánica, las cuales limitaron la actividad de las bacterias reductoras de sulfato y favorecieron la oxidación de los compuestos sulfurados hacia formas más estables del ciclo del azufre, como el sulfato (Thakur et al., 2023). Paralelamente, el predominio de condiciones aeróbicas estimuló la degradación de la materia orgánica por la microbiota heterótrofa, reduciendo la disponibilidad de sustratos necesarios para el desarrollo de procesos anaerobios asociados con la formación de sulfuros (Anh et al., 2021).

La reducción de la concentración de sulfuros también se observó en el tratamiento control, lo que sugiere que las condiciones operativas del sistema experimental, particularmente la aireación continua, favorecieron los procesos naturales de oxidación y la actividad de la microbiota autóctona. En consecuencia, la ausencia

de diferencias significativas entre el control y los tratamientos de bioestimulación, bioaumentación y proceso simultáneo indica que las estrategias de biorremediación evaluadas no produjeron un efecto adicional sobre la remoción de sulfuros durante el periodo experimental, probablemente porque las condiciones aeróbicas establecidas fueron suficientes para favorecer su disminución en todos los tratamientos.

4.8. Variación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅)

Como se observa en la Tabla 12, al inicio del experimento la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$), lo que evidencia condiciones iniciales homogéneas. A partir del día 3, los tratamientos con bioestimulación, bioaumentación y proceso simultáneo registraron concentraciones significativamente menores que el tratamiento control ($p < 0,05$), siendo la bioestimulación y la bioaumentación estadísticamente similares entre sí. En el día 7, el tratamiento control continuó presentando la mayor concentración de DBO₅ y difirió significativamente de los tres tratamientos de biorremediación, los cuales no mostraron diferencias estadísticas entre sí. Al finalizar el experimento, todos los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), observándose la menor concentración en el proceso simultáneo, seguido por la bioaumentación, la bioestimulación y el control. Este comportamiento evidencia que las estrategias biológicas modificaron la dinámica de la materia orgánica biodegradable presente en el efluente desde los primeros días de evaluación.

Tabla 12

Variación de la demanda bioquímica de oxígeno (mg/l) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	114,35 ± 0,40 ^a	114,51 ± 0,50 ^a	114,36 ± 0,47 ^a	114,21 ± 0,37 ^a
3	111,90 ± 1,25 ^c	66,01 ± 1,61 ^a	63,54 ± 2,81 ^a	71,60 ± 1,21 ^b
7	101,59 ± 7,25 ^b	60,55 ± 0,41 ^a	55,70 ± 2,40 ^a	57,04 ± 2,22 ^a
10	96,75 ± 1,56 ^d	53,16 ± 2,35 ^c	42,15 ± 1,70 ^b	33,66 ± 3,66 ^a

La demanda bioquímica de oxígeno es un indicador ampliamente utilizado para estimar la cantidad de materia orgánica biodegradable presente en el agua. En sistemas acuícolas intensivos, valores elevados de DBO_5 suelen asociarse con la acumulación de alimento no consumido, excretas y otros residuos orgánicos generados durante el proceso productivo. En este contexto, la disminución de la DBO_5 observada en los tratamientos con biorremediación sugiere una mayor actividad microbiana sobre la fracción biodegradable de la materia orgánica, lo que coincide con lo reportado por Gogoi et al. (2021), quienes señalan que, la reducción de este parámetro constituye un indicador de la eficacia de los procesos biológicos de tratamiento.

Desde el punto de vista metabólico, los microorganismos heterótrofos utilizan la materia orgánica disuelta y particulada como fuente de carbono y energía. Durante este proceso, los compuestos orgánicos son transformados mediante rutas bioquímicas que generan biomasa microbiana y productos finales como dióxido de carbono (CO_2), amonio (NH_4^+) y fosfatos (PO_4^{3-}), disminuyendo la cantidad de materia orgánica biodegradable presente en el efluente y, en consecuencia, la demanda bioquímica de oxígeno (Wang et al., 2023).

Estos resultados concuerdan con diversos estudios que demuestran la eficacia de las estrategias de biorremediación basadas en microorganismos para mejorar la calidad del agua en sistemas acuícolas. Tecnologías como los consorcios bacterianos, los sistemas integrados de algas y bacterias, el biofloc y los lodos granulares han demostrado reducir la concentración de materia orgánica biodegradable y otros contaminantes presentes en efluentes acuícolas (Oliveira et al., 2023; Wang et al., 2022; Patil et al., 2021), evidenciando el potencial de estos procesos biológicos para optimizar el tratamiento de aguas residuales provenientes de la acuicultura.

4.9. Variación de coliformes termotolerantes

Como se observa en la Tabla 13, el número más probable (NMP) de coliformes termotolerantes disminuyó progresivamente en todos los tratamientos durante el periodo experimental, pasando de 2 300 NMP/100 ml al inicio del ensayo a 36 NMP/100 ml al día 10. Aunque en el día 7 el tratamiento de proceso simultáneo presentó un valor numéricamente superior (240 NMP/100 ml) respecto al control, la

bioestimulación y la bioaumentación (110 NMP/100 ml), el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los tiempos de evaluación ($p > 0,05$). Estos resultados indican que las estrategias de biorremediación evaluadas no modificaron significativamente el comportamiento de este indicador microbiológico durante el periodo de estudio.

Tabla 13

Variación de la concentración de los coliformes termotolerantes (NMP/100 ml) en los tratamientos experimentales

Tiempo (días)	Ctrl	BE	BA	PS
0	2 300 ± 0 ^a	2 300 ± 0 ^a	2 300 ± 0 ^a	2 300 ± 0 ^a
3	2 100 ± 0 ^a	2 100 ± 0 ^a	2 100 ± 0 ^a	2 100 ± 0 ^a
7	110 ± 0 ^a	110 ± 0 ^a	110 ± 0 ^a	240 ± 0 ^a
10	36 ± 0 ^a	36 ± 0 ^a	36 ± 0 ^a	36 ± 0 ^a

Los coliformes termotolerantes son indicadores de contaminación fecal y de la calidad sanitaria del agua, debido a que reflejan la presencia de microorganismos asociados a excretas, residuos orgánicos y alimento no consumido en los sistemas acuícolas (Panigrahi et al., 2021). En este contexto, la disminución observada durante el experimento sugiere una reducción gradual de la carga microbiológica presente en el efluente, favorecida por las condiciones del sistema experimental y los procesos naturales de depuración, contribuyendo a mejorar la calidad sanitaria del agua (Gonzales, 2025).

La ausencia de diferencias significativas entre tratamientos indica que la bioestimulación, la bioaumentación y el proceso simultáneo no ejercieron un efecto diferencial sobre la disminución de los coliformes termotolerantes respecto al tratamiento control. Este comportamiento sugiere que los procesos naturales de competencia microbiana y las condiciones fisicoquímicas del sistema tuvieron un papel importante en la dinámica de este indicador durante el periodo de evaluación.

Diversos estudios han demostrado que la aplicación de consorcios microbianos y microalgas puede contribuir a la reducción de coliformes termotolerantes mediante mecanismos de competencia por nutrientes y espacio, producción de metabolitos con actividad antimicrobiana y mejora de las condiciones generales de la calidad del agua (Navarrete-Álava et al., 2022). Sin embargo, bajo las condiciones del presente estudio, estos mecanismos no se reflejaron en diferencias estadísticas entre las estrategias de biorremediación evaluadas.

4.10. Eficiencia de remoción de contaminantes

La evaluación de la eficiencia de remoción de contaminantes constituye un indicador utilizado para determinar el desempeño de los procesos de tratamiento aplicados a efluentes acuícolas. Este parámetro permite analizar el comportamiento de los sistemas de tratamiento biológico, ya que facilita la comparación del rendimiento de diferentes estrategias de remediación y la comprensión de los procesos microbianos responsables de la transformación y eliminación de contaminantes presentes en el agua (Barreto et al., 2025; Shan et al., 2024).

La tabla 14 presenta la eficiencia de remoción de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos evaluados al día 10 del experimento, donde se observa la respuesta de los tratamientos control, bioestimulación (BE), bioaumentación (BA) y proceso simultáneo (PS) aplicados al efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*. Los resultados evidenciaron diferencias en el desempeño de las estrategias de biorremediación según el contaminante evaluado, destacando una mayor respuesta del proceso simultáneo en la remoción de los parámetros asociados a la carga orgánica y disponibilidad de nutrientes.

Tabla 14

*Eficiencia de remoción (%) de parámetros fisicoquímicos y microbiológico del efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* al día 10 del experimento (media $\pm$ desviación estándar)*

Parámetro	Ctrl	BE	BA	PS
Sólidos suspendidos totales (SST)	80,43 $\pm$ 1,90 ^b	76,76 $\pm$ 1,65 ^{ab}	74,46 $\pm$ 1,88 ^a	88,56 $\pm$ 1,67 ^c
Amoniaco (NH ₃)	99,07 $\pm$ 0,07 ^a	98,99 $\pm$ 0,18 ^a	98,44 $\pm$ 0,65 ^a	98,91 $\pm$ 0,24 ^a
Fosfato (PO ₄ ³⁻)	13,78 $\pm$ 4,33 ^a	26,37 $\pm$ 4,81 ^{ab}	40,61 $\pm$ 8,64 ^{bc}	51,02 $\pm$ 3,07 ^c
Sulfuros (S ²⁻)	100 $\pm$ 0 ^a	100 $\pm$ 0 ^a	100 $\pm$ 0 ^a	100 $\pm$ 0 ^a
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅)	15,39 $\pm$ 1,07 ^a	53,57 $\pm$ 2,25 ^b	63,14 $\pm$ 1,62 ^c	70,53 $\pm$ 3,27 ^d
Coliformes termotolerantes	98,43 $\pm$ 0,00 ^a	98,43 $\pm$ 0,00 ^a	98,43 $\pm$ 0,00 ^a	98,43 $\pm$ 0,00 ^a

La remoción de sólidos suspendidos totales (SST) presentó eficiencias elevadas en todos los tratamientos, con valores entre 74,46 $\pm$ 1,88 % y 88,56 $\pm$ 1,67 %, evidenciándose diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$). El proceso simultáneo alcanzó la mayor eficiencia de remoción (88,56 %), superando significativamente al control (80,43 %), bioestimulación (76,76 %) y bioaumentación (74,46 %). La mayor eficiencia obtenida en PS podría estar asociada a la interacción entre microorganismos estimulados y microorganismos incorporados, promoviendo una mayor producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), agregación microbiana y formación de flóculos capaces de retener partículas orgánicas y facilitar su sedimentación. Estos mecanismos han sido descritos como procesos fundamentales para la reducción de sólidos en sistemas acuícolas intensivos y tratamientos biológicos de aguas residuales (Metcalf y Eddy, 2014; Summerfelt y Penne, 2008). La disminución de SST representa un aspecto ambiental relevante debido a que la acumulación de sólidos suspendidos incrementa la demanda de oxígeno, limita la penetración de luz y puede modificar las condiciones ecológicas del cuerpo receptor, afectando la estabilidad del ecosistema acuático (MINAM, 2017).

