

# Biorremediación del agua recirculante en cultivo de camarón blanco utilizando microbiota autóctona del mangle rojo

## Bioremediation of water recirculation in white shrimp culture using autochthonous microbiota of red mangrove

W. Torres <sup>1</sup>, O. Tinoco <sup>2</sup>, A. Huamantínco <sup>3</sup>, E. Mialhe <sup>4</sup>, L. Conde <sup>5</sup>

Recibido: Setiembre 2018 - Aprobado: Noviembre 2018

### RESUMEN

La actividad acuícola en el cultivo del camarón blanco utilizando agua recirculante deteriora la calidad del agua por la acción hidrodinámica agua-metabolitos-materia orgánica, que generan impactos negativos en la producción del crustáceo. El objetivo de esta investigación es demostrar que la microbiota autóctona extraída del mangle rojo estimula la biorremediación. Para este fin se sometió la microbiota a un proceso de bioaumentación que enriquece su biodiversidad, de tal forma que al ser utilizada garantice la actividad biorremediadora. La aplicación del tratamiento se inicia con el diagnóstico de calidad del agua en las diferentes etapas del proceso, a través del monitoreo de compuestos tóxicos como, amonio, nitritos y nitratos y la evaluación de la biodiversidad microbiana utilizando técnicas metagenómicas como la Prueba de Reacción de la Polimerasa, Electroforesis en la comprobación del ADN y su secuenciación mediante la técnica ILLUMINA. Los resultados revelan que los parámetros tóxicos mantienen niveles óptimos de calidad con la aplicación de la microbiota compuesta por 1780 especies microbianas. Estadísticamente se demostró la disminución significativa de niveles de compuestos tóxicos que comprueba la hipótesis, de que la microbiota del mangle rojo actúa eficazmente en la biorremediación del agua en el cultivo de camarón blanco.

**Palabras clave:** Bioaumentación; biodiversidad. microbiota; metagenómica; secuenciación.

### ABSTRACT

The aquaculture activity in the white shrimp culture using recirculating water deteriorates the quality of the water by the hydrodynamic action of water-metabolites-organic matter, which generate negative impacts on the production of the crustacean. The objective of this research is to demonstrate that the autochthonous microbiota extracted from the red mangrove stimulates bioremediation. For this purpose, the microbiota was subjected to a process of bioaugmentation that enriches its biodiversity, so that when used, it guarantees bioremediation activity. The application of the treatment begins with the diagnosis of water quality in the different stages of the process, through the monitoring of toxic compounds such as ammonium, nitrites and nitrates and the evaluation of microbial biodiversity using metagenomic techniques such as the Reaction Test of the Polymerase, Electrophoresis in DNA testing and sequencing using the ILLUMINA technique. The results reveal that the toxic parameters maintain optimum levels of quality with the application of the microbiota composed of 1780 microbial species. Statistically it was demonstrated the significant decrease of levels of toxic compounds that the hypothesis proves, that the red mangrove microbiota acts efficiently in the bioremediation of water in the white shrimp culture.

**Key words:** Bioaumentación; biodiversity. microbiota; metagenomic; sequencing.

<sup>1</sup> UTMachala. E-mail: wtorres@utmachala.edu.ec

<sup>2</sup> Universidad Nacional Mayor de San Marcos. E-mail: otinocog@unmsm.edu.pe

<sup>3</sup> Universidad Nacional Mayor de San Marcos. E-mail: ahuamantíncoa1@unmsm.edu.pe

<sup>4</sup> IncaBiotec SAC. E-mail: ericmialhe@yahoo.fr

<sup>5</sup> IncaBiotec SAC. E-mail: liviahcm.1977@gmail.com

## I. INTRODUCCIÓN

La producción acuícola del camarón blanco enfrenta serios problemas ambientales en los sistemas de producción, debido a la generación de compuestos tóxicos nocivos para la especie, como producto de la actividad hidrodinámica de los metabolitos originados en la nutrición que al ser degradados estimula la acumulación de la materia orgánica y su oxidación genera amonio, nitritos y nitratos, que afecta la calidad del agua y la producción acuícola. Diversas estrategias se han implementado en los sistemas de producción, entre ellos el de recirculación de agua que incluye el uso de probióticos como los consorcios microbianos que conlleva a obtener mayor rendimiento en la producción, disminuir la contaminación del agua, suelo y medio ambiente. Vershuere, Rombaut, Sorgeloos y Verstraete (2000) definen a un probiótico como el “suplemento microbiano vivo que tiene efectos beneficiosos en el hospedador modificando la flora asociada al mismo y la flora asociada al ambiente”. Posteriormente, Reid, Jass, Sebelsky y McCormick (2003) incluyen la frase “cuando son administradas en cantidades adecuadas confieren un beneficio saludable para el hospedador”.

