



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA.

TEMA:

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE ÁCIDO ORGÁNICO
COMERCIAL EN TRES CONCENTRACIONES, APLICADO EN
CULTIVOS DE MICROALGAS *Thalassiosira weissflogii*

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR

GERSON PAOLO RICARDO RAMOS.

DOCENTE TUTOR

BLGA. DADSANIA RODRÍGUEZ MOREIRA Mgt.

LA LIBERTAD-ECUADOR

2026

UNIVERSIDAD ESTATAL

PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA.

EFECTO ANTIMICROBIANO DE ÁCIDO ORGÁNICO
COMERCIAL EN TRES CONCENTRACIONES, APLICADO EN
CULTIVOS DE MICROALGAS *Thalassiosira weissflogii*

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

BIÓLOGO

AUTOR

GERSON PAOLO RICARDO RAMOS.

DOCENTE TUTOR

BLGA. DADSANIA RODRÍGUEZ MOREIRA Mgt.

LA LIBERTAD-ECUADOR

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “EFECTO ANTIMICROBIANO DE ÁCIDO ORGÁNICO COMERCIAL EN TRES CONCENTRACIONES, APLICADO EN CULTIVOS DE MICROALGAS *Thalassiosira weissflogii*”, elaborado por GERSON PAOLO RICARDO RAMOS, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



Blga. Dadsania Rodríguez Moreira, Mgt

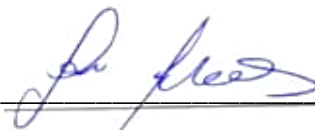
DOCENTE TUTOR

C.I. 0913042008

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista del Trabajo de Integración Curricular, “EFECTO ANTIMICROBIANO DE ÁCIDO ORGÁNICO COMERCIAL EN TRES CONCENTRACIONES, APLICADO EN CULTIVOS DE MICROALGAS *Thalassiosira weissflogii*”, elaborado por GERSON PAOLO RICARDO RAMOS, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo,, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente



Ing. Jorge Magallanes Tomalá M.Sc

DOCENTE DE ÁREA

C.I. 0928355346

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por la fortaleza y la vida que nos regala, permitiendo lograr nuestros objetivos junto con mi familia.

A mis padres, William y Ketty, quienes me han apoyado en todo momento, y por todo ese amor incondicional y sus consejos, de perseverancia hacia el objetivo trazado, este logro es tanto suyo como mío.

A mí esposa Karina quien ha sido la compañera ideal en esta odisea, quien me apoyó incondicionalmente y valoró cada esfuerzo realizado, a ese sacrificio que tuvo que hacer para lograr nuestro objetivo.

A mis hijos Matías, William y David, por ser mi motivación día a día en este duro proceso, de salir adelante, y brindarles un mejor porvenir.

A mí suegra Lidia y cuñada Verónica quienes ayudaron a mi esposa en mi ausencia por el cumplimiento de labores estudiantiles.

A tíos y primos quienes me apoyaron en toda ocasión, brindándome su ayuda sin necesidad de pedirselos para el logro de los objetivos.

Con nostalgia y cariño dedico este logro a las personas que se adelantaron al llamado del señor, abuelita María, tía Elva, suegro Ernesto.

Y mis queridos docentes de la Facultad de Ciencias del Mar y compañeros que me ayudaron en más de una ocasión.

AGRADECIMIENTO

A mis padres y a mi esposa quienes me brindaron su apoyo incondicional día a día, brindándome sus consejos de seguir adelante con fe y la seguridad para alcanzar mis objetivos.

A la Blga. Dadsania Rodríguez Moreira Mgt., quien tuvo el compromiso, paciencia y me orientó en la realización del proyecto de investigación, por sus consejos de no desfallecer, y seguir adelante en el cumplimiento de las actividades académicas. A la empresa PROMARISCO S.A. por darme la oportunidad de estudiar y prestarme un área para realizar mi proyecto de investigación, a la Ing. Dennise Chanalat, y al Blgo. Darwin Apolinario, encargados de las áreas de microalgas y microbiología respectivamente, quienes me ayudaron en el proceso de investigación y fueron un apoyo constante en el proceso.

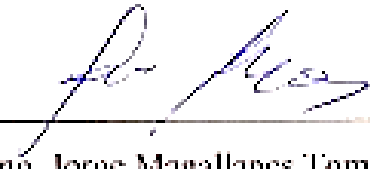
TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Gerson Paolo Ricardo Ramos** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integarción Curricular **APROBADO** el: 16/12/2025



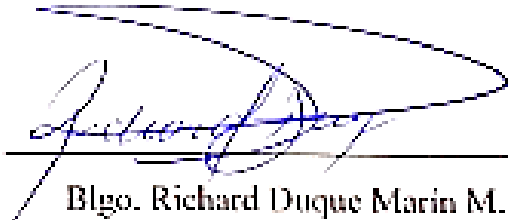
Ing. Jimmy Villón Moreno M.Sc.
DIRECTOR DE CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Ing. Jorge Magallanes Tamalá M.Sc.
PROFESOR DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blga. Dadsania Rodríguez Moreira M.Sc.
DOCENTE TUTOR
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Duque Marín M.Sc.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Ledo. Pascual Roca Silvestre M.Sc.
SECRETARIO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad de los datos, ideas y resultados expuestos en este trabajo de titulación, me corresponden exclusivamente y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ricardo Ramos', is written over a horizontal line.

Ricardo Ramos Gerson Paolo

2400054959

ÍNDICE GENERAL

1 RESUMEN	1
2 INTRODUCCIÓN.....	2
3 PROBLEMÁTICA	5
4 JUSTIFICACIÓN.....	6
5 OBJETIVO GENERAL	8
6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	8
7 HIPÓTESIS.....	9
8 MARCO TEÓRICO	10
8.1 Características generales de los ácidos orgánicos.	10
8.1.1 Utilizaciones de ácidos orgánicos.	11
8.1.2 Características de bacterias pseudomonas.	12
8.2 Microalgas..	15
8.2.1 Microalgas y su relevancia en acuicultura.....	16
8.2.2 Clasificación taxonómica.....	16
8.2.3 Características de <i>Thalassiosira weissflogii</i>	17
8.2.4 Condiciones de Cultivo de Microalgas	18
8.2.5 Problemas Sanitarios en Cultivos de Microalgas	19
9 MARCO METODOLÓGICO	20
9.1 Ubicación... ..	20