En relación con el nitrógeno amoniacal, la remoción de amoníaco fue superior al 98 % en todos los tratamientos, con valores entre $98,44 \pm 0,65$ % y $99,07 \pm 0,07$ %, sin diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). La ausencia de diferencias entre tratamientos indica que la disminución del amoníaco no estuvo condicionada exclusivamente por la aplicación de bioestimulación o bioaumentación, sino que probablemente estuvo determinada por la actividad de la comunidad microbiana nativa presente en el efluente y las condiciones favorables del sistema experimental. La elevada eficiencia obtenida evidencia un adecuado proceso de transformación del nitrógeno reducido, asociado principalmente a la actividad de bacterias nitrificantes responsables de la oxidación del amonio hacia nitrito y posteriormente nitrato. La eliminación eficiente del amoníaco resulta fundamental en sistemas acuícolas debido a su elevada toxicidad, ya que concentraciones elevadas pueden afectar procesos fisiológicos, crecimiento y supervivencia de *Penaeus vannamei* (Boyd, 2015).

Durante el ensayo se observó la generación de nitritos y nitratos como productos intermedios y finales del metabolismo nitrogenado, respectivamente. Este comportamiento no representa una disminución de la eficiencia de remoción del nitrógeno, sino una evidencia del proceso de transformación biológica ocurrido durante la experimentación. En este sentido, el amoníaco removido fue probablemente oxidado mediante la acción secuencial de bacterias amonio-oxidantes (AOB), como *Nitrosomonas*, y bacterias nitrito-oxidantes (NOB), como *Nitrobacter*, generando primero nitrito y posteriormente nitrato como forma más estable del nitrógeno inorgánico (Metcalf y Eddy, 2014). Por esta razón, los nitritos y nitratos fueron considerados indicadores del proceso nitrificante y no parámetros de eficiencia de remoción directa.

La remoción de fosfatos presentó una respuesta dependiente de la estrategia aplicada, mostrando diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). El tratamiento control presentó la menor eficiencia ($13,78 \pm 4,33$ %), mientras que el proceso simultáneo alcanzó la mayor remoción ($51,02 \pm 3,07$ %), seguido de bioaumentación ($40,61 \pm 8,64$ %) y bioestimulación ($26,37 \pm 4,81$ %). La separación estadística observada evidencia el efecto positivo de la incorporación y estimulación microbiana sobre la reducción del fósforo disponible. El incremento progresivo de la eficiencia desde el control hasta PS indica que la combinación de ambas

estrategias favoreció una mayor captación biológica del fosfato mediante procesos de asimilación celular, inmovilización en biomasa microbiana y retención dentro de matrices floculares. Estos mecanismos son relevantes en sistemas acuícolas debido a que el fósforo constituye uno de los principales nutrientes limitantes asociados a procesos de eutrofización en ambientes receptores (Crab et al., 2012; Boyd, 2015). Por tanto, la mayor eficiencia obtenida en PS demuestra una ventaja funcional de aplicar estrategias combinadas frente a tratamientos individuales.

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) fue el parámetro que mostró la respuesta más diferenciada entre tratamientos, evidenciando diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,05$). La eficiencia de remoción aumentó desde $15,39 \pm 1,07$ % en el control, hasta $53,57 \pm 2,25$ % en bioestimulación, $63,14 \pm 1,62$ % en bioaumentación y alcanzó el máximo valor en el proceso simultáneo con $70,53 \pm 3,27$ %. La separación estadística entre todos los tratamientos confirma que cada estrategia produjo un efecto diferencial sobre la degradación de materia orgánica biodegradable. El mejor desempeño de PS demuestra que la combinación de bioestimulación y bioaumentación incrementó la capacidad metabólica del sistema para utilizar compuestos orgánicos como fuente de energía y carbono. La mayor eficiencia de bioaumentación respecto a bioestimulación indica que la incorporación de microorganismos con capacidad degradativa específica tuvo un papel importante en la reducción de la carga orgánica. Estos resultados coinciden con lo señalado por Metcalf y Eddy (2014), quienes establecen que los procesos biológicos optimizados favorecen la oxidación de materia orgánica y reducen significativamente la DBO_5 en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Respecto a los sulfuros (S^{2-}), todos los tratamientos alcanzaron una eficiencia de remoción del 100 ± 0 %, sin diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). Este resultado indica que la eliminación del compuesto ocurrió bajo condiciones favorables del sistema experimental, independientemente de la estrategia aplicada. La completa remoción puede estar relacionada con la baja concentración inicial del sulfuro y con las condiciones aerobias generadas durante la experimentación, las cuales favorecieron la oxidación del sulfuro hacia formas oxidadas del azufre y limitaron la actividad de microorganismos sulfato-reductores asociados a ambientes anaerobios. La rápida eliminación de este compuesto resulta ambientalmente

importante debido a su elevada toxicidad para organismos acuáticos y su relación con procesos de deterioro de la calidad del agua (Boyd, 2015).

Por otro lado, la eficiencia de remoción de los coliformes termotolerantes fue de 98,43 % en todos los tratamientos, debido a que los valores finales de NMP/100 ml fueron iguales entre tratamientos y réplicas. Al no presentarse diferencias estadísticas, se infiere que la reducción de estos microorganismos estuvo asociada principalmente a las condiciones operacionales comunes del sistema experimental, como la sedimentación, competencia microbiana y condiciones aeróbicas, más que a un efecto específico de las estrategias de biorremediación. La elevada remoción refleja una mejora de la calidad sanitaria del efluente, considerando que los coliformes termotolerantes son indicadores de contaminación fecal y carga microbiológica en sistemas acuícolas (Panigrahi et al., 2021; MINAM, 2017).

En conjunto, los resultados evidenciaron que la estrategia de proceso simultáneo presentó la mayor eficiencia global de biorremediación, destacando principalmente en la remoción de SST, fosfatos y DBO₅, parámetros asociados con la presencia de materia orgánica particulada, carga biodegradable y disponibilidad de nutrientes en el efluente acuícola, lo que demuestra el efecto complementario entre la estimulación de la microbiota autóctona y la incorporación de microorganismos funcionales.

No obstante, parámetros como amoníaco, sulfuros y coliformes termotolerantes alcanzaron elevadas eficiencias de remoción en todos los tratamientos, sin diferencias estadísticas significativas, la respuesta observada en los parámetros críticos asociados al deterioro de la calidad del agua confirma que la aplicación integrada de estrategias microbianas constituye una alternativa viable para mejorar los procesos de depuración de efluentes provenientes del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*. Estos resultados permiten aceptar el planteamiento del objetivo principal de la investigación, evidenciando que la combinación de bioestimulación y bioaumentación incrementó la eficiencia del tratamiento biológico respecto a la aplicación individual de cada estrategia.

4.11. Evaluación comparativa de la calidad del agua del efluente y cuerpo receptor respecto a los Estándares de Calidad Ambiental – Categoría 2

La comparación de los parámetros de calidad del agua del efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua, Categoría 2 – Subcategoría C2, permitió evaluar el desempeño ambiental de las estrategias de biorremediación y determinar el grado de cumplimiento de los criterios de calidad establecidos por la normativa peruana. Para este análisis se consideraron las concentraciones del efluente inicial, los valores registrados al día 10 en los tratamientos control (Ctrl), bioestimulación (BE), bioaumentación (BA) y proceso simultáneo (PS), así como la información disponible del cuerpo marino receptor (CMR). Los resultados comparativos se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 15

Comparación de la calidad del efluente inicial, efluente tratado y cuerpo receptor con los ECA para agua, Categoría 2 – Subcategoría C2

Parámetro	Efluente inicial	Ctrl	BE	BA	PS	CMR	ECA - C2
SST (mg/l)	1 409,00	277,33	328,00	358,67	160,67	-	60
Amoníaco (mg/l)	8,27	0,08	0,08	0,16	0,09	< 0,24	NA
Nitritos (mg/l)	0,002	4,843	1,511	1,232	0,735	< 0,002	NE
Nitratos (mg/l)	< 0,001	6,030	2,580	1,460	1,280	4,206	16
Fosfatos (mg/l)	10,83	9,33	8,10	6,53	5,13	-	NE
DBO ₅ (mg/l)	114,36	96,75	53,16	42,15	33,66	-	10
Sulfuros (mg/l)	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	< 0,002	0,05
Coliformes termotolerantes (NMP/100 ml)	2 300	36	36	36	36	-	≤ 30

Nota. NA: No aplica para la Categoría 2 – Subcategoría C2 según el D.S. N° 004-2017-MINAM. NE: No establecido en los Estándares de Calidad Ambiental para Agua, Categoría 2 – Subcategoría C2.

El efluente inicial presentó concentraciones elevadas de sólidos suspendidos totales (1 409,00 mg/l), fosfatos (10,83 mg/l), demanda bioquímica de oxígeno (114,36 mg/l) y coliformes termotolerantes (2 300 NMP/100 ml). Los SST, la DBO₅ y los coliformes termotolerantes superaron ampliamente los valores de referencia establecidos por los ECA para la Categoría 2 – Subcategoría C2, evidenciando una elevada carga de materia orgánica y contaminación microbiológica propia de los efluentes provenientes de sistemas de cultivo intensivo. Esta condición se asocia principalmente a la acumulación de alimento no consumido, excretas y residuos orgánicos derivados de la actividad acuícola, los cuales incrementan la concentración de sólidos, materia orgánica biodegradable y nutrientes disueltos en el agua (Brandão et al., 2023).

La aplicación de las estrategias de biorremediación produjo una reducción importante de la carga contaminante del efluente, siendo el proceso simultáneo el tratamiento más eficiente. Este tratamiento registró las menores concentraciones de sólidos suspendidos totales (160,67 mg/l), fosfatos (5,13 mg/l) y DBO₅ (33,66 mg/l), evidenciando una mayor capacidad para reducir la materia orgánica particulada, los nutrientes y la fracción biodegradable respecto a la bioestimulación y la bioaumentación aplicadas de manera individual. Asimismo, la concentración de coliformes termotolerantes disminuyó de 2 300 a 36 NMP/100 ml en todos los tratamientos, reflejando una importante reducción de la carga microbiológica del efluente. Sin embargo, las concentraciones finales de SST, DBO₅ y coliformes termotolerantes permanecieron por encima de los valores de referencia establecidos por los ECA para la Categoría 2 – Subcategoría C2 (60 mg/l, 10 mg/l y ≤ 30 NMP/100 ml, respectivamente). Este comportamiento coincide con lo reportado por Brandão et al. (2023), quienes señalan que, la eficiencia de los procesos biológicos en efluentes acuícolas está influenciada por factores como la carga orgánica inicial, la disponibilidad de oxígeno y la actividad metabólica de las comunidades microbianas responsables de la degradación de la materia orgánica y la transformación de nutrientes.

En cuanto a los compuestos nitrogenados, las concentraciones finales de amoníaco disminuyeron hasta valores entre 0,08 y 0,16 mg/l, evidenciando una transformación eficiente del nitrógeno amoniacal durante el tratamiento. Aunque este parámetro no aplica como criterio de evaluación para la Categoría 2 – Subcategoría C2 de los ECA, su reducción representa un beneficio ambiental al disminuir la fracción más tóxica del nitrógeno inorgánico. Por su parte, los nitratos presentaron concentraciones entre 1,28 y 6,03 mg/l, todas inferiores al valor máximo permitido por los ECA (16 mg/l), mientras que el cuerpo marino receptor registró un promedio de 4,206 mg/l, igualmente dentro del estándar ambiental. El incremento de nitratos respecto al efluente inicial constituye una evidencia del desarrollo del proceso de nitrificación, mediante el cual el amoníaco es oxidado progresivamente hacia formas más estables y menos tóxicas del nitrógeno. Asimismo, la ausencia de sulfuros detectables en los tratamientos al finalizar el experimento confirma la oxidación de compuestos reducidos de azufre bajo condiciones predominantemente aerobias, comportamiento característico de los sistemas biológicos de tratamiento de efluentes acuícolas (Brandão et al., 2023).