En este ámbito se estima que la aplicación de estrategias no contaminantes, estimula la disminución de niveles de metabolitos tóxicos, tal como estipula los procedimientos de Buenas Prácticas de Producción (BPP). Entre las técnicas más utilizadas en este campo está la **Biorremediación**, definida como una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos como bacterias, hongos y levaduras, para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples, cuyo efecto tóxico es disminuido o eliminado (Glazer y Nikaido, 2007).

El objetivo de esta investigación es determinar que la microbiota autóctona del ecosistema del mangle rojo extraída del estuario del río Chaguana, estimula la biorremediación del agua recirculante en el cultivo de camarón blanco. La hipótesis general plantea que la microbiota autóctona del mangle rojo estimula la biorremediación del agua favoreciendo la degradación y oxidación de la materia orgánica manteniendo la calidad del agua en condiciones óptimas para el cultivo del camarón blanco. Los resultados de la investigación permiten beneficiar al sector productivo acuícola al mantener la calidad de agua en condiciones óptimas para la producción del camarón blanco, garantizando la seguridad alimentaria y desarrollo socioeconómico. En el ámbito medioambiental las estrategias de biorremediación también es aplicable en la conservación de suelos y en la industria agropecuaria, por lo que se relaciona con estudios como: “Impacto del Dren 4000 al Ecosistema Marino de la Caleta Santa Rosa, Lambayeque y Alternativas de Recuperación” (Nizama y Cabrera, 2018). “Evaluación de la carga bacteriana y resistencia a antibióticos de bacterias aisladas en zonas marinas de alta influencia de producción larvaria en Ecuador” (Mendoza, Tinoco y Nieto, 2016). “Actividades agropecuarias del Sitio «La Bóveda» y su incidencia en la calidad del agua de escorrentía al embalse Sixto Durán Ballén” (Espinel, Cabrera, y Aguilar, 2017).

## II. MÉTODOS

De acuerdo al diseño experimental la metodología aplicada se realiza en tres fases: Diagnóstico de la calidad del agua, Biorremediación del agua previo la siembra del camarón y Biorremediación en la fase de producción.

### 2.1 Primera fase:

El diagnóstico de la calidad del agua previo a la aplicación de la microbiota para la biorremediación, se realiza a través del monitoreo de los parámetros tóxicos del agua recirculante en el canal de recolección, sedimentador y reservorio, utilizando un espectrofotómetro multiparámetro.

### 2.2 Segunda fase:

Corresponde a la biorremediación del agua en el canal de recolección, sedimentador y reservorio, mediante la aplicación de la microbiota bioaumentada en función del nivel de los parámetros nitrogenados tóxicos monitoreados, hasta estabilizar en concentraciones óptimas para el cultivo del camarón.

### 2.3 Tercera fase:

Comprende el monitoreo de los parámetros nitrogenados tóxicos en la piscina de producción, donde se mantiene el agua recirculante en condiciones óptimas para el desarrollo de la especie sembrada y para lo cual se adiciona periódicamente la microbiota bioaumentada a partir de la semana cero y durante todo el proceso de la producción, hasta su cosecha final. Paralelamente se recolecta muestras de sedimento, agua recirculante y del producto, para el análisis metagenómico que permite la caracterización de la biodiversidad microbiana. Para la extracción del ADN se aplica la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasas (PCR) y se comprueba su calidad por electroforesis. La secuenciación del ADN extraído se realiza a través de la técnica ILLUMINA.

## III. RESULTADOS

Los datos obtenidos en las diferentes fases de la experimentación permiten evaluar la calidad del agua, estimar la biorremediación utilizando la microbiota bioaumentada y determinar la biodiversidad microbiana.

En referencia al análisis de los parámetros fisicoquímicos del canal recolector de agua, sedimentador y reservorio, previo al tratamiento de la biorremediación, se evidencia alto índice de turbidez en referencia a la Escala del Disco de Secchi (ver Tabla 1, Gráfico 1).