9.2 Extracción y aislamiento de bacterias patógenas	21
9.3 Purificación de la bacteria	21
9.4 Preparación del inóculo bacteriano para la contaminación de agua.....	21
9.5 Descripción del ácido orgánico comercial.	22
9.6 Utilización del ácido orgánico en tres concentraciones probado en <i>Thalassiosira weissflogii</i>	22
9.7 Estudio de la cinética de crecimiento y control de microalgas en fundas de 20 litros.....	23
9.8 Control de bacterias y cinética de crecimiento y control de microalgas en fundas de 20 litros.....	24
9.9 Control de bacterias y cinética de crecimiento y control de microalgas en cilindros de una tonelada.	24
9.10 Protocolo de dosificaciones de acuerdo con las concentraciones requeridas.....	25
9.11 Diseño experimental.....	25
9.12 Conteo de densidad celular de las microalgas.	27
9.13 Conteos de colonias bacterianas (UFC/ML)	28
9.14 Fórmula para el conteo de UFC/ML	29
9.15 Morfología y Cinética de Crecimiento.	29
9.16 Análisis Estadísticos.....	30
10. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.	30

10.1 Resultados de efecto inhibitorio contra bacteria <i>Pseudomonas</i> sp.	30
10.1.1 Efectividad de la aplicación de 5mg/L del ácido orgánico	30
10.1.2 Efectividad de la aplicación de 9mg/L de ácido orgánico.....	31
10.1.3 Efectividad de la aplicación de 12mg/L de ácido orgánico.....	32
10.1.4 Resultados de tratamiento control.....	33
10.2 Cinética de Crecimiento de <i>Thalassiosira weissflogii</i>	34
10.3 Resultados de densidad celular.....	40
10.3.1 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 5mg/L.	40
10.3.2 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 9mg/L	40
10.3.3 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 12mg/L	41
10.3.4 Resultados de densidad celular alcanzados en prueba control.	42
10.4 Comparación de los Tres Tratamientos	43
10.4.1 Comparación de los tres tratamientos en cultivo Carboys	43
10.4.2 Comparación de los Tres Tratamientos en Medio Cilindro	44
10.4.3 Comparación de los Tres Tratamientos en Medio Masivo.....	45
10.5 Correlación de Pearson aplicado a los bioensayos en relación a conteos de unidades formadoras de colonias y densidades celulares.	46
11 DISCUSIÓN, Y CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
11.1 Discusiones	51
11.2 Conclusiones.....	54

11.3 Recomendaciones.....	55
12 BIBLIOGRAFÍA.....	57
13 ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de empresa PROMARISCO S.A.	20
Figura 2. Cámara de Neubauer.....	27
Figura 4. Cinética de crecimiento con tratamiento de 5mg/L.	35
Figura 5. Cinética de crecimiento T2- 9mg/L.....	36
Figura 6. Líneas de Cinética de Crecimiento del T3 – 12 mg/L.	38
Figura 7. Líneas de Cinética de Crecimiento del Control	39
Figura 8. Comparación de los tres tratamientos en medio carboys.	44
Figura 9. Resultados de los Tres Tratamientos en Medio Cilindro.	45
Figura 10. Resultados de los tres tratamientos en medios masivos.	46
Figura 11. Correlación de Pearson entre densidad celular y cargas bacterianas UFC/ml.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones mínimas inhibitorias de ácidos orgánicos.	12
Tabla 2. Resultados finales con aplicación de 5 mg/L de ácido orgánico.	31
Tabla 3. Resultados finales con aplicación de 9 mg/L de ácido orgánico.	32
Tabla 4. Resultados con aplicación de 12 mg/L de ácido orgánico.	32
Tabla 5. Resultados de Prueba Control.....	33
Tabla 6. Promedio de Datos de Cinética de Crecimiento T1- 5mg/L.....	34
Tabla 7. Promedio de Datos sobre la Cinética de Crecimiento T2- 9mg/L.....	35
Tabla 8. Promedio de Datos de Cinética de Crecimiento T1- 12mg/L.....	37

Tabla 9. Promedio de Datos de Cinética de Crecimiento Control.	39
Tabla 10. Resultados de densidades celulares con tratamiento de 5mg/L.	40
Tabla 11. Densidad celular (cel/ml) obtenida en muestras tratadas con 9 mg/L de ácido orgánico.....	41
Tabla 12. Densidad celular con tratamiento con 12mg/L	42
Tabla 13. Densidad celular Prueba control.....	43
Tabla 14. Resultados Finales de UFC/ml en Medios de Cultivos y de Densidad Celular/ml.	47
Tabla 15. Resultados Correlación de Pearson entre densidad celular y UFC/ml de los tres medios de cultivos, Carboys, Cilindros y Masivos.	49

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Tabla de resultados de bioensayo.....	65
Anexo 2. Inoculación de bacteria pseudomona sp	65
Anexo 3. Toma de parámetros.....	65
Anexo 4. Visita de docente tutora Blga. Dadsania Rodríguez Moreira Mgt.....	66
Anexo 5. Siembra de medios de cultivos.....	66
Anexo 6. Tratamiento con ácido comercial	66
Anexo 8. Resultados de Análisis microbiológicos.....	66
Anexo 7. Conteos de densidad celular por ml.	66
Anexo 9. Conteo inicial del tercer bioensayo.....	66
Anexo 10. Resultados de análisis de copilatio.	66

GLOSARIO Y SIMBOLOGÍA

Ácidos orgánicos: compuestos químicos con propiedades ácidas, generalmente ácidos débiles, que contienen un átomo de hidrógeno ionizable

Antimicrobiano: que mata o detiene el crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos, virus y parásitos.

Bacteria: Las bacterias son pequeños organismos (seres vivos) que tienen una sola célula. Bajo el microscopio, parecen bolitas, varillas o espirales.

Inhibición: **Inhibición:** es el proceso por el cual un agente (natural o sintético) impide o ralentiza el crecimiento y la reproducción de microorganismos como bacterias, hongos y virus.

Microalgas: organismos microscópicos unicelulares que realizan la fotosíntesis, obteniendo energía de la luz solar y del dióxido de carbono

Cultivo Carboys: uso de carboys (grandes recipientes de vidrio o plástico) como contenedores para cultivos, especialmente de microalgas y otros organismos acuáticos.

Cultivos de cilindro: es un método para producir biomasa algal mediante la integración de un medio acuoso, iluminación, CO₂, nutrientes y aireación,

Exopolisacáridos: carbohidratos complejos de alto peso molecular producidos y liberados al exterior por microorganismos como bacterias, algas y hongos.