Respecto al cuerpo marino receptor, las concentraciones de amoníaco, nitritos, nitratos y sulfuros evidenciaron condiciones compatibles con una adecuada calidad del agua, manteniéndose los parámetros regulados dentro de los criterios establecidos por los ECA. En particular, la concentración promedio de nitratos (4,206 mg/l) fue considerablemente inferior al límite normativo (16 mg/l), mientras que los sulfuros permanecieron por debajo del límite de detección ($< 0,002$ mg/l). Estos resultados sugieren que, durante el periodo evaluado, el cuerpo receptor no presentó acumulación de compuestos nitrogenados o azufrados en concentraciones que comprometieran el cumplimiento de la normativa ambiental.

Finalmente, dado que la normativa peruana no establece límites máximos permisibles específicos para efluentes acuícolas, su desempeño ambiental se evaluó mediante la comparación con los estándares de calidad ambiental (ECA) para agua. En este contexto, los resultados mostraron que las estrategias de bioestimulación y bioaumentación mejoraron la calidad del efluente, destacando el proceso simultáneo como el tratamiento de mayor desempeño. Sin embargo, parámetros como los SST, la DBO_5 y los coliformes termotolerantes aún superaron los valores de referencia de los ECA, lo que pone de manifiesto la necesidad de

fortalecer las condiciones de operación del proceso biológico e incorporar tratamientos complementarios que permitan incrementar la eficiencia de remoción, a fin de alcanzar el cumplimiento de los criterios de calidad ambiental.

4.12. Análisis metagenómico de la comunidad microbiana

El análisis metagenómico permitió caracterizar la estructura y composición de la comunidad microbiana presente en el efluente acuícola y evaluar los cambios inducidos por los tratamientos de bioestimulación (BE), bioaumentación (BA) y el tratamiento simultáneo (PS). A partir de la secuenciación del gen 16S rRNA se obtuvieron secuencias de alta calidad que permitieron analizar la diversidad microbiana y su composición taxonómica en los diferentes tratamientos.

La caracterización de la comunidad microbiana es fundamental para la gestión de efluentes acuícolas porque permite identificar los grupos funcionales responsables de la degradación de materia orgánica, ciclado de nutrientes y detoxificación de compuestos presentes en sistemas intensivos. Comprender cómo responden estas comunidades frente a estrategias de bioestimulación o bioaumentación es clave para optimizar la eficiencia del tratamiento, predecir la estabilidad del sistema y reducir impactos ambientales. En estudios previos desarrollados en Latinoamérica, se ha observado que los tratamientos biorremediadores (especialmente aquellos basados en consorcios microbianos o microalgas) inducen cambios característicos en la estructura bacteriana, como el incremento de microorganismos asociados a rutas de nitrificación, desnitrificación y asimilación de fósforo, junto con una disminución de grupos oportunistas o asociados a eutrofización (Navarrete Álava et al., 2022).

De forma similar, investigaciones en sistemas de cultivo de *Penaeus vannamei* han demostrado que la implementación de organismos biorremediadores o poblaciones microbianas autóctonas tiende a incrementar la abundancia de bacterias beneficiosas vinculadas al ciclado del nitrógeno y a la degradación de materia orgánica, a la vez que reduce la carga de sólidos suspendidos y compuestos nitrogenados, reflejando un desplazamiento funcional de la comunidad hacia estados más estables y eficientes (Martínez-Córdova et al., 2011). Asimismo, la identificación de bacterias nativas con capacidad biorremediadora en zonas langostineras de Tumbes evidencia que los tratamientos pueden favorecer la

expansión de taxones adaptados al ambiente estuarino, capaces de mejorar la depuración del efluente bajo condiciones locales (Noriega, 2023).

4.12.1. Calidad y concentración del ADN metagenómico

El ADN metagenómico obtenido de las muestras de efluente presentó concentraciones y niveles de pureza adecuados para su posterior amplificación y secuenciación. El valor promedio de $17,80 \pm 7,58$ ng/ μ l se ubicó dentro del rango aceptable para estudios metagenómicos, mientras que las relaciones A_{260}/A_{280} ($1,83 \pm 0,04$) y A_{260}/A_{230} ($2,02 \pm 0,05$) confirmaron una pureza consistente con estándares internacionales para ADN de buena calidad (Tabla 16). La integridad del material genético fue corroborada mediante bandas definidas en gel de agarosa, lo que garantiza su idoneidad para las etapas posteriores del análisis.

La calidad y cantidad del ADN son determinantes para la confiabilidad de los análisis metagenómicos, ya que concentraciones bajas o ADN degradado reducen el número de lecturas útiles y pueden limitar la detección de taxones poco abundantes. Asimismo, contaminantes como proteínas, sales o compuestos orgánicos pueden interferir en la amplificación y generar sesgos en la asignación taxonómica, afectando la representación real de la comunidad microbiana (Qiagen, 2026; Berthold Technologies, 2026). Esta situación es especialmente relevante en estudios metagenómicos ambientales, donde la pérdida de biomasa microbiana o una extracción ineficiente pueden subestimar la diversidad, tal como se ha observado en investigaciones que comparan distintos métodos de extracción y sus efectos sobre la composición resultante (Jiang et al., 2019).

Tabla 16

*Concentración de ADN bacteriano y relaciones de absorbancia ($A_{260/280}$ y $A_{260/230}$) para las muestras de efluente obtenidas de estanque de cultivo de *Penaeus vannamei* en el departamento de Tumbes.*

N°	ID	ng/μl	260/280	260/230
1	EFT1	25,00	1,87	2,00
2	EFT2	25,00	1,80	2,05
3	C1	14,50	1,90	1,98
4	C2	13,10	1,81	2,05
5	BA1	13,40	1,78	2,13
6	BA2	11,35	1,82	2,02
7	BE1	14,80	1,84	1,99
8	BE2	12,10	1,80	1,95
9	PS1	34,15	1,85	2,01
10	PS2	14,60	1,79	2,03

En trabajos previos realizados en acuicultura intensiva y sistemas de recirculación, se considera estándar obtener ADN con relaciones de absorbancia próximas a 1,8 a 2,0 y concentraciones suficientes para asegurar una cobertura adecuada de secuenciación, ya que estos parámetros minimizan artefactos en el perfilado taxonómico y garantizan comparabilidad entre tratamientos (Rieder et al., 2023). En este estudio, las métricas obtenidas cumplen con dichos criterios, proporcionando una base sólida para la interpretación de los patrones microbianos derivados de los análisis metagenómicos.

4.12.2. Estadísticas generales de secuenciación

La secuenciación del gen 16S rRNA generó un total de 2 055 142 lecturas de alta calidad, con un promedio de 205 515 lecturas por muestra (rango: 202 495 a 211 403). Estos valores, resumidos en la Tabla 17, evidencian una profundidad de secuenciación consistente entre muestras, condición fundamental para garantizar un análisis robusto de la diversidad microbiana presente en el efluente.

Tabla 17

Parámetros estadísticos de lecturas obtenidas en la secuenciación del gen 16S rRNA.

Parámetro	Lecturas <i>Forward</i>	Lecturas <i>Reverse</i>
Mínimo	202 495	202 495
Mediana	204 300	204 300
Media	205 515	205 515
Máximo	211 403	211 403
Total	2 055 142	2 055 142

La elevada cantidad de lecturas obtenidas asegura una cobertura suficiente para caracterizar tanto taxones dominantes como microorganismos de baja abundancia, lo cual es esencial para estudios de comunidades complejas. Investigaciones recientes han demostrado que la detección confiable de géneros o especies con abundancias superiores al 0,1 % requiere profundidades de lectura elevadas y consistentes, y que plataformas capaces de generar grandes volúmenes de datos mejoran la resolución taxonómica y la recuperación de perfiles microbianos representativos (Buetas et al., 2024). Asimismo, estudios que normalizan artificialmente el número de lecturas por muestra confirman que profundidades superiores a 20 000 a 50 000 lecturas capturan adecuadamente la diversidad general, mientras que niveles más altos permiten identificar con mayor precisión taxones minoritarios y reducir sesgos derivados de la rarefacción (McDonald et al., 2018).

Este nivel de cobertura resulta especialmente relevante en efluentes acuícolas, donde microorganismos poco abundantes pueden cumplir funciones clave en la transformación del nitrógeno, la degradación de compuestos orgánicos o la competencia frente a patógenos. Una profundidad insuficiente podría subestimar su presencia, generando interpretaciones incompletas o sesgadas de la estructura microbiana. Por el contrario, la alta profundidad alcanzada en este estudio permite detectar patrones finos de respuesta microbiana frente a los tratamientos de

bioestimulación y bioaumentación, fortaleciendo la exactitud de las conclusiones ecológicas y funcionales derivadas del análisis metagenómico.

4.12.3. Control de calidad y procesamiento de secuencias

El procesamiento de las secuencias mediante *DADA2* permitió obtener variantes de secuencia amplicón (ASVs) libres de errores y quimeras, garantizando que los análisis de diversidad y composición microbiana se basaran en datos de alta fidelidad. El 99 % de las lecturas crudas logró traslaparse correctamente, lo que refleja una elevada concordancia entre lecturas emparejadas; además, el 95 % superó los filtros de calidad y el 83 % correspondió a secuencias no quiméricas, conformando un conjunto robusto para los análisis posteriores (Tabla 18). Los fragmentos traslapados presentaron una longitud promedio de 415 nt, un contenido de GC del 54 % y valores Q30 cercanos al 94 %, métricas que respaldan la integridad y consistencia del proceso de secuenciación.

Tabla 18

Resumen de la calidad de las lecturas de secuenciación y métricas de las secuencias obtenidas en cada etapa del flujo de trabajo con DADA2

Muestra	Lecturas crudas	Traslapadas	Filtradas	No quiméricas	Longitud (nt)	GC (%)	Q30 (%)
EFT1	206 697	98,95	94,94	78,97	411,84	53,51	94,31
EFT2	209 542	99,14	95,18	77,87	412,38	53,47	94,27
Ctrl1	205 299	99,18	95,23	80,63	411,49	55,17	94,49
Ctrl2	204 082	99,09	95,18	79,29	410,40	53,69	94,49
BA1	204 519	98,96	94,60	82,78	418,52	53,08	94,04
BA2	203 675	99,02	94,42	82,22	422,25	54,28	93,92
BE1	204 033	99,13	95,32	90,98	414,60	53,89	94,42
BE2	202 495	99,04	94,86	88,93	413,44	53,87	94,30
PS1	203 409	99,01	94,51	88,54	420,11	53,50	94,04
PS2	211 403	98,96	96,03	84,46	412,89	55,96	94,64

La eliminación de quimeras y secuencias de baja calidad es esencial para evitar inflar artificialmente la diversidad y prevenir asignaciones taxonómicas erróneas.