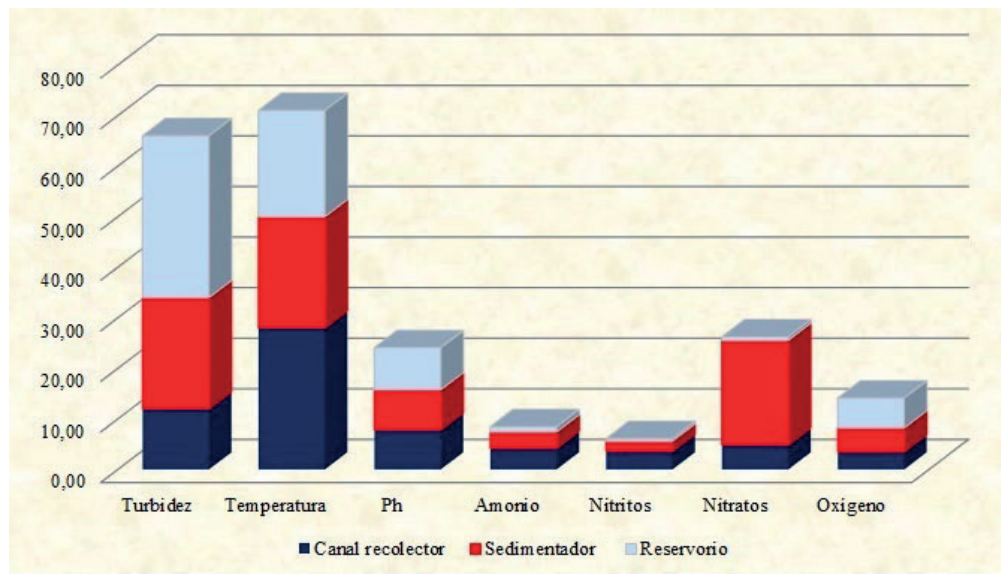
En la Tabla 1, se evidencia turbidez entre 12.00 y 32.00 cm (Escala del Disco de Secchi), la temperatura promedio 24°C, el pH se mantiene en 8.3 en el reservorio, el oxígeno disuelto por debajo de 3.2 mg/L, el amonio promedio 4.20 mg/L, nitritos 3.6 mg/L y los nitratos 4.85 mg/L, concluyéndose que la calidad del agua está afectada en el 86%.

La adición de la microbiota bioaumentada constituye la iniciación de la biorremediación de la calidad del agua recirculante a utilizarse en el cultivo del camarón blanco. Se inicia en el canal de recolección del agua recirculante,

**Tabla 1.** Parámetros fisicoquímicos del agua recirculante en la fase previa de diagnóstico

Parámetros del agua recirculante previo la siembra del camarón blanco								
Monitoreo del agua sin Microbiota	Fecha de monitoreo	Turbidez cm/disco	Temperatura °C	pH/ escala ácido-base	Amonio mg/L NH <sub>3</sub>	Nitritos mg/L NO <sub>2</sub>	Nitratos mg/L NO <sub>3</sub>	Oxígeno mg/L O <sub>2</sub>
Canal recolector	14/11/2016	12.00	28.00	7.82	4.20	3.60	4.85	3.50
Sedimentador	14/11/2016	22.00	22.00	7.95	3.25	2.00	20.70	4.72
Reservorio	14/11/2016	32.00	21.00	8.30	1.00	0.50	0.68	5.90

Fuente: Tesis Doctoral 2016

**Gráfico 1.** Parámetros fisicoquímicos del agua recirculante en la fase previa de diagnóstico**Tabla 2.** Parámetros fisicoquímicos en el agua recirculante en la fase inicial de biorremediación

Parámetros fisicoquímicos en el agua recirculante en la fase inicial de biorremediación									
Monitoreo del agua con tratamiento	Fecha de monitoreo	Microbiota en litros	Turbidez cm/disco	Temperatura °C	pH/ escala ácido-base	Amonio mg/L NH <sub>3</sub>	Nitritos mg/L NO <sub>2</sub>	Nitratos mg/L NO <sub>3</sub>	Oxígeno mg/L O <sub>2</sub>
Canal recolector	18/11/2016	2000.00	12.00	26.00	7.87	4.50	3.80	5.12	3.50
Sedimentador	21/11/2016	3000.00	28.00	22.00	8.60	1.00	0.50	0.68	5.65
Reservorio	24/11/2016	2000.00	32.00	21.00	8.25	0.25	0.10	0.14	6.08

Fuente: Tesis Doctoral 2016

en el sedimentador y en el reservorio, donde se experimenta una interacción de 72 horas en cada fase, con la finalidad de obtener y estabilizar la calidad del agua a límites técnicamente permisibles (ver Tabla 2, Gráfico 2).

En la Tabla 2, se evidencia la estabilidad de parámetros básicos y disminuye la concentración de compuestos tóxicos en un período de 72 horas de interacción. La turbidez presenta 25-60 cm (Escala de Secchi), la temperatura 21°C, el pH 8.25 y el oxígeno disuelto se mantiene en niveles aceptables. El amonio de 4.25 a 0.1 mg/L, los nitritos de 3.25 a 0.1 mg/L NO<sub>2</sub> y los nitratos de 5.12 a 0.14. En porcentaje disminuye el 94.5, 99.6 y 97.26% respectivamente.