Bioseguridad: conjunto de normas, principios y prácticas que se aplican para prevenir riesgos biológicos, químicos y físicos, con el objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente.

Patógeno: microorganismo o agente infeccioso que causa enfermedades en un huésped, como humanos, animales o plantas.

Proteobacterias: son un filo muy importante de bacterias gramnegativas. Incluyen una amplia variedad de géneros patógenos

Psicrófilas. organismos que pueden crecer en ambientes fríos.

ABREVIATURAS

pH: potencial de hidrógeno.

AGPI: ácido graso polinsaturado.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

ml: mililitros.

T°: temperatura.

Mg/L: miligramos sobre litro

1 RESUMEN

El presente trabajo de investigación evaluó el efecto antimicrobiano de un ácido orgánico comercial, dosificado en tres concentraciones tales como 5 mg/L, 9 mg/L y 12 mg/L en medios de cultivos de microalgas *Thalassiosira weissflogii*. Se desarrollaron tres bioensayos en fechas de 30 de septiembre, 8 y 20 de octubre con duración de tres días cada uno, en condiciones controladas, realizados en sistemas de cultivo como carboys, cilindros, y masivos, con el objetivo de determinar la eficacia del ácido en la inhibición de bacterias patógenas del género *Pseudomonas* y su impacto sobre la cinética de crecimiento y viabilidad celular de las microalgas. La concentración de 9 mg/L (fue más eficaz con una reducción significativa de UFC/ml sin afectar la densidad celular del cultivo, que se mantuvo por encima de los 100,000 cel/ml. Mientras que el tratamiento de 5mg/L tuvo un mejor promedio en tasa de crecimiento de los tres sistemas de cultivos con 71.6% a diferencia del control que tuvo 78.89%. Existió una correlación prácticamente nula de 0,12729668 entre carga bacteriana y densidad celular, determinada mediante análisis estadístico de Pearson, confirmó que el tratamiento con ácido orgánico comercial contrarresta los patógenos de *Pseudomonas* sp. sin comprometer mayormente la densidad de *T. weissflogii*. Sin embargo, en los tres sistemas tuvieron correlaciones diferentes, siendo de mejor resultado en Carboys con 0.6606, en cilindros de 0.3688 y de masivos fue de 0,1903 que fueron casi nulas.

Palabras claves: ácido orgánico, microalgas, *Thalassiosira weissflogii*, carboys, cilindro, masivo, *Pseudomonas* sp

2 INTRODUCCIÓN

Las relaciones entre bacterias y fitoplancton son bidireccionales y se fundamentan en el intercambio de carbono orgánico disuelto, generado por las microalgas, el cual influye directamente en la proliferación bacteriana. (Riquelme & Avendano, 2003). *Thalassiosira weissflogii* es una de las microalgas preferidas en acuicultura, principalmente por su destacada proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), compuestos esenciales que numerosas especies marinas no pueden producir por sí mismas. (Zuccaro, Abu, & Steyer, 2020).

La necesidad de no emplear antibióticos dado que está prohibido su uso por la unión europea en el 2006, despierta un gran interés en el uso de ácidos orgánicos para el uso acuícola. (Mine & Boopathy, 2011). Los ácidos orgánicos, conocidos por sus propiedades antimicrobianas, se utilizan para controlar el crecimiento de microorganismos patógenos en diversos sistemas biológicos. (Zuccaro, Abu, & Steyer, 2020). En el caso de *Thalassiosira weissflogii*, según Wing-Keong Ng, Ph.D. & Chik-Boon Koh, (2018), la aplicación de ácidos orgánicos en diferentes concentraciones puede ofrecer una solución sostenible para mejorar la calidad del cultivo y reducir la dependencia de antibióticos.

De acuerdo con Zuccaro, Abu, & Steyer, (2020), en términos de nutrición, los ácidos orgánicos realizan un papel importante en la absorción y utilización eficiente de los nutrientes esenciales. Además, los ácidos orgánicos como láctico y

fórmico son específicos, actúan como precursores de sustancias bioactivas que promueven el buen desarrollo en cultivos acuícolas. (Mine & Boopathy, 2011)

(Fabay, Serrano, Alejos, & Fabay, 2022) determinó que el uso de ácido fórmico en diferentes cultivos resulta beneficioso, mientras que otros han informado de una falta de impacto positivo en el uso de ácido fórmico. Estos hallazgos probablemente se deben a diferencias en las concentraciones de ácidos orgánicos, especies animales, composición de la dieta y las condiciones de cultivo utilizadas. Se ha informado que las dietas suplementadas con ácido fórmico alimentado a otras especies cultivables al muestran una resistencia mejorada al desafío de bacterias patógenas. (Wing-Keong Ng & Chik-Boon Koh, 2018).

En los últimos años se ha incrementado el uso de las microalgas como alimento en acuicultura por su alto valor alimenticio, buena digestibilidad, buen perfil de aminoácidos entre otras características. (Montoya C. & Acosta A. 2021), dado que constituyen el principal y primer alimento vivo, ayudando al crecimiento de las fases larvarias de la mayoría de organismos marinos cultivados debido a la nutrición que estas células de microalgas ayudando a mantener la calidad del agua al absorber nutrientes. Sin embargo, su proliferación descontrolada también puede generar problemas, como la reducción de oxígeno y la producción de toxinas, afectando la salud y productividad de los cultivos. (Ycaza, 2016).

La producción de grandes cantidades de microalgas de buena calidad es necesario para obtener características morfológicamente adecuadas y para obtener estos resultados es necesario el control de pH y de temperatura, siendo pH óptimo en rangos de 7.5 a 8.5 y la temperatura oscila entre 20 a 30°C. (Chowdury, Nahar, & Deb, 2020). La contaminación microbiana en una biomasa de microalgas vivas, y con bajo contenido bacteriano sigue siendo esencial para los criaderos de mariscos. Se esperan importantes avances en el diseño y la operación de nuevos sistemas de producción. (Muller-Feuga, 2000)

3 PROBLEMÁTICA

Las diferentes concentraciones de ácidos orgánicos requeridos para contrarrestar bacterias patógenas que hacen foco de infección en los monocultivos de microalgas, pueden afectar su estructura morfológica de las células de las *Thalassiosira weissflogii* y a su vez infectar y contaminar futuros cultivos donde servirán de alimento primario como sucede en la naturaleza, cumpliéndose con la cadena trófica.