Errores de lectura, fallas en el traslape o la presencia de quimeras pueden distorsionar índices de diversidad y sesgar la detección de taxones poco abundantes, afectando la interpretación ecológica de las comunidades (Rieder et al., 2023). *DADA2*, al corregir errores y depurar artefactos, permite generar ASVs que representan con mayor precisión las entidades biológicas presentes en la muestra, superando las limitaciones de métodos basados en OTUs, más susceptibles al ruido metodológico.

Las métricas de calidad obtenidas, incluyendo porcentajes altos de lecturas traslapadas, filtradas y no quiméricas, se alinean con estándares propios de análisis metagenómicos de alto rendimiento, donde valores Q30 superiores al 85 a 90 % se consideran indicativos de datos confiables para análisis taxonómicos y comparativos. Asimismo, la estabilidad observada en la longitud y en el contenido de GC sugiere una preparación homogénea de las bibliotecas, reduciendo la posibilidad de sesgos relacionados con la amplificación o la pérdida de representatividad entre muestras. En conjunto, estos indicadores validan la confiabilidad de los datos y aseguran que las diferencias detectadas entre tratamientos reflejan variaciones biológicas reales, y no artefactos derivados del procesamiento o la secuenciación.

4.12.4. Diversidad microbiana

El análisis de la diversidad microbiana mediante técnicas de secuenciación masiva de amplicones del gen 16S rRNA se ha consolidado en los últimos años como una herramienta fundamental para caracterizar la estructura y complejidad de comunidades microbianas en sistemas ambientales y de tratamiento de aguas. Estudios recientes destacan que la correcta interpretación de la diversidad microbiana depende no solo de la composición real de la comunidad, sino también de factores metodológicos como la profundidad de secuenciación, la normalización de las lecturas y la cobertura del muestreo (Cameron et al., 2021; Kers y Saccenti, 2022).

La diversidad microbiana a nivel de muestra se evalúa comúnmente mediante métricas de diversidad alfa, las cuales integran información sobre la riqueza taxonómica y la distribución relativa de abundancias. Entre estas métricas, el índice de Shannon continúa siendo ampliamente utilizado en estudios contemporáneos

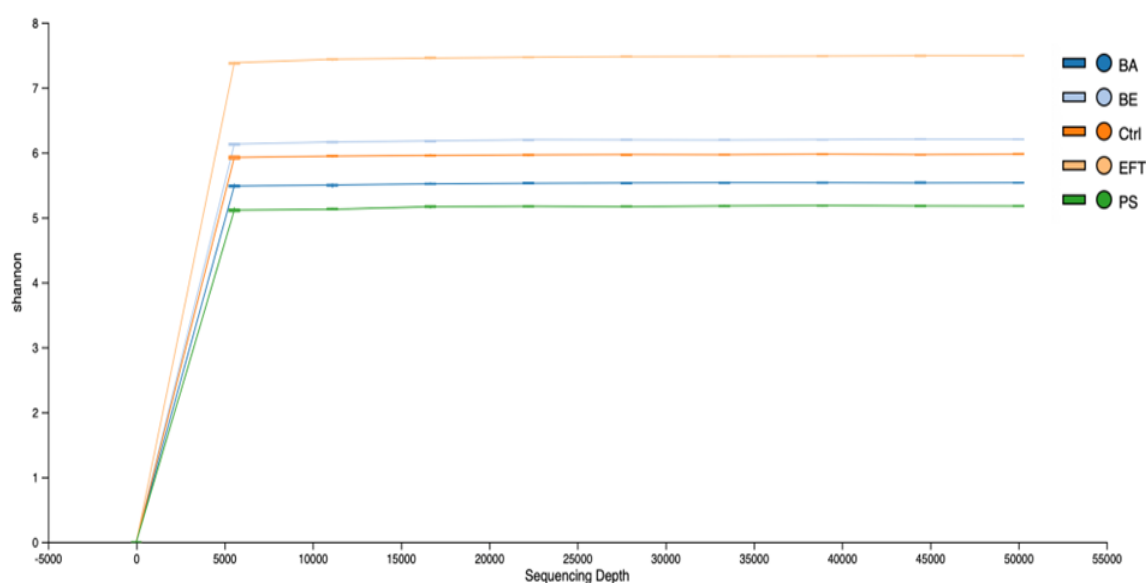
de microbioma debido a su capacidad para reflejar simultáneamente ambos componentes, mostrando una sensibilidad adecuada a cambios ecológicos inducidos por perturbaciones ambientales o tratamientos aplicados (Gauthier y Derome, 2021; Kavitha et al., 2024).

4.12.4.1. Curvas de rarefacción

Las curvas de rarefacción permitieron evaluar la suficiencia del esfuerzo de secuenciación para representar la diversidad microbiana presente en los efluentes. En la mayoría de las muestras, las curvas alcanzaron una fase clara de saturación, lo que indica que el número de lecturas obtenidas fue adecuado para capturar la mayor parte de la diversidad bacteriana del sistema. De manera específica, la rarefacción basada en el índice de Shannon mostró que profundidades de aproximadamente 50 000 lecturas fueron suficientes para recuperar los principales grupos taxonómicos y que las curvas de todos los tratamientos alcanzaron su asíntota alrededor de las 5 000 lecturas (Figura 2), confirmando que la cobertura de secuenciación fue apropiada para realizar comparaciones de diversidad entre tratamientos.

Figura 2

Índice de diversidad de Shannon para cada tratamiento de interés con respecto a la profundidad de secuenciación



El índice de Shannon reveló que el efluente inicial (EFT) presentó la mayor diversidad, seguido de los tratamientos, dentro de los cuales la bioestimulación (BE) mantuvo un nivel relativamente alto de diversidad, mientras que el proceso simultáneo (PS) registró la menor. Esta disminución sugiere una presión selectiva más intensa bajo PS, favoreciendo taxones específicamente adaptados a las condiciones generadas por la combinación de bioestimulación y bioaumentación.

La saturación observada en las curvas confirma que la mayor parte de la diversidad fue muestreada, ya que la detección de nuevos taxones deja de incrementarse cuando la curva alcanza su asíntota. Este patrón es ampliamente reconocido como un indicador de que el esfuerzo de secuenciación es suficiente para capturar la riqueza real de la comunidad (McDonald et al., 2018).

Asimismo, la estabilidad de las curvas desde aproximadamente 5 000 hasta 50 000 lecturas respalda la capacidad del estudio para detectar tanto organismos dominantes como taxones minoritarios, los cuales suelen desempeñar funciones ecológicas clave en procesos de transformación del nitrógeno, degradación de materia orgánica o regulación de patógenos.

La menor diversidad observada en PS es consistente con modelos ecológicos en los que la presión selectiva reduce la redundancia funcional y favorece la proliferación de microorganismos altamente especializados. Este fenómeno, documentado en sistemas metagenómicos donde la intervención biotecnológica modifica la estructura del microbioma, puede aumentar la eficiencia en rutas metabólicas críticas, pero también disminuir la resiliencia del sistema frente a perturbaciones (Rieder et al., 2023).

En conjunto, estos resultados indican que BE tiende a mantener una comunidad más diversa y potencialmente más estable, mientras que PS promueve taxones funcionalmente específicos, optimizando procesos de biorremediación a costa de una menor amplitud funcional microbiana. La combinación de las curvas de rarefacción y los índices de diversidad confirma que la estrategia de secuenciación y depuración con *DADA2* fue adecuada para caracterizar de forma representativa la estructura microbiana y evaluar los efectos de los tratamientos sobre el microbioma de los efluentes acuícolas.

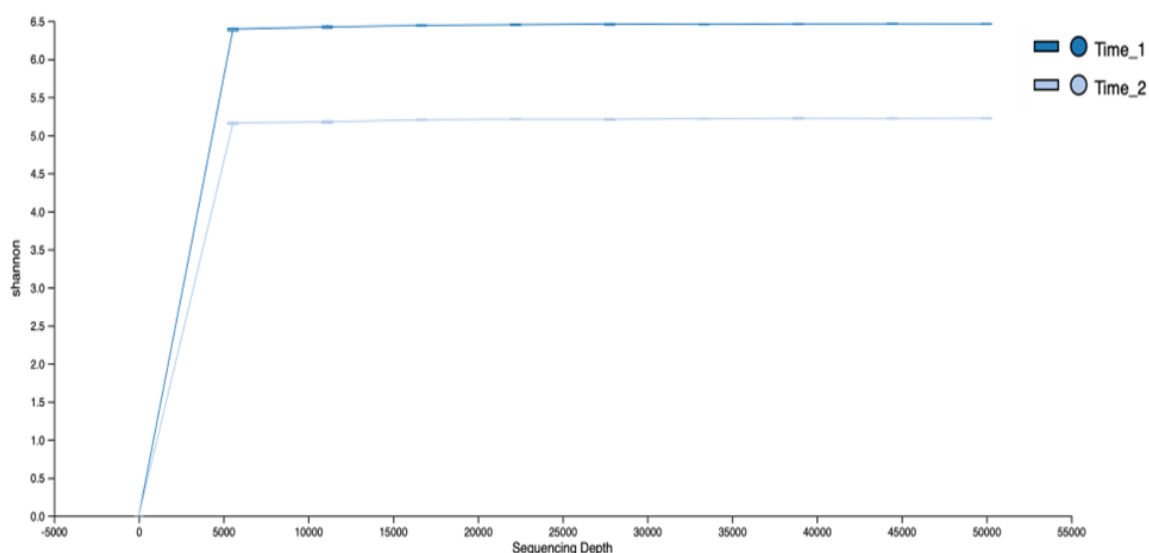
4.12.4.2. Diversidad alfa de la comunidad microbiana

La diversidad alfa, evaluada mediante el índice de Shannon, evidenció diferencias marcadas entre el efluente inicial y los tratamientos aplicados. Para este análisis, el tiempo 1 (T1) correspondió al momento inicial del experimento, antes de la aplicación de los tratamientos, mientras que el tiempo 2 (T2) correspondió al muestreo realizado al finalizar el periodo experimental. El efluente sin intervención presentó la mayor diversidad microbiana, lo que indica la coexistencia de múltiples taxones antes de la aplicación de los procesos de biorremediación. Tras los tratamientos, especialmente en el proceso simultáneo (PS), se observó una disminución significativa en la diversidad, lo que sugiere la selección de grupos bacterianos dominantes capaces de prosperar bajo las condiciones inducidas por la intervención biotecnológica.

Desde una perspectiva temporal, la mayor diversidad se registró en el tiempo 1 (Figura 3), indicando que la estructura microbiana experimenta una sucesión conforme avanza el tratamiento. Este patrón es consistente con la dinámica de comunidades sujetas a perturbación controlada: una fase inicial con mayor presencia de taxones generalistas y una transición hacia comunidades más restringidas, conformadas por organismos adaptados a los parámetros fisicoquímicos generados en el efluente conforme progresa el tratamiento (McDonald et al., 2018).

Figura 3

Índice de diversidad de Shannon para el tiempo de muestreo con respecto a la profundidad de secuenciación. T1: inicio del experimento (antes de la aplicación de los tratamientos). T2: final del experimento (después de la aplicación de los tratamientos).



La reducción de diversidad alfa tiene implicaciones ecológicas relevantes. Una menor diversidad suele reflejar la selección de taxones funcionalmente especializados, capaces de llevar a cabo procesos metabólicos clave en ambientes sometidos a biorremediación, como la transformación del nitrógeno, la degradación de compuestos orgánicos o la tolerancia al estrés químico. Este tipo de ensamblaje microbiano más acotado, pero funcionalmente eficiente ha sido documentado en estudios metagenómicos de efluentes acuícolas y de sistemas intensivos, donde la presión selectiva reduce la redundancia funcional y favorece linajes metabólicamente optimizados (Rieder et al., 2023).