En la fase de producción la biorremediación mantiene estable los parámetros básicos. Los tóxicos promedian en

las primeras seis semanas niveles variables que luego se estabilizan en concentraciones admisibles para la producción acuícola. El oxígeno disuelto se mantiene en concentraciones aceptables entre 7.25 y 10.5 mg/L (ver Gráfico 3).

La biodiversidad microbiana determinó diversos niveles taxonómicos expresados en Unidades Operacionales Taxonómicas (OTUs), entre ellos Phylum: 49; Clases: 116; Ordenes: 209; Familia: 337; Géneros: 548; Especies: 1780. La secuenciación registra 1.367.038 secuencias de ADN en bruto. De ellas 1.329.793 son de calidad mayor a 30 ( $\geq Q$ ) y 37 menores a 30 ( $\leq 30$ ), Las Secuencias de alta calidad es 1.232.875 asignadas en Unidades Operacionales Taxonómicas (OTUs). De ellas 1.030.146 tienen una riqueza mayor al 1% y 202.729 menor al 1% (ver Gráfico 4, Gráfico 5).

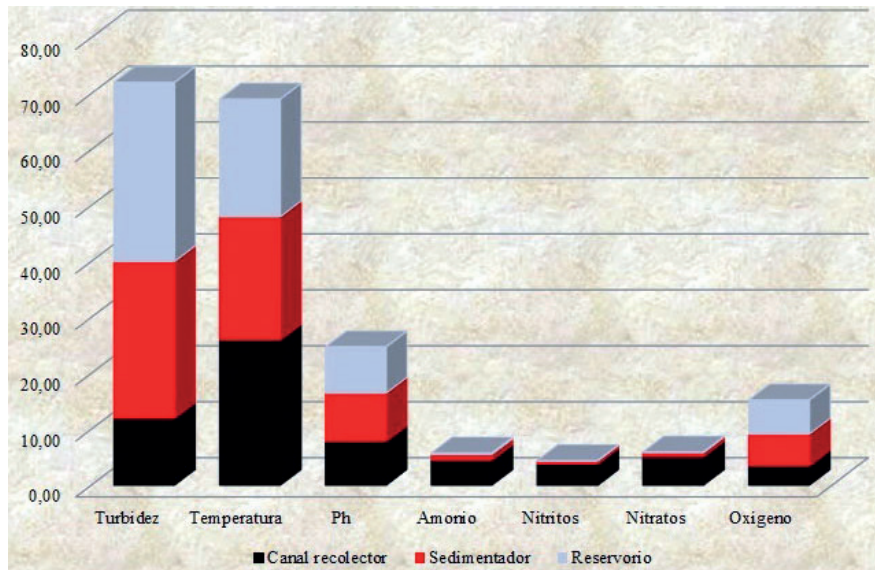


Gráfico 2. Parámetros fisicoquímicos en el agua recirculante en la fase inicial de biorremediación

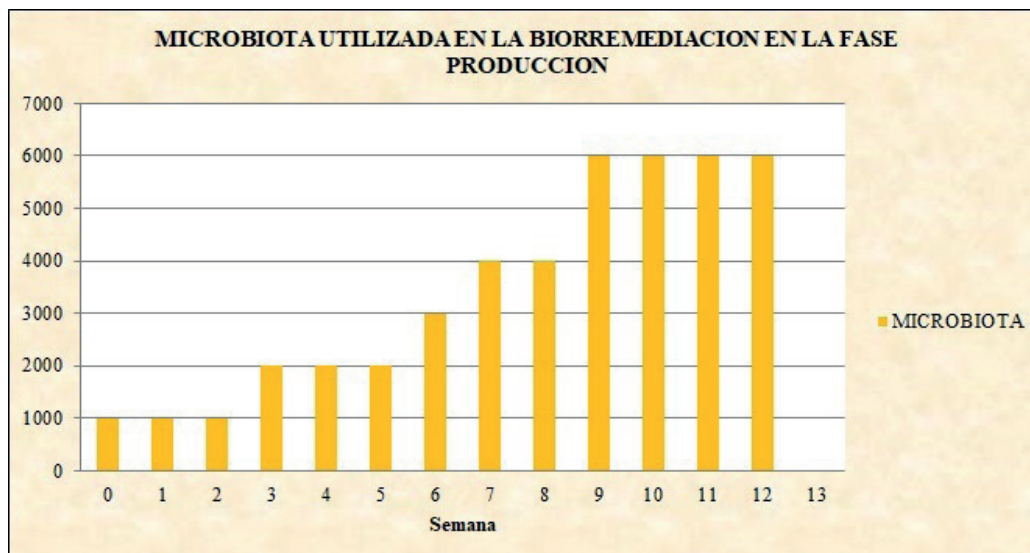


Gráfico 3. Microbiota bioaumentada utilizada en la biorremediación del agua recirculante en la fase de producción del camarón blanco