Las cargas bacterianas en análisis microbiológicos en cultivos de microalgas, los cuales son alimento primario para otras especies, son un peligro constante en su utilización al detectarse este tipo de patógenos, lo cual afectaría el consumo del cultivo de microalgas, y conllevaría un descarte de la producción del cultivo al no tener los parámetros de calidad requeridos.

La presencia de ácido orgánico impide generar confianza en el producto, aunque, dosis elevadas podrían ayudar a inhibir la carga bacteriana, existe una alta probabilidad de que se afecte negativamente la calidad de las microalgas *Thalassiosira weissflogii*. Lo que significa que la seguridad del cultivo como fuente de alimento, estaría viéndose afectado por estos patógenos que serán identificados por medio de pruebas microbiológicas, son muy comunes en cultivos acuícolas, pero dañinas en el caso de *Pseudomona* sp., su peligrosidad se registra entre E+01

de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ML) por lo que afectaría la calidad de agua del cultivo.

4 JUSTIFICACIÓN

La realización de un protocolo, estableciendo una concentración adecuada, dosificaciones que nos permita tener una buena calidad de microalgas con bajas cargas bacterianas para asegurar el sistema alimenticio mediante la *Thalassiosira weissflogii*. (Magazine, 2022). Bajo el conocimiento de análisis microbiológicos y control de los parámetros ambientales en los cultivos de microalgas no solo permiten la supervivencia y desarrollo de los organismos, además, factores como la temperatura y la salinidad regulan la concentración de vitaminas, aminoácidos y ácidos grasos. (Martínez, et al2025)

Según Riquelme & Avendano, (2003) *Thalassiosira weissflogii* es utilizada en cultivos acuícolas, las propiedades que presenta como alimento en acuicultura por su elevada concentración de ácidos grasos polinsaturados, buena digestibilidad, entre otras características. Aseguraremos su estabilidad microbiana para su uso garantizado, reportando la mejor concentración que utilizaremos en el cultivo asegurando así su calidad. (Saritaş, et al., 2024).

El fortalecimiento en el sistema inmunitario del cultivo de microalgas y garantizar su inoculación a diferentes cultivos acuícolas teniendo una densidad óptima, el ácido orgánico comercial no debe afectar las densidades celulares, pero si debe afectar a los posibles patógenos detectados con análisis previos. Existiendo conteos por debajo de lo normal >80.000 cell/ml cuando presentan estos problemas de contaminación por bacterias patógenas con exponentes fuera del rango tolerable en el caso de *Pseudomona* sp., su peligrosidad se registra a partir de $E+05$ de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ML). (Villón, Duque, & Rodríguez, 2025).

5 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antimicrobiano de un ácido orgánico comercial en tres concentraciones en cultivo de *Thalassiosira weissflogii* para el control de microorganismos patógenos presentes mejorando la calidad del cultivo.

6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Diferenciar la efectividad de tres concentraciones del ácido orgánico para la inhibición del crecimiento de bacteria patógena en cultivo de *Thalassiosira weissflogii*.

Analizar los efectos que producen las tres concentraciones de ácido orgánico en la morfología y cinética de crecimiento de las microalgas en un monocultivo

Correlacionar los datos obtenidos entre la efectividad en la inhibición de crecimiento de bacteria patógena y los efectos que producen las tres concentraciones en la morfología y cinética del cultivo de las microalgas.

7 HIPÓTESIS

Hi. El ácido orgánico comercial reduce unidades formadoras de colonias de bacteria patógenas y no afecta la densidad celular del cultivo de microalgas *Thalassiosira weissflogii*.

8 MARCO TEÓRICO

8.1 Características generales de los ácidos orgánicos.

Los ácidos orgánicos se caracterizan por ser compuestos orgánicos formados por una cadena de ácido graso de longitud variable y uno o más grupos carboxilo (R-COOH) que son la fuente donante de hidrógeno. (Oriol & Fornós, 2025) Los ácidos orgánicos son un grupo diverso de compuestos, principalmente por ácidos carboxílicos, junto con ácidos fosfónicos y sulfónicos. Estos ácidos se caracterizan por su capacidad para neutralizar bases, formando sales y agua en el proceso. (Ghayourmanesh, 2022).

El ácido orgánico fórmico es un ácido orgánico, que actúa con un efecto acidificante para eliminar y controlar los microorganismos patógenos, que contaminan el agua en laboratorios y camaroneras, siendo de amplio uso para desinfección en general. Actúa en especial para control en la acuicultura como vibrios, pseudomonas sp, y de otras bacterias como *E. coli* y *salmonella sp.*, mejorando la calidad e inocuidad de cultivos acuícolas. (Adams & Boopathy, 2013).

8.1.1 Utilizaciones de ácidos orgánicos.

Desde que la comisión europea, prohibió el uso de antibióticos en 1996, las mismas que se reguló en el año 2009 para controlar el uso desmedido y sus posteriores residuos en los animales que han sido tratados con estos antibióticos. (Criollo, Peña , Mocha , & Sorroza , 2024). Las investigaciones sobre el uso de diferentes ácidos orgánicos por la necesidad de reemplazarlos y descartar su uso en producciones de animales para el consumo humano, brindando una seguridad alimentaria que garantice la inocuidad y productos libres de la contaminación de la cadena alimentaria que va desde cualquier etapa de la producción hasta el consumo. (Anthem, 2025).

Entre los ácidos orgánicos más estudiados como suplemento de las dietas para otros cultivos acuícolas están el ácido cítrico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido acético y ácido láctico. En general, los hallazgos de las investigaciones indican mejoras en crecimiento, utilización y digestibilidad de los nutrientes, beneficios en la microbiota intestinal, disponibilidad de minerales, respuesta inmune y resistencia a bacterias. (Magazine, 2022). Cada ácido orgánico tiene su propio espectro de actividad antimicrobiana. En la Tabla 1, se muestran los valores de concentración mínima inhibitoria de algunos ácidos orgánicos en su actividad contra bacterias gram negativas y gram positivas, determinados en condiciones in vitro debido a sus propiedades físicas y químicas específicas. (Magazine, 2022).

Tabla 1.

Concentraciones mínimas inhibitorias de ácidos orgánicos.

Concentraciones mínimas inhibitorias de diferentes ácidos orgánicos (%)			
Bacterias	Ácido Fórmico	Ácido Propiónico	Ácido Láctico
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.10	0.15	0.30
<i>Escherichia coli</i>	0.15	0.20	0.40
<i>Campylobacter jejuni</i>	0.10	0.20	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.15	0.25	0.40
<i>Clostridium botulinum</i>	0.15	0.25	0.30
<i>Clostridium perfringens</i>	0.10	0.25	0.30

Nota. Concentraciones mínimas inhibitorias de diferentes ácidos orgánicos, frente a diferentes bacterias patógenas.