Los tratamientos aplicados en este estudio reflejan claramente esta dinámica: la bioestimulación (BE) mantiene valores relativamente altos de diversidad, probablemente porque el incremento de nutrientes sostiene múltiples nichos metabólicos; en contraste, el tratamiento simultáneo (PS) presenta la mayor reducción en diversidad, lo que indica una presión selectiva más intensa que favorece la proliferación de taxones altamente especializados. Este patrón coincide con observaciones previas en efluentes acuícolas, donde tratamientos combinados

generan comunidades menos diversas, pero más eficientes en rutas metabólicas específicas, aunque con menor resiliencia ecológica ante perturbaciones (Jiang et al., 2019).

En conjunto, estos resultados sugieren que las variaciones en diversidad alfa no solo reflejan diferencias estructurales en la comunidad microbiana, sino también la direccionalidad funcional de cada tratamiento, BE mantiene una comunidad más diversa y potencialmente estable, mientras que PS impulsa una comunidad especializada orientada a maximizar la eficiencia de la biorremediación, aun cuando ello implique una menor amplitud funcional del microbioma del efluente.

4.12.5. Composición taxonómica de la comunidad microbiana

La asignación taxonómica permitió caracterizar la abundancia y composición de las comunidades microbianas presentes en los efluentes acuícolas a niveles de filo, clase, orden, familia y género. Los resultados se describen a continuación de manera detallada según el nivel taxonómico y los tiempos de muestreo.

4.12.5.1. Composición a nivel de filo

La asignación taxonómica reveló patrones claros en la estructura microbiana de los efluentes acuícolas a nivel de filo, evidenciando la influencia directa de los tratamientos sobre la composición y sucesión ecológica de las comunidades bacterianas. En el efluente inicial (EFT), Pseudomonadota fue el filo dominante (64,00 a 65,80 %), seguido por Bacteroidota (17,52 a 19,26 %) y Actinomycetota (8,50 a 10,68 %). Esta distribución es consistente con la presencia de una comunidad diversa y metabólicamente versátil, típica de ambientes con altas cargas de materia orgánica.

Durante el tiempo 1, los tratamientos generaron cambios diferenciales en la estructura microbiana. En Ctrl1, la comunidad se redistribuyó hacia Actinomycetota (41,78 %) y Pseudomonadota (42,90 %); en BA1 se observó un incremento notable de Bacillota (20,61 %); mientras que en BE1 y PS1 se mantuvo la predominancia de Pseudomonadota, acompañada de proporciones variables de Actinomycetota y Bacillota. Para el tiempo 2, los cambios se acentuaron: Actinomycetota aumentó considerablemente en Ctrl2 (53,82 %), BE2 (42,22 %) y especialmente PS2 (69,18 %); mientras que Bacillota alcanzó su mayor abundancia en BA2 (51,92 %). Estos patrones reflejan una clara sucesión microbiana inducida por los

tratamientos, donde determinados filos incrementan su presencia en función de las condiciones ambientales generadas durante la biorremediación.

Desde una perspectiva ecológica, la predominancia inicial de Pseudomonadota es coherente con su reconocida versatilidad metabólica y su rol fundamental en la degradación de compuestos orgánicos y el ciclado de nutrientes en sistemas con alto contenido de materia orgánica. Este filo incluye numerosos taxones capaces de responder rápidamente a cambios en disponibilidad de sustratos y condiciones fisicoquímicas (Rieder et al., 2023), lo que explica su abundancia en etapas tempranas del tratamiento.

El aumento progresivo de Actinomycetota, particularmente en fases avanzadas y en tratamientos como BE y PS, sugiere la selección de microorganismos especializados en la degradación de compuestos más complejos y en la producción de metabolitos secundarios, capacidades asociadas con ambientes sometidos a estrés o alta competencia microbiana (Jiang et al., 2019). Este comportamiento coincide con una comunidad que entra en etapa de estabilización ecológica, donde los taxones más resistentes o funcionales persisten y desplazan a los menos adaptados.

Asimismo, el incremento de Bacillota en BA y PS refleja una dinámica típica de procesos de biorremediación: este filo incluye bacterias esporuladas, heterótrofas y facultativas con un rol central en la mineralización de nutrientes y en la remoción de compuestos nitrogenados bajo condiciones de bioaumentación. Su expansión indica un ensamble microbiano intensamente seleccionado, altamente activo y funcional.

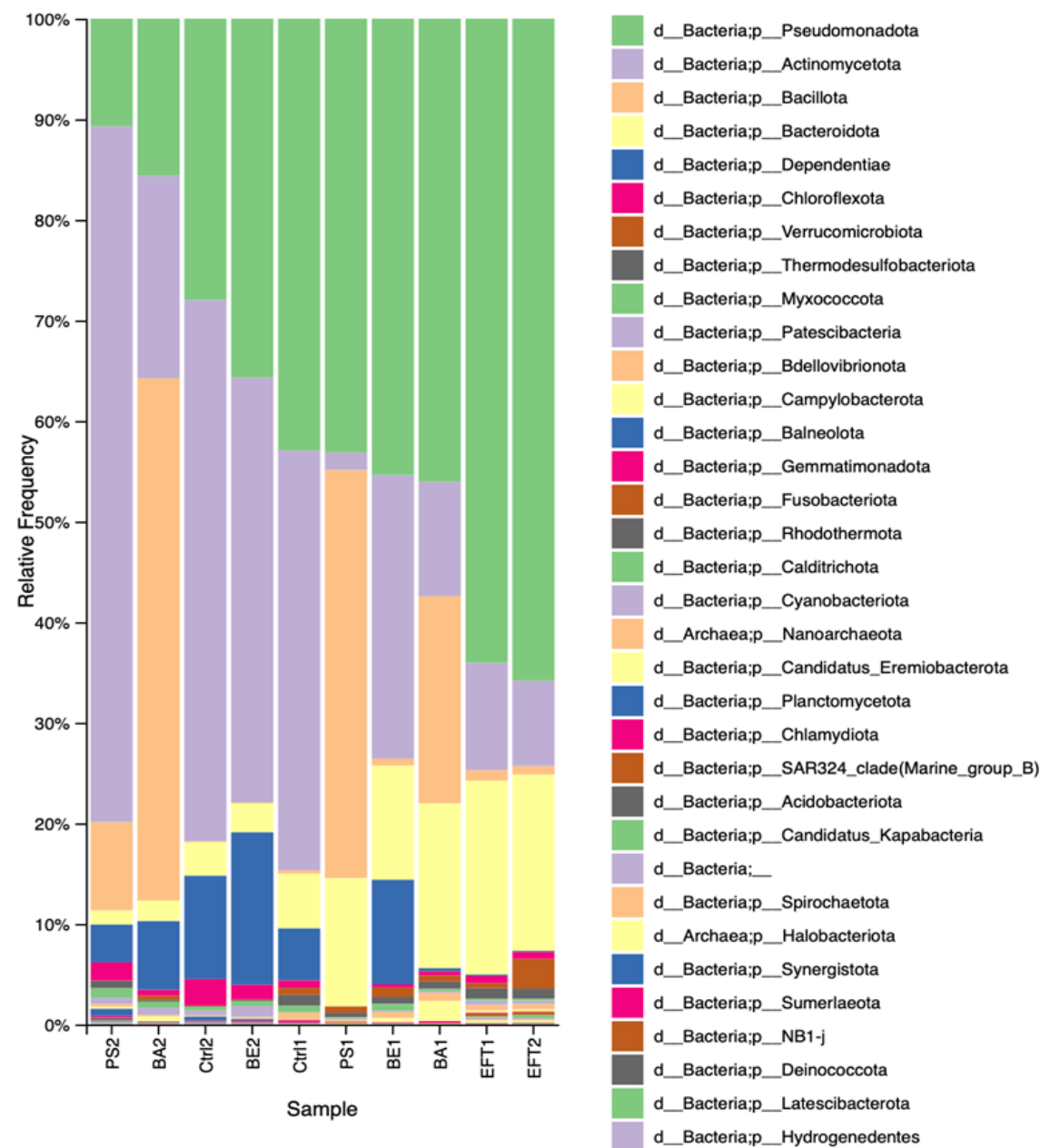
Esta sucesión entre filos evidencia presiones selectivas diferenciadas según el tipo de tratamiento. Mientras que BE mantiene una comunidad más equilibrada y con mayor diversidad funcional, PS, el tratamiento con mayor reducción de diversidad alfa, favorece linajes especializados capaces de optimizar rutas metabólicas específicas. Aunque esto puede mejorar la eficiencia de la remoción de contaminantes, también reduce la resiliencia ecológica del microbioma frente a perturbaciones externas.

Desde un enfoque aplicado, la presencia dominante de Pseudomonadota y Actinomycetota en fases avanzadas puede interpretarse como un indicador de

estabilización del efluente, mientras que altos niveles de Bacillota señalan un sistema fuertemente dirigido hacia la actividad biorremediadora (Figura 4). Estos patrones taxonómicos, por tanto, no solo reflejan el progreso del tratamiento, sino que también constituyen métricas prácticas para evaluar el desempeño biológico y ambiental de los procesos de remediación (McDonald et al., 2018).

Figura 4

Composición de la abundancia y diversidad bacteriana a nivel de filo observadas en los diferentes tratamientos y efluente (EFT). Ctrl (Control), BA (Bioaumentación), BE (Bioestimulación) y PS (Proceso simultáneo). 1: Tiempo1, 2: Tiempo 2



4.12.5.2. Composición a nivel de género

A nivel de género, el efluente inicial (EFT) estuvo dominado por un taxón asignado a *Paracoccaceae* (24,48 a 25,81 %), junto con *Demequina* (4,25 a 5,46 %), *Ruegeria* (4,58 a 5,12 %) y *Flavobacterium* (3,99 a 4,75 %). En el tiempo 1, *Paracoccaceae* se mantuvo predominante (17,07 a 21,48 %) y emergieron géneros característicos según el tratamiento: en BA1 destacó *Bacillus* (17,43 %); en PS1, *Bacillus* alcanzó 35,90 %; mientras *Ruegeria*, *Llumatobacter* e *Incertae_Sedis* variaron entre tratamientos. En el tiempo 2 se observó una disminución general de *Paracoccaceae* (1,93 a 9,35 %) y un aumento marcado de *Incertae_Sedis* (15,15 a 56,51 %). Por tratamiento, BA2 presentó *Bacillus* (48,91 %) y *Priestia* (2,39 %); BE2 mostró *Llumatobacter* (4,67 %), *Pseudidiomarina* (4,00 %) y *Ruegeria* (3,39 %); y PS2 mantuvo *Bacillus* (8,02 %) junto con *Llumatobacter*. En conjunto, *Vibrio* se mantuvo < 5 % y decreció a lo largo del tiempo, con el nivel más bajo en PS (Figura 5).