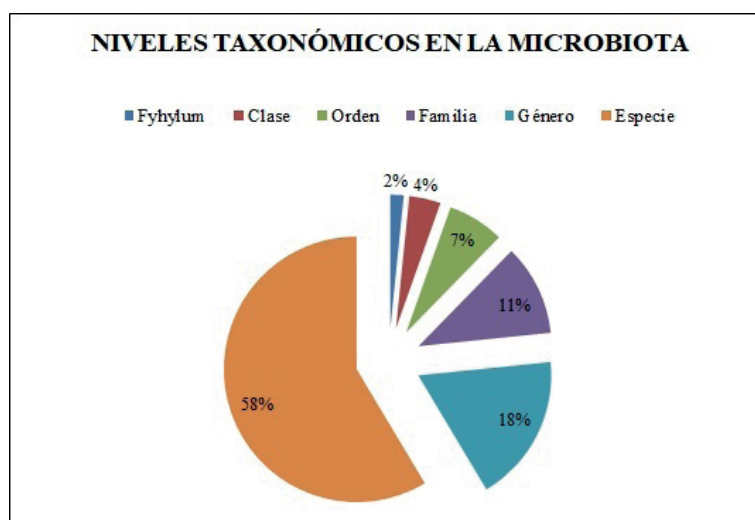


Gráfico 4. Niveles taxonómicos en la microbiota bioaumentada utilizada en la biorremediación