8.1.2 Características de bacterias pseudomonas.

El género *Pseudomonas* son bacilos aerobios Gram-negativos de la familia *Pseudomonadaceae*. Estas bacterias no fermentan glucosa, gracias a sus flagelos tienen movilidad, y no forman esporas. Se destacan especies como *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* y *P. putida*, cada una con características particulares y relevancia en distintos contextos clínicos y ambientales. (Anzai, Kudo, & Oyaizu, 1997).

Dentro del género *Pseudomonas*, existen especies capaces de desarrollarse en ambientes de baja temperatura, conocidas como psicrófilas. (Chauhan, Kimothi, Sharma, & Pandey, 2023). Además, algunas cepas sintetizan sideróforos fluorescentes que poseen valor taxonómico, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, produce pigmentos que caracterizan su tonalidad azul verdosa

observable en cultivos, auruginosa quiere decir óxido de cobre por lo cual son altamente peligrosos en cultivos acuáticos. (Matthijs, et al., 2006)

Las especies de este género generalmente son móviles gracias a uno o más flagelos polares, no forman esporas. Algunas especies sintetizan una cápsula de exopolisacáridos que facilita la adhesión celular, la formación de biopelículas y protege de la fagocitosis, de los anticuerpos o del complemento aumentando así su patogenicidad. (Matthijs, et al., 2006)

La gran diversidad metabólica de este género, son capaces de colonizar un amplio rango de nichos. Estas bacterias pueden cultivarse fácilmente en condiciones in vitro y se encuentran disponibles en gran cantidad, lo que las convierte en modelos ideales para estudios científicos. (Saati-Santamaría, Baroncelli, Rivas, & García-Fraile, 2022). Algunas cepas, como *Pseudomonas aeruginosa*, son relevantes por su papel como patógeno oportunista en humanos; otras, como *P. syringae*, afectan a las plantas y *P. fluorescens* se asocia al estímulo del crecimiento vegetal. (Saati-Santamaría, Baroncelli, Rivas, & García-Fraile, 2022)

8.1.2.1 Hábitat.

Las bacterias del género *Pseudomonas* son organismos ubicuos, bacterias gram negativas pertenecientes al grupo proteobacterias. (Saati-Santamaría, Baroncelli, Rivas, & García-Fraile, 2022). Se identifican en una amplia variedad de entornos, incluyendo suelos. Constituyen una parte dominante del microbiota en la rizosfera y filosfera de diversas especies vegetales. Asimismo, se encuentran en ecosistemas acuáticos, en cuerpos de agua dulce, aguas marinas, y hasta aguas salobres propias de esteros, lo que evidencia su notable capacidad de adaptación y distribución ecológica. (Saati-Santamaría, Rivas, Kolařík, & García-Fraile, 2021).

Las cepas del género *Pseudomonas* procesan, reaccionan e integran una amplia variedad de condiciones cambiantes en el medio ambiente, y muestran una alta capacidad de reacción a señales físico-químicas y biológicas. Son capaces de producir una gran diversidad de metabolitos secundarios, siendo gran parte de ellos péptidos no ribosomales. (Saati-Santamaría, Selem-Mojica, Peral-Aranega, Rivas, & García-Fraile, 2022).

Se han descrito cepas capaces de adquirir resistencia a metales pesados, disolventes orgánicos y detergentes, lo cual les permite explotar una amplia gama de fuentes de carbono como nutrientes, así como colonizar ambientes y nichos que difícilmente son colonizados por otros microorganismos. (Khabbaz RF, 1984). Por ello no es sorprendente que se considere a las bacterias del género *Pseudomonas* un

paradigma de versatilidad metabólica, y microorganismos claves en el reciclado de materia orgánica en los compartimentos aeróbicos de los ecosistemas, jugando, por tanto, un papel esencial en la mejora y el mantenimiento de la calidad medioambiental.

8.2 Microalgas

Las microalgas son organismos imperceptibles capaces de descontaminar, almacenar dióxido de carbono (CO₂) y ayudar a frenar el cambio climático. Además, generan biocombustibles y mejoran alimentos y cosméticos. Existen más de 50.000 especies de microalgas que están en el mar, en el agua dulce y en las aguas residuales. (PROFUTURE, 2023).

Son llamadas microalgas a una gran cantidad de especies que constituyen el fitoplancton que abarca desde organismos autótrofos hasta microflagelados y microciliados autótrofos. (Martínez, y otros, 2025). Su posición taxonómica ha sido de gran polémica entre botánicos y zoólogos, como ejemplo podemos mencionar el grupo de los dinoflagelados, conocidos por unos como microalgas y por otros como protozoarios. Estas especies aportan un alto contenido nutricional para peces, crustáceos y moluscos, además de ofrecer facilidades de manejo en sistemas de cultivo tanto en laboratorio como en producción a gran escala con fines comerciales. (Ohese et al., 2015).

8.2.1 Microalgas y su relevancia en acuicultura

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos que forman parte del fitoplancton marino y dulceacuícola. Son autótrofos primarios, capaces de transformar la energía solar en compuestos orgánicos mediante la fotosíntesis, y constituyen la base de la cadena alimenticia en ecosistemas acuáticos. (India, 2023). Su importancia en acuicultura radica en su valor nutricional, especialmente en las etapas larvarias de organismos como camarones, ostras, mejillones y peces marinos. (Gómez, y otros, 2016)

Diversas especies de microalgas son utilizadas como alimento vivo por su contenido en proteínas, lípidos, ácidos grasos esenciales, vitaminas y pigmentos. Además, su tamaño celular, forma y digestibilidad las hacen ideales para ser ingeridas por larvas en desarrollo. (Mingyang & Qiang, 2023)

8.2.2 . Clasificación taxonómica

Reino: Chromista

Filo: Heterokontophyta

Subfilo: Bacillariophytina

Clase: Bacillariophyceae

Subclase: Coscinodiscophycidae

Orden: Thalassiosirales

Familia: Thalassiosiraceae

Género: Thalassiosira

Especies: *T. weissflogii* (Fryxell & Hasle, 1977)

8.2.3 Características de *Thalassiosira weissflogii*.

La diatomea *Thalassiosira weissflogii* es muy utilizada como cultivos acuícolas por su alto valor nutricional y facilidad de cultivo. Tiene una frústula silíceica con dos valvas (epiteca e hipoteca), de morfología corta cilíndrica, mediadas de 4–5 μm , la coloración marrón dorada por la presencia de fucoxantina, la temperatura óptima de crecimiento oscila entre 25 a 28 °C para los medios de cilindros y masivos, para fases iniciales desde fiolas de 250 ml a carboys la temperatura ideal es de 16°C, y una óptima salinidad está en el rango de 26 a 33 ups.