El predominio de *Bacillus* y su clado afín *Priestia* (*Bacillota*) en los tratamientos BA y PS coincide con su reconocido papel como agentes de biorremediación. Estas bacterias heterótrofas, versátiles y esporuladas, presentan una alta tolerancia a condiciones fisicoquímicas variables y contribuyen activamente a la degradación de compuestos orgánicos, la mineralización de nutrientes y la remoción de compuestos nitrogenados. Estas propiedades son fundamentales para la eficiencia de los procesos de biorremediación en efluentes acuícolas intensivos, donde las fluctuaciones ambientales y la elevada carga orgánica representan un desafío para la estabilidad microbiana (Elsegeny et al., 2025; Rieder et al., 2023). La caída sostenida de *Vibrio* (género que incluye especies patógenas relevantes en camaronicultura) sugiere mejoría microbiológica del efluente y mayor estabilidad del sistema, alineada con la evidencia que promueve el perfilado microbiano para vigilancia sanitaria en estanques de *P. vannamei* (Rajonhson et al., 2024).

La reducción de *Paracoccaceae* y el incremento de *Incertae sedis* hacia el tiempo 2 reflejan una sucesión microbiana típica, conforme cambian los sustratos y las condiciones fisicoquímicas, grupos especializados ocupan nichos liberados y concentran funciones de depuración (rutas de nitrógeno o degradación de compuestos más recalcitrantes), desplazando a taxones generalistas (Rieder et al., 2023). Este patrón es coherente con sistemas acuícolas donde la presión

selectiva del tratamiento reduce la redundancia funcional y favorece linajes eficientes, con beneficios en rendimiento de remoción, pero potencial compromiso de resiliencia si la diversidad cae en exceso (Rajonhson et al., 2024; Rieder et al., 2023).

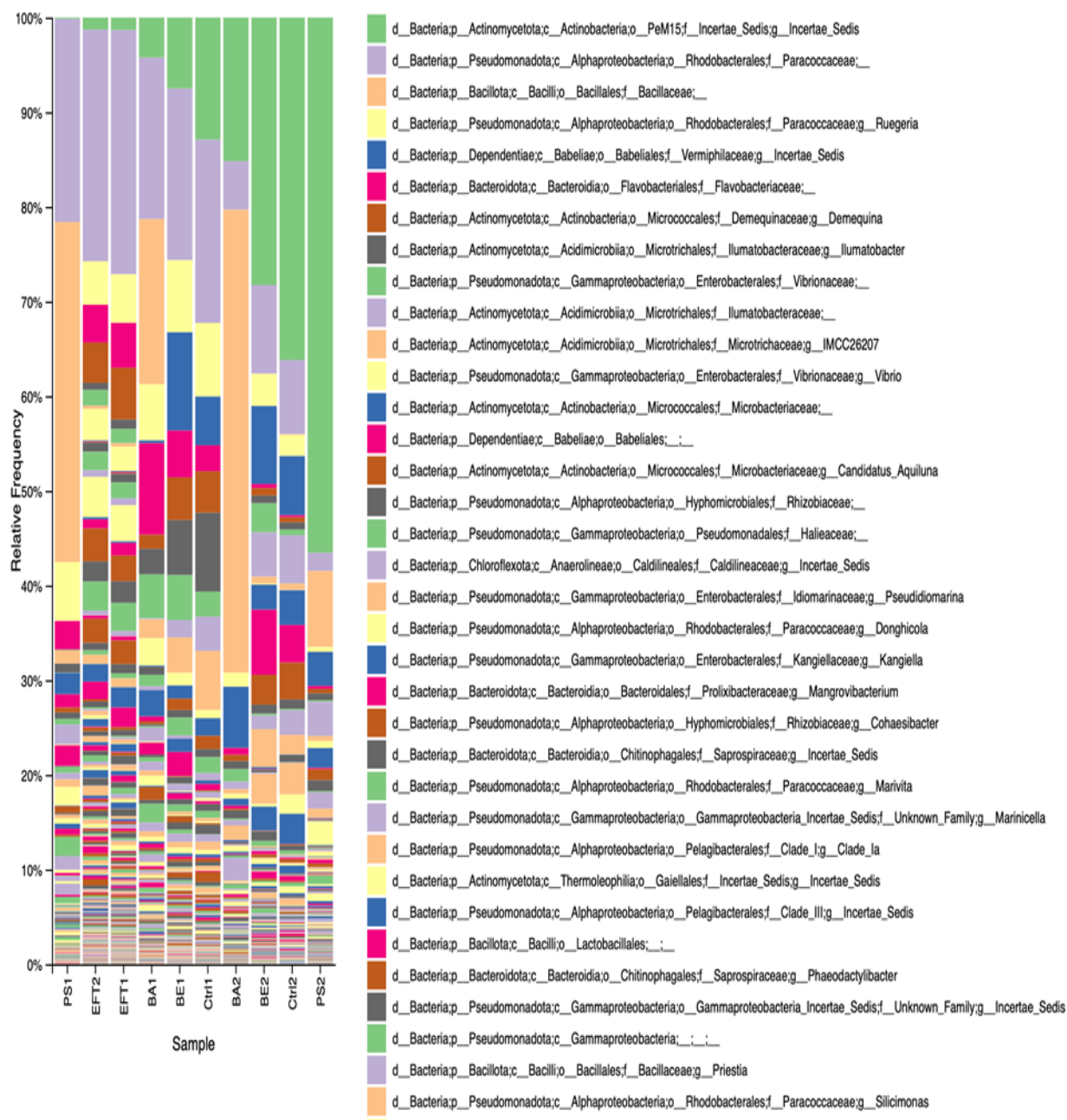
La relación entre la composición microbiana y los tratamientos aplicados revela patrones claros de selección ecológica que explican la dominancia diferencial de ciertos géneros. En el caso de la bioestimulación (BE), la disponibilidad incrementada de nutrientes parece favorecer una comunidad más diversa compuesta principalmente por géneros generalistas como *Ruegeria*, *Llumatobacter* y *Pseudidiomarina*, cuya coexistencia sugiere la ampliación de nichos metabólicos y una mayor estabilidad ecológica del sistema, tal como se ha documentado en estudios donde los aportes externos de recursos mantienen ensamblajes microbianos equitativos y funcionalmente distribuidos (Rieder et al., 2023). Por otro lado, la bioaumentación (BA) promueve la rápida expansión de géneros robustos como *Bacillus* y *Priestia*, lo cual es consistente con la inoculación de cepas altamente enzimáticas, resistentes al estrés y capaces de degradar compuestos orgánicos complejos, propiedades que aceleran los procesos de biorremediación y optimizan la remoción de nutrientes y contaminantes en ambientes acuícolas intensivos (Elsegeny et al., 2025).

El proceso simultáneo (PS), que combina BE y BA, genera un ensamblaje menos diverso, pero altamente funcional, dominado por taxones competitivos como *Bacillus*, lo que maximiza la eficiencia de remoción de contaminantes y coincide con la reducción más marcada de *Vibrio*, un indicador clave de mejora microbiológica y sanitaria del efluente (Rajonhson et al., 2024). La sucesión temporal observada, con aumentos notorios en Incertae_Sedis y disminuciones en *Paracoccaceae* durante el tiempo 2, refuerza esta dinámica, sugiriendo que la progresión del tratamiento impulsa la proliferación de linajes especialistas adaptados a la disponibilidad decreciente de sustratos y a condiciones fisicoquímicas más restrictivas, un patrón descrito en ecosistemas sometidos a perturbación controlada y biorremediación avanzada (McDonald et al., 2018). En conjunto, estos resultados muestran que los tratamientos no solo modifican la estructura del microbioma, sino que también orientan su funcionalidad, generando

perfiles comunitarios cuya composición refleja directamente el desempeño y la direccionalidad ecológica del proceso de remediación.

Figura 5

Composición de la abundancia y diversidad bacteriana a nivel de género observadas en los diferentes tratamientos y efluente (EFT). Ctrl (Control), BA (Bioaumentación), BE (Bioestimulación) y PS (Proceso simultáneo). 1: Tiempo1, 2: Tiempo 2



4.12.5.3. Interpretación de la composición microbiana

La composición microbiana observada refleja un proceso de reorganización ecológica característico de sistemas sometidos a biorremediación, en el cual la reducción de la diversidad global favorece la proliferación de taxones funcionalmente especializados capaces de optimizar rutas metabólicas específicas, tal como se ha descrito para comunidades microbianas sometidas a filtrado ambiental y presión selectiva en sistemas dinámicos (Ramond et al., 2024; Louca et al., 2018).

En este contexto, el incremento de *Bacillus* y *Priestia* en los tratamientos BA y PS coincide con evidencia que muestra que estos géneros poseen alta capacidad para degradar compuestos orgánicos, participar en la mineralización de nutrientes y tolerar condiciones de estrés, funciones que explican su éxito competitivo en ambientes acuícolas intensificados y su eficacia como agentes de biorremediación (Petit et al., 2024; Esquén Bayona et al., 2026).

Asimismo, la reducción sostenida de *Vibrio*, un género con múltiples especies patógenas relevantes en la camaronicultura, constituye un indicador positivo de estabilización microbiológica del efluente. Ello concuerda con estudios que demuestran que la intensificación de procesos metabólicos beneficiosos y la colonización por taxones competitivos, incluyendo probióticos del género *Bacillus*, reduce significativamente la oportunidad de proliferación de *Vibrio* y otros patógenos acuáticos (Behera y Nayak, 2020; Petit et al., 2024).

La sucesión temporal observada, particularmente el descenso de *Paracoccaceae* y el incremento de géneros clasificados como *Incertae sedis*, indica una transición hacia comunidades más especializadas conforme el tratamiento avanza. Este patrón refleja mecanismos reconocidos de sucesión microbiana en sistemas sometidos a perturbación controlada, donde la reducción de sustratos fácilmente disponibles y los cambios fisicoquímicos seleccionan linajes adaptados a condiciones más restrictivas (Rieder et al., 2023).

El aumento de *Ruegeria*, observado en algunos tratamientos, es coherente con reportes que identifican a este género como un candidato prometedor para procesos de desnitrificación y remoción de nitrógeno en acuicultura intensiva, debido a su papel en el ciclo nitrogenado y su capacidad para establecer

interacciones metabólicas beneficiosas en ambientes marinos (Zheng et al., 2023). De manera similar, la presencia de *Pseudidiomarina* coincide con estudios que muestran que este género posee rutas metabólicas relacionadas con la reducción de nitratos y la asimilación de nitrógeno en condiciones de alta salinidad y bajos recursos, lo cual respalda su aparición en etapas avanzadas del tratamiento (Galisteo et al., 2024).

En términos de gestión ambiental, estas dinámicas permiten inferir que BE tiende a mantener comunidades más equilibradas y diversas que favorecen funciones distribuidas en múltiples taxones; BA, por su parte, genera comunidades dominadas por géneros robustos como *Bacillus* y *Priestia*, lo cual acelera la remoción de compuestos nitrogenados; mientras que PS combina ambos efectos y produce ensamblajes altamente funcionales pero menos diversos, optimizando la eficiencia de remoción a costa de la resiliencia ecológica (Rieder et al., 2023).

Este conjunto de resultados coincide con estudios metagenómicos en estanques de *P. vannamei*, donde se ha demostrado que la estructura microbiana responde fuertemente al régimen de manejo y puede servir como bioindicador para anticipar brotes y orientar decisiones operativas, especialmente mediante el seguimiento de patógenos como *Vibrio* (Rajonhson et al., 2024). Asimismo, la evidencia en acuicultura costera destaca que incorporar la abundancia de *Vibrio* como indicador complementario de calidad del agua mejora la vigilancia microbiológica y el control preventivo de riesgos sanitarios (Purgar et al., 2023; Sanches-Fernandes et al., 2022).