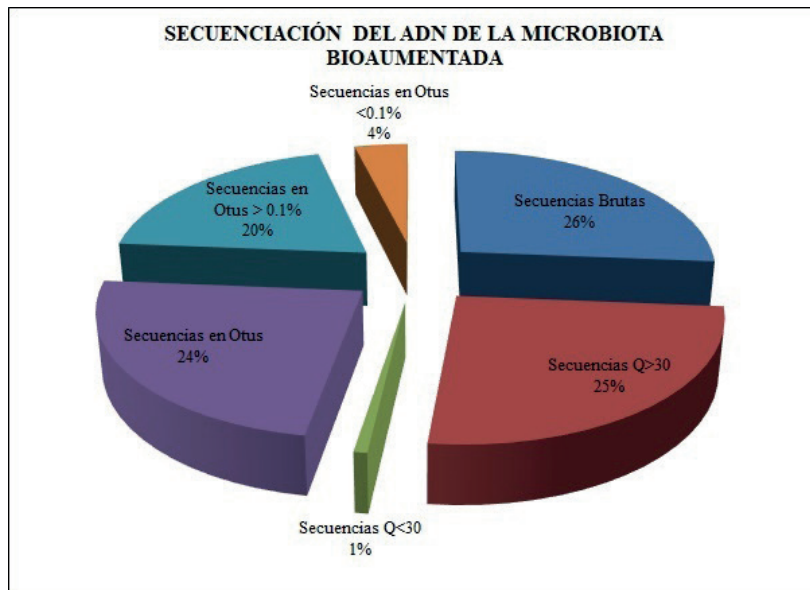


Gráfico 5. Secuenciación del ADN de la microbiota bioaumentada

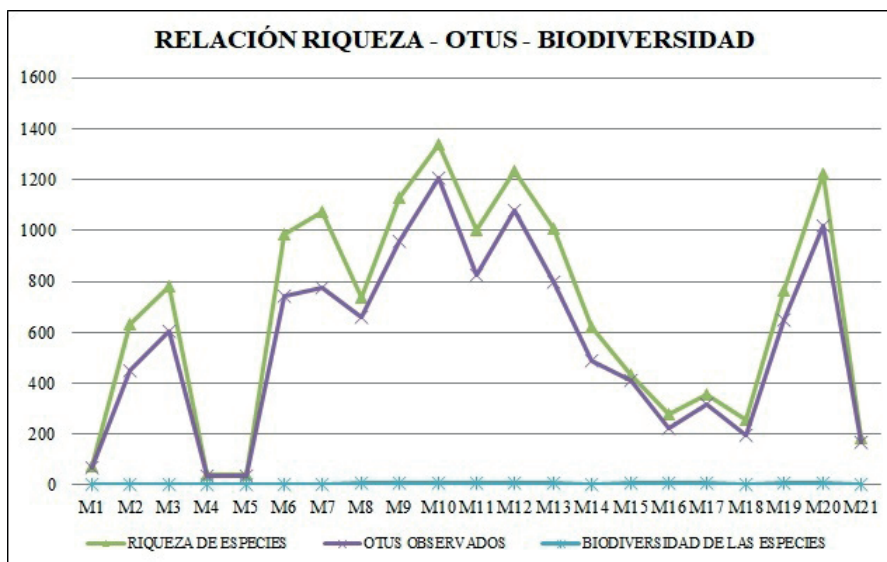


Gráfico 6. Relación de la riqueza metagenómica, Otus e índice de biodiversidad microbiana

Los Otus asignados en las diferentes muestras analizadas permite establecer la relación entre la riqueza y biodiversidad de las especies (ver Gráfico 6).

El nivel taxonómico “Especie”, es el más abundante con 1.780 secuenciaciones. La especie de mayor impacto es la Unclassified con el 61,22%, Uncultured bacterium 26,40%, Uncultured organismo 1,33%, Lactobacilos 0,82, Uncultured bacteroide 0,66%, que representan en conjunto el 90,43% y el 9.57% se asigna a otras especies (ver Gráfico 7).

La verificación de la hipótesis determina estadísticamente la normalidad de los datos obtenidos en la experimentación con la adición de la microbiota bioaumentada que mantiene el nivel de parámetros nitrogenados tóxicos en concentraciones óptimas para el cultivo del camarón blanco.

La Hipótesis que la microbiota estimula la biorremediación del agua en el cultivo del camarón blanco se comprobó aplicando la prueba de Shapiro-Wilk (ver Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Shapiro-Wilk para la normalidad de parámetros nitrogenados

Parámetros	Shapiro - Wilk		
	Estadístico	GI	Valor p
Amonio	0.671	12	0.054
Nitritos	0.724	12	0.061
Nitratos	0.778	12	0.075

De acuerdo a la Tabla 3, la prueba de Shapiro-Wilk (n<30) demuestra la normalidad de las variables, que mantiene en los tres parámetros analizados un valor p mayor a 0,05, lo que no es posible rechazar Ho.

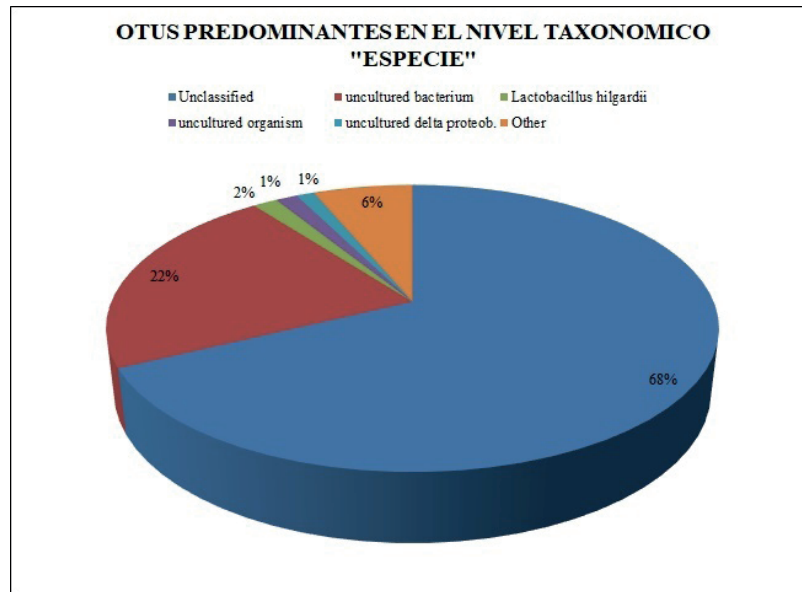


Gráfico 7. OTUs predominantes en el nivel taxonómico "Especie"

Tabla 4. Parámetros nitrogenados mediante el test de t de Student

Parámetros	Media	Indicadores		t de Student					
		H1	Ho	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencias de medias	Inferior	Superior
Amonio	0.0825	< 0,10	=0,10	-0.625	11	0.045	-0.0175	-0.0792	0.0442
Nitritos	0.1050	< 0,23	=0,23	-3.240	11	0.008	-0.12500	-0.2099	-0.0401
Nitratos	0.1442	< 0,20	=0,20	-1.075	11	0.035	-0.05583	-0.1701	0.0585

La verificación de hipótesis a través del test de t de Student permite comprobar el efecto biorremediador de la microbiota autóctona del mangle rojo sobre los parámetros nitrogenados tóxicos, como referencia se consideran los valores permisibles para cada uno de ellos: amonio (< 0,1); nitritos (< 0,23); y nitratos (< 0,20), utilizando un intervalo de confianza del 95% (ver Tabla 4).