Esta especie es especialmente útil en la alimentación de larvas de crustáceos como los camarones penaeidos, debido a su perfil lipídico y su capacidad de mantenerse en suspensión. Los altos niveles de lípidos y carbohidratos continúan impulsando las tasas de supervivencia y crecimiento. (Vrieling, Poort, & Belen, 2020). Se considera preferible para este fin a otras microalgas disponibles comercialmente, como *Chaetoceros* y *Tetraselmis*, gracias a su mayor tamaño, hace

que sea útil para la alimentación en etapas larvarias más avanzadas. (Heimann & Huerlimann, 2015)

8.2.4 Condiciones de Cultivo de Microalgas

La producción masiva de microalgas puede llevarse a cabo mediante diversas opciones, que incluyen el uso de recipientes de plástico, madera, concreto o incluso estanques de construcción rústica. Además, es posible emplear tanto fertilizantes minerales de uso agrícola como distintos tipos de excretas animales como fuente de nutrientes. (Hernández & Labbé, 2014). El cultivo exitoso de microalgas requiere condiciones controladas que favorezcan su crecimiento y eviten la contaminación.

La salinidad antes mencionada para ésta especie marinas, se utiliza agua de mar filtrada y esterilizada, donde se emplean medios como Guillard (F/2), que contienen nitrógeno, fósforo, vitaminas y oligoelementos para un buen crecimiento celular, la aireación es fundamental el mismo que se utiliza con aire filtrado para mantener las células en suspensión y evitar la sedimentación, y la importancia de mantener una higiene que es fundamental para la desinfección de materiales, tuberías y recipientes para evitar la proliferación de bacterias.

8.2.5 Problemas Sanitarios en Cultivos de Microalgas

Uno de los principales desafíos en la producción de microalgas es la contaminación por bacterias patógenas, especialmente del género *Pseudomonas*. Estas bacterias Gram-negativas pueden alterar el crecimiento de las microalgas, reducir su calidad nutricional y provocar la pérdida total del cultivo cuando este patógeno está con exponentes mayor a 5.

Esta bacteria que se encuentra con exponentes elevados entra en competencia con las células de microalgas por nutrientes, oxígeno, y por la disponibilidad de carbonos en el cultivo, siendo un problema constante en la seguridad del cultivo, afectando el crecimiento óptimo de las células afectando de esta manera las densidades celulares.

9 MARCO METODOLÓGICO

9.1 Ubicación

El presente trabajo se realizó en el laboratorio PROMARISCO S.A. ubicado en la Comuna Pechiche de la parroquia Chanduy, Provincia de Santa Elena en las coordenadas de S2°23'12" y O80°44'41. El laboratorio consta de 3 salas de producción, tal como se muestra en la (Figura 1).

Figura 1.

Ubicación de empresa PROMARISCO S.A.



Nota. La Figura 1. Laboratorio PROMARISCO S.A. ubicado en la comuna El Real - parroquia Chanduy. (Google Earth, 2025).

9.2 Extracción y aislamiento de bacterias patógenas

Las bacterias se extrajeron de un cultivo masivo de microalgas infectado con bacterias del género *pseudomonas*. Se sembró en agar selectivo Chromoagar *Pseudomonas* y se incubó en una procesadora de cultivo bacteriológico QUIMIS 11807 a 30°C durante 24 horas. Luego, se procedió a la purificación en agar TCBS, para la inoculación de la bacteria al agua de siembra. (Chromoagar, 2025).

Se identificaron *Pseudomonas* sp según su pigmentación azulada, específica a las 24 horas. Se aislaron individualmente usando un asa de platino y se sembraron en diferentes placas de agar Chromoagar *pseudomonas*. (Chromoagar, 2025)

9.3 Purificación de la bacteria

Para la purificación se tomó una muestra de cepa de *Pseudomonas* sp., colocándola por separado en placas con agar TSA + 2.5% de ClNa, dependiendo la salinidad. (Ping, Danli, Mengdi, Yongqing, & Qingqing, 2022).

9.4 Preparación del inóculo bacteriano para la contaminación de agua.

Se inoculó una colonia bacteriana de una placa de agar con un asa de platino en 10 ml de medio líquido (agua de peptona) y se incubó en la estufa a 30°C durante 2 a 5 horas hasta conseguir la turbidez deseada de la escala de Mac Farland. Si la turbidez supera lo deseado se utiliza suero salino estéril. (Cheryl & Chun, 2010).

9.5 Descripción del ácido orgánico comercial.

Se trabajó con este ácido orgánico comercial dado que está comprobado en el control de pH en cultivos acuícolas, el cual es una premezcla acidificante que está compuesto de ácido fórmico y de ácido lignosulfónico, es un potente acidificante que controla el pH sus características físicas son de color marrón, olor picante, una densidad de 1,180 a 1,200 g/ml y una acidez de 600 a 800 mg KOH/g. (Mise, 2024).

Se utilizó tres concentraciones del ácido orgánico comercial el cual fue determinado por método de tanteo, realizando pruebas previas, obteniendo 5mg/L como concentración 1 (C1), 9mg/L como concentración 2 (C2), y 12mg/L como concentración 3 (C3), estas concentraciones se aplicarán en los bioensayos desde la fase de carboys, cilindros y masivos.

9.6 Utilización del ácido orgánico en tres concentraciones probado en *Thalassiosira weissflogii*.

Para este estudio se utilizará cepas aisladas en tubos de 20ml que se encuentran en fase exponencial, este proceso lleva 3 días, luego se colocan en fiolas de 250ml, posterior a 3 días más se siembran en fiolas de 2 litros, luego de 3 días de este proceso se las coloca en fundas de 20 litros que esta funda sería una matriz, luego de tres días dividiremos esta matriz a diferentes fundas de 12 litros de igual

manera, a esto se las denomina como carboys, donde a partir de esa fase procederemos a realizar las pruebas del ácido orgánico.

Se preparará los carboys con agua de mar a 33ppt de salinidad, más las tres concentraciones del ácido orgánico el cual se analizará por tres días consecutivo observando una adecuada densidad celular y para una seguridad de que no exista una elevada carga bacteriana se analizará cada cultivo con análisis microbiológicos.