Finalmente, revisiones recientes sobre ciclo del nitrógeno en efluentes acuícolas subrayan que la gestión adaptativa basada en información metagenómica (biofloc, biopelículas, consorcio algal-bacterianos, recambios modulados) incrementa la eficiencia de remoción de nitrógeno y mejora la estabilidad del sistema, la seguridad microbiológica y el desempeño ambiental de los efluentes acuícolas coherentemente con los patrones observados en los tratamientos BE, BA y PS (Huang et al., 2024).

V. CONCLUSIONES

1. El efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei* presentó inicialmente altas concentraciones de sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, fosfatos, amoníaco y coliformes termotolerantes, mientras que los nitritos, nitratos y sulfuros registraron bajas concentraciones. La biorremediación redujo significativamente la carga contaminante; sin embargo, las concentraciones finales de sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno y coliformes termotolerantes superaron los valores de referencia establecidos en los ECA para agua, Categoría 2, Subcategoría C2.
2. Durante el periodo experimental, la temperatura (29,96 °C), el oxígeno disuelto (2,58 mg/l), el pH (8,06) y la salinidad (35 g/l) se mantuvieron dentro de rangos compatibles con el desarrollo de comunidades microbianas, proporcionando condiciones adecuadas para los procesos biológicos de degradación de la materia orgánica y la transformación de nutrientes.
3. El análisis metagenómico evidenció una reorganización de la comunidad microbiana, caracterizada por el predominio de los filos Pseudomonadota, Bacteroidota y Actinomycetota en el efluente inicial, y por el incremento de Bacillota, con predominio de los géneros *Bacillus* y *Priestia*, acompañado de una disminución de *Vibrio* en los tratamientos de bioaumentación y proceso simultáneo.
4. La eficiencia de remoción estuvo determinada por la estrategia de biorremediación aplicada. El proceso simultáneo de bioestimulación y bioaumentación presentó el mejor desempeño, con remociones de 88,56 % para los sólidos suspendidos totales, 70,53 % para la demanda bioquímica de oxígeno y 51,02 % para los fosfatos, lo que confirma que la aplicación conjunta de ambas estrategias constituyó la alternativa más eficiente para la biorremediación del efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Optimizar la aplicación de las estrategias de bioestimulación, bioaumentación y su aplicación conjunta mediante ensayos a mayor escala y con periodos experimentales más prolongados, evaluando diferentes concentraciones de nutrientes, dosis de microorganismos y condiciones operativas que incrementen la eficiencia de remoción de los contaminantes presentes en el efluente.
2. Evaluar la integración de la biorremediación con tecnologías complementarias, como la biofiltración y la fitorremediación, con el propósito de incrementar la remoción de fósforo y otros contaminantes residuales presentes en el efluente del cultivo intensivo de *Penaeus vannamei*.
3. Realizar evaluaciones periódicas de la estructura y diversidad de la comunidad microbiana mediante herramientas metagenómicas, a fin de monitorear los cambios asociados a las estrategias de biorremediación y generar información que contribuya a la optimización del tratamiento.
4. Incorporar las estrategias de bioestimulación, bioaumentación y su aplicación conjunta en los programas de gestión ambiental de los sistemas acuícolas, como medidas orientadas a mejorar el desempeño ambiental del tratamiento de efluentes y contribuir al cumplimiento de los estándares ambientales aplicables.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso Fernández, A., Palacios Arrieta, D., y Guadalupe Martínez, N. (2023). Biorremediación en aguas residuales acuícolas: una revisión. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 8538–8568.
- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater (23rd ed.)*. APHA Press.
<https://books.google.com/books?id=V2LhtAEACAAJ>.
- Anh, P. T., et al. (2021). Bioaugmentation with nitrifying and denitrifying microbial consortia for mitigation of nitrogenous metabolites in shrimp ponds. *Aquaculture*, 736819. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736819>.
- Autoridad Nacional del Agua. (2024). Informe de monitoreo de calidad de agua en ecosistemas costeros del norte del Perú. ANA. <https://www.gob.pe/ana>.
- Baca, K. (2019). Eficiencia de la bioaumentación y bioestimulación en la biodegradación de petróleo por bacterias nativas, provincias de Talara, región Piura. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Trujillo].
- Barba, S., Villaseñor, J., Rodrigo, M. A., y Cañizares, P. (2021). Bioestimulación versus bioaumentación para la electrobiorremediación de suelos contaminados con ácido 2,4-diclorofenoxiacético. *Gestión ambiental*, 277, 111424. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111424>.
- Barreto, F., Santos, M., & Oliveira, L. (2025). Efficiency of biological treatment systems in aquaculture effluents. *Aquaculture Reports*, 32, 101234. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.101234>.

- Behera, B. K., & Nayak, S. K. (2020). Role of probiotics in aquaculture. *Aquaculture Research*, 51, 1–18. <https://doi.org/10.1111/are.14413>.
- Billery, C., Gaval, G., Hamelin, J., & Milferstedt, K. (2025). Phototrophic aggregates for wastewater treatment: Identifying key parameters for formation and characterization. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 24, 425–450. <https://doi.org/10.1007/s11157-025-09728-4>.
- Boyd, C. E. (2001). Water quality standards: Total suspended solids. *Global Aquaculture Advocate*. <https://www.globalseafood.org/advocate/water-quality-standards-total-suspended-solids/>.
- Boyd, C. E. (2003). Guidelines for aquaculture effluent management at the farm level. *Aquaculture*, 226(1–4), 101–112.
- Boyd, C. E. (2015). Handbook for aquaculture water quality. C. E. Boyd & Associates. <https://books.google.com/books?id=EkrNoAEACAAJ>.
- Boyd, C. E. (2015). Water quality: An introduction (2nd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-17446-4>.
- Boyd, C. E. (2020). Water quality: an introduction. Third edition. Springer Science &
- Brandão, H., Gomes dos Reis, W., Krummenauer, D., & Wasielesky, W. (2023). Growth performance of *Litopenaeus vannamei* under biofloc system using denitrified seawater. *Aquaculture International*. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01315-0>.
- Buetas, E., Jordán-López, M., López-Roldán, A., D'Auria, G., Martínez-Priego, L., De Marco, G., Carda-Diéguez, M., & Mira, A. (2024). Full-length 16S rRNA gene sequencing by PacBio improves taxonomic resolution in human microbiome samples. *BMC Genomics*, 25, 310. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10213-5>.

- Cameron, E. S., Schmidt, P. J., Tremblay, B. J., et al. (2021). Global mismatches between microbial diversity and functions. *Nature Communications*, 12, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23728-5>.
- Kavitha, T. R., Chandana, R., Chethan, D., Sunitha, T. R., Kranti, K. V. V. S., & Suneetha, C. (2024). Alpha diversity analysis using Shannon index for each species in the rhizosphere soil. En D. Dharumadurai & A. S. Narayanan (Eds.), *Plant microbiome engineering: Methods and protocols* (pp. 293–298). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4180-4_36.
- Kers, J. G., & Saccenti, E. (2022). The power of microbiome studies: Some considerations on which diversity measures to use. *mSystems*, 7(2), e01204-21. <https://doi.org/10.1128/msystems.01204-21>.
- Chen, Z., Li, J., Zhai, Q., Chang, Z., & Li, J. (2024). Nitrogen cycling process and application in different prawn culture modes. *Reviews in Aquaculture*, 16(4), 1785-1805.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P., & Verstraete, W. (2012). Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356, 351-356.
- Deng, Y., Xu, X., Yin, X., & Chen, J. (2020). Salinity effects on microbial communities in aquaculture systems. *Aquaculture Research*, 51(3), 987–999.
- Dwiardani, K. H., Prayogo, & Rahardja, B. S. (2021). Utilization of *Nitrosomonas* sp and *Nitrobacter* sp probiotic towards total suspended solid and ammonia level in Nile tilapia culturing using aquaponic system. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 679, No. 1, p. 012067). IOP Publishing. Bioaugmentation with native *Bacillus* strains enhance nitrate and

- nitrite removal and reshape microbiomes in low-salinity shrimp cultures: Elucidating genetic mechanisms.
- Esquén Bayona, D. A., Ancajima, D. T., Cadena, D. A., Dominguez-Mendoza, L., Leyva, S., Somocurcio Zambrano, M. M., ... & Diringer, B. M. (2026). Bioaugmentation with native *Bacillus* strains enhance nitrate and nitrite removal and reshape microbiomes in low-salinity shrimp cultures: Elucidating genetic mechanisms. *PLoS One*, 21(1), e0339620.
- Elsegeny, S. R., Radwan, F. S., Elshamy, Y. M., Amer, S. M., Mohamed, R. A., Shokrak, N. M., & Abdella, B. (2025). A comprehensive overview of probiotics in aquaculture: from efficacy evaluation to diverse applications. *Annals of Microbiology*, 75, 35. <https://doi.org/10.1186/s13213-025-01825-7>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). The state of world fisheries and aquaculture. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. <https://www.fao.org/publications/home/fao-flagship-publications/the-state-of-world-fisheries-and-aquaculture/es>.
- Fernández, M., Rojas, L., & Sánchez, A. (2023). Evaluation of sulfide dynamics in coastal marine environments: Implications for water quality management. *Marine Pollution Bulletin*, 186, 114501. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114501>.
- Ferreira, M., Melo, F., Lima, J., Andrade, H., Severi, W., y Correia, E. (2017). Biorremediación y biocontrol de probióticos comerciales en el cultivo de camarón marino con biofloc. *Revista Latinoamericana de Investigación Acuática*, 45(1), 167-176. <https://doi.org/10.3856/vol45-issue1-fulltext-16>.
- Galisteo, C., de la Haba, R. R., Ventosa, A., & Sánchez-Porro, C. (2024). The hypersaline soils of the Odiel Saltmarshes Natural Area as a source for uncovering a new taxon: *Pseudidiomarina terrestris* sp. nov. *Microorganisms*, 12(2), 375. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020375>

- García, F., Torres, P., & Medina, J. (2021). Anthropogenic influences on nitrate variability in tropical coastal waters. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(45), 63540–63553.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14895-4>García et al., 2021.
- Gauthier, J., & Derome, N. (2021). Drivers of diversity in microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 12, 658. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.658>.
- Gogoi, P., et al. (2021). Water quality dynamics and nutrient accumulation in intensive shrimp farming systems. *Aquaculture Research*, 52(7), 3178–3190.
<https://doi.org/10.1111/are.15170>.
- Gonzales Gómez, G. J. E. (2025). Calidad microbiológica del agua del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes y sensibilidad antibiótica de bacterias patógenas aisladas [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Tumbes]. Repositorio Institucional UNTumbes.
<https://repositorio.untumbes.edu.pe/items/8689df0d-892c-4ff2-b84b-ce392a3bc9a0>.
- Gualán, J., Romero, A., y Sorroza, L. (2025). Evaluación de un Consorcio de Bacillus Aisladas del Manglar de Puerto Hualtaco para Reducir la Materia Orgánica en Sedimentos Acuícolas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 9(1), 6895-6910.
https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i1.16376.
- Helsel, D. R. (2012). Statistics for censored environmental data using Minitab and R (2nd ed.). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118162729>.
- Huang, Z., et al. (2024). Nitrogen cycling in aquaculture systems. *Science of the Total Environment*, 906, 167492.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167492>