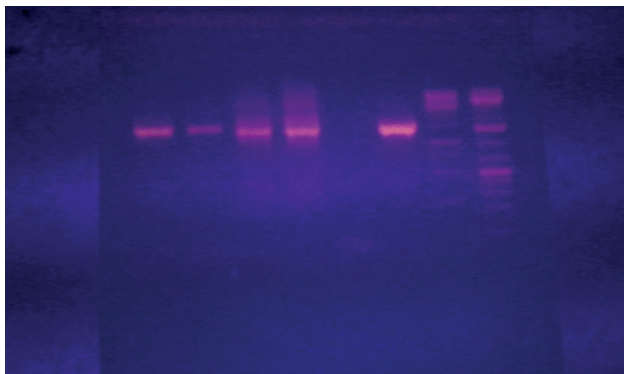
Según la Tabla 4, se observa la disminución significativa del nivel en los tres parámetros nitrogenados tóxicos (amonio: 0,045; nitritos: 0,008; nitratos: 0,035), donde los valores obtenidos y la media descriptiva son menores al indicador H1, que comprueba la hipótesis y rechaza Ho.

En las siguientes ilustraciones se evidencia parte del proceso para la extracción del ADN de la microbiota aplicando la técnica de PCR, donde se procesa un lote de 6 muestras para la homogenización, limpieza y extracción del ADN, como paso previo de replicación de las bandas de ADN en el Termociclador (ver Gráfico 8). El ADN replicado es sometido a la técnica de Electroforesis en placa de Agarol, con la finalidad de comprobar la calidad del ADN, donde las bandas de ADN despliegan fluorescencia a través del bromuro de etidio en función del número de pares replicados (ver Gráfico 9). La microbiota bioaumentada es procesada a través de fermentación anaerobia y almacenada en estanques con

observación periódica de su calidad previo su utilización en la biorremediación (ver Gráfico 10).



Gráfico 8. Proceso de extracción del ADN de la microbiota aplicando la técnica de PCR, con el Kit Power Soil DNA.



**Gráfico 9.** Control de calidad del ADN aplicando la técnica de Electroforesis.



**Gráfico 10.** Calidad de la microbiota bioaumentada utilizada en al biorremediación.

#### IV. DISCUSIÓN

1. El impacto negativo de los residuos tóxicos conforme el monitoreo de parámetros nitrogenados, evidencian afectación en la calidad del agua recirculante en el cultivo del camarón blanco en la fase de diagnóstico. Burford y Williams (2001) destacan la importancia en conocer la dinámica del nitrógeno proveniente del metabolismo de los alimentos, las heces del camarón y la interacción de la microbiota, aumentando la biomasa de materia orgánica, afectando notablemente la calidad del agua y la producción.
2. Conforme el monitoreo de los parámetros tóxicos en el agua de recirculación del cultivo de camarón, la Biorremediación con la microbiota bioaumentada mejoró notablemente la calidad del

agua, en sus diferentes fases manteniendo niveles óptimos para la producción acuícola. Lezama, Paniagua y Zamora (2010); Philip y Anthony (2006), refieren que la utilización de comunidades bacterianas indígenas disminuye ostensiblemente los niveles de compuestos tóxicos manteniendo la calidad óptima del agua para el cultivo de camarón blanco. Mendoza (2010), concluyó que los mejores tratamientos de biorremediación del agua en el cultivo del camarón blanco se obtienen con bacterias nitrificantes del género *Nitrosomas* y *Nitrobacter*.

3. Las técnicas metagenómicas permitieron conocer la biodiversidad microbiana de la microbiota utilizada en la biorremediación, como un potencial probiótico con un impacto positivo en la producción acuícola atribuida a la asociación de comunidades bacterianas que interactúan con los metabolitos procedentes de la nutrición-agua-sedimento. Esta estrategia se relaciona con lo planteado por el grupo de investigación de la Universidad de Australia (1977), donde evidencia la actividad de la biota extraída del mangle rojo como alternativa para mantener un control de los niveles de parámetros básicos y tóxicos en el agua de los cultivos de camarón blanco.
4. La relación de la biodiversidad de la microbiota es directa con la actividad probiótica del consorcio microbiano en el agua recirculante del cultivo de camarón blanco. El 90.43% de los OTUs de mayor diversidad microbiana corresponde a cinco especies y de ellas el 87,62%, son *Unclassified* y *Uncultured bacterium* clasificadas en este ámbito debido a que no se conoce con especificidad su nomenclatura microbiana, el 2.81% le corresponde a especies bien definidas como *Lactobacilos* y *Uncultured bacterium*. Esta biodiversidad casi desconocida mantiene los parámetros básicos y tóxicos en concentraciones óptimas para la producción acuícola.