9.7 Estudio de la cinética de crecimiento y control de microalgas en fundas de 20 litros.

Las diferentes concentraciones de ácido orgánico, se utilizará como una medida profiláctica en los diferentes cultivos de microalgas. Se llenarán fundas con 10 litros de agua filtrada de manera directa tratada con hipoclorito de sodio, y neutralizado el cloro con tiosulfato, de la misma manera se utilizará fertilizante, luego de esto se coloca el ácido orgánico (C1, C2 Y C3). Se realizará un control sobre la cinética de crecimiento y microbiología, el cual utiliza una cámara de Neubauer para los recuentos diarios.

Previo a esto se realizó a la entrada de agua un cultivo microbiológico, con el propósito de obtener una carga bacteriana inicial, esta agua fue filtrada por carbón activado y filtros de piolas.

9.8 Control de bacterias y cinética de crecimiento y control de microalgas en fundas de 20 litros.

Para los análisis de control bacteriano se muestrearon en el segundo día, después de la siembra de los cultivos de microalgas para realizar pruebas de microbiología en ChroMoagar pseudomona, adicionalmente se realizaron conteos diarios en el hemocitómetro. Obteniendo datos diarios de densidad celular podremos ver la viabilidad de la célula en relación de las unidades formadoras de colonias (UFC) en cada medio de cultivo que estuvo con el tratamiento.

9.9 Control de bacterias y cinética de crecimiento y control de microalgas en cilindros de una tonelada.

Se llenaron 3 cilindros con 900 litros de agua con su debido tratamiento y más (tres concentraciones) de ácido orgánico, para luego colocarle los fertilizantes y luego de 30 minutos se colocará el inóculo para la replicación de las microalgas. Luego de esto se le coloca 5 fundas de 20 litros para completar así la tonelada, de la misma manera se hizo un control microbiológico, analizando en el segundo día después del inóculo para obtener un resultado en el tercer día, donde veremos la viabilidad de las microalgas.

9.10 Protocolo de dosificaciones de acuerdo con las concentraciones requeridas.

Si bien es cierto la metodología nos indica que después del llenado y el tratamiento previo del agua se realiza la aplicación del ácido orgánico comercial, adicionalmente se dosificará ésta concentración para tratar de tener una menor afectación al cultivo de *T. weissflogii*.

9.11 Diseño experimental.

Se utilizará el método guillar F2, (Guillard & Ryther, 1962), y modificado por Nichols & Bold, (1965), para las replicaciones de las microalgas, en los procesos previo a la de experimentación, donde adicionalmente se aplicarán las tres concentraciones en fundas, cilindros y masivos, antes de que se inocule las replicaciones de los medios de cultivos de *Thalassiosira weissflogii*.

Las fundas tendrán un volumen de 12 litros de agua filtrada, con tratamiento de hipoclorito de sodio y neutralizado con tiosulfato en relación 1:1 y manteniendo un pH ligeramente alcalino (8-8.5), temperatura de 25 a 26°C, una vez aplicado se recolectará muestra del agua para su respectivo análisis microbiológico, luego se aplicará las concentraciones mencionadas del ácido orgánico comercial, añadiendo los nutrientes según el método Guillar F2 haciendo la fase de experimentación según el método tradicional para luego inocular las microalgas para su respectiva

replicación. Después de dos días de haber replicado las microalgas se recolecta una muestra para su respectivo análisis. Se observará en el microscopio con la ayuda de una cámara de Neubauer para su respectiva revisión diaria en el crecimiento de densidad.

Los cilindros tendrán un volumen de 900 litros de agua filtrada y tratada con hipoclorito de sodio y neutralizadas con tiosulfato, una vez aplicado se recolectará muestra del agua para su respectivo análisis microbiológico, luego se aplicará las concentraciones mencionadas de ácido orgánico comercial, añadiendo los nutrientes según el método Guillar F2 para luego inocular las microalgas para su respectiva replicación, luego de esto recolectamos una nueva muestra para su análisis microbiológico. Después de tres días de haber replicado las microalgas se recolecta una nueva muestra para su respectivo análisis. Se observará en el microscopio con la ayuda de una cámara de Neubauer para su respectiva revisión diaria.

Los masivos tendrán un volumen de 16 toneladas de agua filtrada y tratada con hipoclorito de sodio y neutralizadas con tiosulfato, una vez aplicado se recolectará muestra del agua para su respectivo análisis microbiológico, luego se aplicará las concentraciones mencionadas de ácido orgánico, se le añade los nutrientes según el método Guillar F2 para posteriormente inocular las microalgas para su respectiva replicación (10%), luego de esto recolectamos una nueva muestra

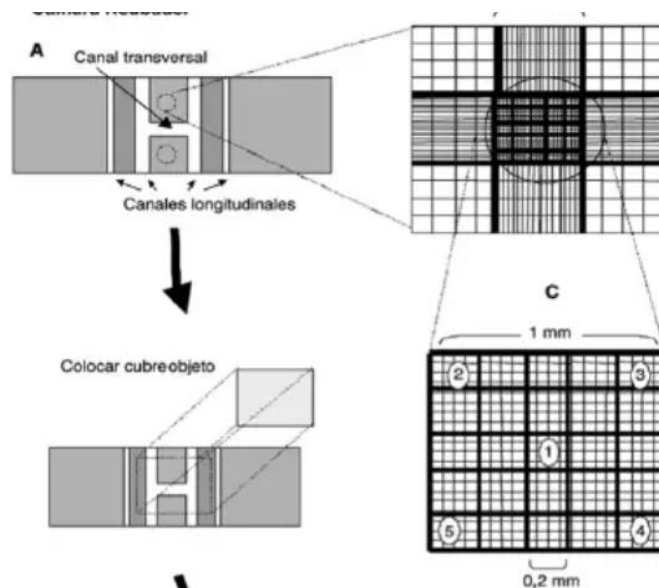
para su análisis microbiológico. Después de tres días de haber replicado las microalgas se recolectará una nueva muestra para su respectivo análisis. Se observará en el microscopio con la ayuda de una cámara de Neubauer para su respectiva revisión diaria.

9.12 Conteo de densidad celular de las microalgas.

Para la determinación de la densidad celular por mililitros, se contaron en la última etapa de cultivo de microalgas, esto será al tercer día del cultivo, se contaron los 5 cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer, multiplicando por cinco y por 10000 para llegar al ml requerido para determinar la densidad total del medio de cultivo. (Cognita, 2023; Alejos Cabrera, 2023). /Figura 2).