- Ismail, M. M., El-Sayed, A. F. M., & Dytham, C. (2022). Ammonia toxicity in aquatic organisms: A review. *Aquaculture Research*, 53(2), 447–460. <https://doi.org/10.1111/are.15550>.
- Jiang, X., et al. (2019). Impact of DNA extraction methods on microbial community profiling. *Microbiome*, 7, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0667-3>.
- Kers, J. G., & Saccenti, E. (2022). The power of microbiome studies: Some considerations on which diversity measures to use. *mSystems*, 7(2), e01204-21. <https://doi.org/10.1128/msystems.01204-21>
- Lananan, F., Abdul Hamid, S. H., Din, W. N. S., Ali, N., Khatoon, H., Jusoh, A., & Endut, A. (2014). Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater using effective microorganisms (EM-1) and *Chlorella* sp. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.013>
- Li, B., Li, L., Li, P., Dong, L., Xue, M., Liu, X., ... & Liu, X. (2025). The overlooked contribution of aquaculture to phosphorus pollution in estuary water with phosphate oxygen isotope. *Science of The Total Environment*, 968, 178905.
- Liao, L., Song, J., Qiu, R., Liu, C., Li, T., & Pan, L. (2025). Synthetic microbial communities for simultaneous nitrogen removal and pathogen control: Probiotic isolation, efficacy analysis, consortium construction and application potential. *Journal of Water Process Engineering*, 77, 106872.
- Liu, Y., Li, X., & Zhang, Y. (2024). Organic matter degradation and microbial metabolism in aquaculture wastewater treatment systems. *Bioresource Technology*, 390, 129889. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129889>.
- López, D., Martínez, R., & Castillo, V. (2022). Toxicity thresholds of ammonia for marine shrimp species: A review. *Aquaculture Reports*, 25, 101160. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101160>.

- Louca, S., Polz, M. F., Mazel, F., et al. (2018). Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 936–943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>.
- Luo, K., Cui, L., Wang, M., Xie, Y., Li, M., Liu, Y., ... & Tian, X. (2025). In-situ aquaculture treatment: Co-addition of autotrophic and heterotrophic bacteria with biodegradable polymers (PHBV) to *Penaeus vannamei* culture systems. *Aquaculture*, 743159.
- Martínez-Córdova, L. R., Emerenciano, M., Miranda-Baeza, A., & Martínez-Porchas, M. (2011). Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: An updated review. *Reviews in Aquaculture*, 3(3–4), 136–148. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2011.01058.x>.
- McDonald, D., et al. (2018). American Gut: an Open Platform for Citizen Science Microbiome Research. *mSystems*, 3(3), e00031-18. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00031-18>
- Metcalf & Eddy, Inc., Tchobanoglous, G., Stensel, H. D., Tsuchihashi, R., & Burton, F. L. (2014). Wastewater engineering: Treatment and resource recovery (5th ed.). McGraw-Hill Education. <https://www.mheducation.com/highered/product/wastewater-engineering-treatment-and-resource-recovery-metcalf-and-eddy.html>.
- Ministerio del Ambiente. (2017). Decreto Supremo N.º 004-2017-MINAM: Estándares de calidad ambiental para agua. Gobierno del Perú. <https://www.gob.pe/institucion/minam/normas-legales/3671-004-2017-minam>.
- Muter, O. (2023). Tendencias actuales en herramientas de bioaumentación para la biorremediación: Una revisión crítica de los avances y las lagunas de conocimiento. *Microorganisms*, 11(3), 710. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030710>.

- Navarrete, J., Noles Aguilar, P., Delgado Villafuerte, C., Hernández de Guerrero, N., y Guerrero-Ríos, R. (2022). *Biorremediación de efluentes del cultivo de camarón por medio de consorcios microbianos autóctonos y microalgas nativas en Manabí, Ecuador*. *AquaTechnica*, 4(1), 53–65. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8421381.pdf>.
- Noriega Alcántara, J. (2021). *Biorremediación de los efluentes de cultivo del camarón *LitoPenaeus vannamei* (Boone, 1931) utilizando tapetes microbianos en un sistema de recirculación* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Tumbes, Perú.
- Oliveira, R. P. O. S., et al. (2023). Resilience and nitrogen removal in microalgae–bacteria granular sludge systems. *Water Research*, 234, 119736. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119736>.
- Panigrahi, A., et al. (2021). Microalgae and probiotic bacteria as biofloc inducers in hyper-intensive culture of *Penaeus vannamei*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 49(1), 155–168. <https://doi.org/10.3856/vol49-issue1-fulltext-2442>.
- Patil, P. K., Antony, L., Avunje, S., Viswanathan, B., Lalitha, N., Jangam, A. K., Kumar, D., Solanki, H. G., Reddy, M. A., Alavandi, S. V., & Vijayan, K. K. (2021). Bioaugmentation with nitrifying and denitrifying microbial consortia for mitigation of nitrogenous metabolites in shrimp ponds. *Aquaculture*, 541, 736819.
- Pekkhon, J., Chaichana, C., Thurakit, T., Phinyo, K., Lomakool, S., Ruangrit, K., Duangjan, K., Suwannarach, N., Kumla, J., Cheirsilp, B. y Srinuanpan, S. (2022). Estrategia de bioaumentación dual para mejorar la formación de biofloc de simbiosis alga-bacteria en aguas residuales de acuicultura suplementadas con desechos agrícolas como fuentes alternativas de nutrientes y materiales de soporte de biomasa. *Bioresource Technology*, 359, 127469. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127469>.

Ministerio de la Producción. (2024). Anuario estadístico pesquero y acuícola 2024. PRODUCE.

Purgar, M., Gavrilović, A., Kapetanović, D., Klanjšček, J., Jug-Dujaković, J., Kolda, A., Žunić, J., Kazazić, S., Vardić Smrzlić, I., Vukić Lušić, D., Pikelj, K., Listeš, E., El-Matbouli, M., Lillehaug, A., Lončarević, S., Knežević, D., Hengl, B., Geček, S., & Klanjšček, T. (2023). Assessment of *Vibrio* spp. abundance as a water quality indicator: Insights from Mali Ston Bay in the Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 295, 108558. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2023.108558>.

Rajonhson, D. M., Angthong, P., Thepsuwan, T., Sutheeworapong, S., Satanwat, P., Tapaneeyaworawong, P., Powtongsook, S., Kruasuwan, W., Jenjaroenpun, P., Wongsurawat, T., Chaiyapechara, S., & Rungrassamee, W. (2024). Integrating short- and full-length 16S rRNA gene sequencing to elucidate microbiome profiles in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds. *Microbiology Spectrum*, 12(11). <https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.00965-24>.

Rapiz, F. G. B., Verzosa, R. C., Nemenzo-Calica, P., & Clapano, M. B. (2025). Physico-chemical analysis of water in *Litopenaeus vannamei* ponds in Dahican, City of Mati, Davao Oriental, the Philippines. *Philippine Journal of Science*, 154(1), 135-147.

Raña, J. A., Domingo, J. E., Opinion, A. G. R., & Cambia, F. D. (2016). Contamination of coliform bacteria in water and fishery resources in Manila Bay aquaculture farms. *The Philippine Journal of Fisheries*, 24(2), 98–126.

Rieder, J., Kapopoulou, A., Bank, C., & Adrian-Kalchhauser, I. (2023). Metagenomics and metabarcoding experimental choices and their impact on microbial community characterization in freshwater recirculating aquaculture systems. *Environmental Microbiome*, 18, Article 59. <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00459-z>.

- Sanches-Fernandes, G. M., et al. (2022). Vibrio dynamics in aquaculture systems. *Aquaculture Reports*, 23, 101078.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101078>.
- Sena, A., Oliveira, D., Santos, M., y Lima, J. (2024). Comparative study of chemoautotrophic and heterotrophic biofloc systems in *Penaeus vannamei* and *Oreochromis niloticus* integrated culture. *Fishes*, 9(12), 478.
<https://doi.org/10.3390/fishes9120478>.
- Shan, H., Du, Y., Li, T., Wang, F., Li, H., & Wang, H. (2024). Bacterial community characteristics and roles in nitrogen transformation in industrial farming systems of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Marine Science and Engineering*, 12(5), 787. <https://doi.org/10.3390/jmse12050787>.
- Soaudy, M. R., Ghonimy, A., López Greco, L. S., Chen, Z., Dyzenchauz, A., & Li, J. (2023). Total suspended solids and their impact in a biofloc system: Current and potentially new management strategies. *Aquaculture*, 739524.
- Soaudy, M. R., & Ghonimy, A. (2026). Microbial activities integration among aquaculture systems for better sustainability – A review. *Annals of Animal Science*, 157–172.
- Sociedad Nacional de Acuicultura. (2024). El cultivo de langostino blanco y su importancia económica en la región Tumbes.
<https://www.oannes.org.pe/noticias/pesca-y-acuicultura/peru-una-crisis-sin-precedentes-en-el-sector-acuicola-de-langostinos-afecta-el-dinamismo-economico-en-especial-en-la-region-tumbes/>.
- Su, X., Wang, S., Cheng, X., Song, J., Li, Q., Yao, G., Han, R., & Wu, Y. (2025). Improved nitrogen removal from real mariculture effluent by halotolerant bacterial consortium SND223: Preparation, entrapping application, and mechanism. *Bioresource Technology*, 437, 133170.

- Summerfelt, S. T., & Penne, C. R. (2008). Design and management of conventional fluidized-sand biofilters. *Aquacultural Engineering*.
- Sun, Z., Hu, X., Xu, Y., Wen, G., & Cao, Y. (2024). Purification effect of fish–algae coupling on nitrogen and phosphorus in shrimp aquaculture effluent. *Fishes*, 9(12), 490. <https://doi.org/10.3390/fishes9120490>
- Thakur, D., et al. (2023). Nutrient enrichment and hypoxia in coastal waters influenced by aquaculture effluents. *Marine Pollution Bulletin*, 188, 114621. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114621>
- Vargas Collantes, R. G. (2022). La contaminación de ambientes frágiles: El caso de la industria langostinera en la zona de amortiguamiento del Área Natural Protegida Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, Perú [Tesis de maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú]. <https://tesis.pucp.edu.pe/bitstreams/90f35bb7-8a7d-4725-be1c-215b6ad8b91e/download>.
- Vinatea, L. (2006). Calidad de agua para acuicultura (2ª ed.). Universidad de São Paulo.
- Wang, C., et al. (2022). Nitrogen removal and microbial functional genes in recirculating aquaculture systems. *Science of the Total Environment*, 824, 153912. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153912>.
- World Bank. (2023). Blue economy and aquaculture development report. World Bank.
- Zhang, X., et al. (2024). Microorganism-mediated denitrogenation in aquaculture systems. *Clean Water*, 7, 43. <https://doi.org/10.1038/s41545-024-00339-0>.
- Zhao, H., Chen, Y., & Li, X. (2023). Handling censored environmental data: Best practices for monitoring and risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195, 150. <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11000-5>.

Zheng, X., Yan, Z., Zhao, C., He, L., Lin, Z., & Liu, M. (2023). Homogeneous environmental selection mainly determines the denitrifying bacterial community in intensive aquaculture water. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1280450. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1280450>