#### V. CONCLUSIONES

La microbiota autóctona extraída del ecosistema del mangle rojo, bioaumentada con fuentes energéticas y nutritivas estimula eficazmente la biorremediación del agua recirculante en el cultivo del camarón blanco, de tal forma que mantiene los niveles de compuestos básicos y tóxicos en concentraciones admisibles para la producción.

La cuantificación de parámetros tóxicos en el agua recirculante en el cultivo del camarón blanco es el proceso analítico adecuado para evaluar la eficiencia de la microbiota del mangle rojo bioaumentada, utilizada en la biorremediación del agua.

Las técnicas metagenómicas utilizadas permitió establecer la biodiversidad de la microbiota autóctona y bioaumentada utilizada en la biorremediación del agua recirculante en el cultivo del camarón blanco con un grado de especificidad del 99.9%.

La utilización de la microbiota del mangle rojo en la biorremediación del agua en el cultivo del camarón blanco no incide en la microflora bacteriana del crustáceo como se evidenció en el análisis metagenómico del camarón en producción y en cosecha.

## VI. AGRADECIMIENTO

Al personal del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, de la Universidad Mayor de San Marcos por su colaboración para la publicación del presente artículo científico, de manera especial a la Comisión Editorial y Revisor por el asesoramiento en las instancias pertinentes.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burford, M., & Williams, K. (15 de June de 2001). *The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding*. *Aquaculture*, 79-93. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00589-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00589-5)
- Caporaso, J., Lauber, C., Walters, W., Berg-Lyons, D., Lozupone, D., Turnbaugh, P., . . . and Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*(1), 4516–4522. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3063599/>
- Espinel, V., Cabrera, C., & Aguilar, N. (2017). Actividades agropecuarias del Sitio «La Bóveda» y su incidencia en la calidad del agua de esorrentía al embalse Sixto Durán Ballén. *Revista del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 20(39). Obtenido de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/14168>
- Glazer, A., & Nikaido, H. (2007). *Microbial Biotechnology: Fundamentals of applied Microbiology (2nd Ed)*. Editorial: Cambridge University Press. Recuperado de [https://books.google.com.ec/books?id=o3HnX18eU3AC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=o3HnX18eU3AC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Lezama, C., Paniagua, J., & Zamora, J. (2010). *Biorremediación de los efluentes de cultivo del camarón Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) utilizando tapetes microbianos en un sistema de recirculación*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38(1), 129-141. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=175014502012>
- Mendoza, O. (2010). *Utilización de bacterias nitrificantes como biorremediadoras del agua de cultivo de Litopenaeus vannamei en Tumbes, Perú*. España. Editorial: Universidad Internacional de Andalucía. Recuperado de [http://dspace.unia.es/bitstream/handle/10334/549/0100\\_Mendoza.pdf?sequence=1](http://dspace.unia.es/bitstream/handle/10334/549/0100_Mendoza.pdf?sequence=1)
- Mendoza, S., Tinoco, O., & Nieto, K. (2016). Evaluación de la carga bacteriana y resistencia a antibióticos de bacterias aisladas en zonas marinas de alta influencia de producción larvaria en Ecuador. *Revista del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 19(38). Obtenido de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/13580>
- Nizama, L., & Cabrera, C. (2018). Impacto del Dren 4000 al Ecosistema Marino de la Caleta Santa Rosa, Lambayeque y Alternativas de Recuperación. *Revista del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 21(41). Obtenido de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/14992>
- Philip, R., & Anthony, S. (Julio-Diciembre de 2006). *Biorremediación en los sistemas de cultivo de camarón*. *World Fish Center Quarterly*, 29(3 y 4). Recuperado de <https://www.aquahoy.com/informe/836-bioremediacion-en-los-sistemas-de-cultivo-de-camaron>
- Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M., & McCormick, J. (Oct de 2003). *Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice*. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 658–672. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC207122/>
- SILVA Databases for ARB. (13 de Diciembre de 2017). *SILVA Release 132: Download the latest SILVA databases for ARB for small (16S/18S) and large (23S/28S) subunit ribosomal RNAs*. Recuperado de <https://www.arb-silva.de/download/arb-files/>, 13.12.2017.
- Vershuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. (2000). *Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture*. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(4), 655–671. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99008/>