Figura 2.

Cámara de Neubauer



Nota: La Figura 2 indica el procedimiento para la realizar el conteo y establecer densidades alcanzadas en los bioensayos. Fuente. (Cognita, 2023).

9.13 Conteos de colonias bacterianas (UFC/ML)

Para el conteo realizaremos previamente la técnica de vertido en placa o también denominado como sembrado por profundidad, se realizó el siguiente procedimiento. (Gil, 2023).

Homogenizar la muestra con el fin de redistribuir las bacterias presentes, luego se realiza una suspensión inicial en un tubo de ensayo estéril, respetando la relación 1 ml de muestra en 9 ml de diluyente (10^{-1}). Este será nuestra dilución para el análisis de las muestras dado que son especies celulares microscópicos y se usaran cálculos en mililitros. (Gil, 2023)

Se tomó 1 ml de cada dilución y se colocan en placas de Petri estériles vacías, para luego agregar a cada placa 10 ml de agar cuenta estándar previamente fundido y reposado a 40°C aproximadamente. (Gil, 2023). Moviendo de forma circular las placas distribuyendo uniformemente la muestra con el agar, para luego dejar solidificar. Después de haber sembrado se debe invertir las placas e incubar a 30°C en incubadoras por 24 a 48 horas. Culminado el tiempo, se procede a contar

las colonias en la dilución que así lo permita. Se elige para el contaje a aquellas placas que tengan entre 30 a 300 UFC. (Gil, 2023)

9.14 Fórmula para el conteo de UFC/ML

Ecuación para el cálculo del número de microorganismos presentes en una muestra, utilizando una media corregida de dos diluciones consecutivas.

$$N = \frac{\sum C}{V * 1,1 * d}$$

$\sum C$ = Suma de las colonias obtenidas en dos diluciones.

V = ml transportados a la caja de Petri

d = Corresponde a la primera dilución elegida. Si se usa la muestra sin diluir el valor (d) será 1.

9.15 Morfología y Cinética de Crecimiento.

Se utilizó microscopio óptico para observar la morfología de las células de microalgas, haciendo un análisis descriptivo sobre la calidad y salud. Sobre la cinética de crecimiento, la frecuencia de los conteos se realizó cada 24 horas en cámara de Neubauer después de sembrar el cultivo de microalga, se determinó la tasa de crecimiento obteniendo el promedio de conteo por día realizado en la misma hora con la siguiente fórmula. (Eze, V., et al., 2018)

$$\% = \frac{Nt - No}{Ni} \times 100$$

9.16 Análisis Estadísticos.

De acuerdo con los datos que se obtuvo, se aplicó la prueba de correlación de PEARSON para cumplir el tercer objetivo, esperando una correlación negativa muy fuerte, que nos sugiere en este caso, de que a medida que aumenta la carga bacteriana, la densidad de microalgas disminuye, reflejándose así un efecto competitivo entre las bacterias y las células de microalgas.

Para este tipo de pruebas de correlación obtendremos mínimo nueve pares de datos entre la densidad celular y los resultados arrojados en la microbiología de acuerdo a las UFC/ml detectados en cada tratamiento de las tres concentraciones.

10 . ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

10.1 Resultados de efecto inhibitorio contra bacteria Pseudomonas sp.

10.1.1 Efectividad de la aplicación de 5mg/L del ácido orgánico

Las unidades formadoras de colonias iniciales (UFC/ml) variaron entre $2,0 \times 10^2$ y $7,30 \times 10^2$ UFC/ml. Después de la aplicación del tratamiento, los valores disminuyeron drásticamente, alcanzando 0 UFC/ml en los sistemas Carboys y

Cilindro durante los dos primeros bioensayos, (Tabla 1). El sistema Masivo presentó valores residuales de entre 1.0×10^1 y 4.0×10^1 UFC/ml. En la última prueba de bioensayo, hubo crecimiento bacteriano en rango de 10–20 UFC/ml en todos los cultivos. (Tabla 2).

Tabla 2.

Resultados finales con aplicación de 5 mg/L de ácido orgánico.

Conteo de UFC/ml con T1- 5mg/L de Ácido Orgánico				
Fecha inicio de bioensayos	UFC Iniciales	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	5,60E+02	0,00E+00	0,00E+00	1,00E+01
08/10/2025	7,30E+02	0,00E+00	0,00E+00	4,00E+01
20/10/2025	2,0E+02	1,00E+01	2,00E+01	1,00E+01

Nota. La Tabla 2 presenta conteo de UFC/ml en tres medios experimentales (Carboys, Cilindro y Masivo) sometidas a un tratamiento de ácido orgánico. Fuente: Elaboración propia.

10.1.2 Efectividad de la aplicación de 9mg/L de ácido orgánico.

Para el tratamiento de 9mg/L también se inició con las mismas UFC inicial de 2.0 a 7.3×10^2 . Una vez aplicado el tratamiento, se observó en los medios de cultivos de carboys y cilindros una acción inhibitoria total en esos cultivos y en todos los bioensayos realizados. de muestreo,

En los cultivos de masivos también se evidenció una capacidad total inhibitoria a excepto del primer bioensayo, que tuvo un crecimiento de 2.0×10^1 UFC/ml, (Tabla 3)

Tabla 3.

Resultados finales con aplicación de 9 mg/L de ácido orgánico.

Conteo de UFC/ml con Tratamiento 9ppm de Ácido Orgánico				
Concentración inicial	UFC/ml Iniciales	Carboys	Cilindro	Masivo
C.I. 30/09/2025	5,60E+02	0,00E+00	0,00E+00	2,00E+01
C.I. 08/10/2025	7,30E+02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00
C.I. 20/10/2025	2,0E+02	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00

Nota. La Tabla 3 presenta conteo de UFC/ml en tres medios experimentales (Carboys, Cilindro y Masivo) sometidas a un tratamiento de ácido orgánico. Fuente: Elaboración propia.

10.1.3 Efectividad de la aplicación de 12mg/L de ácido orgánico

En la Tabla 4 se visualiza los resultados del tratamiento con 12mg/L, la inestabilidad en el medio se reflejó por el crecimiento bacteriano en todos los sistemas del cultivo de los tres bioensayos con excepción del cultivo de cilindro, donde no se presencié crecimiento bacteriano en la fecha del 30 de septiembre.

Tabla 4.

Resultados con aplicación de 12 mg/L de ácido orgánico.

Conteo de UFC/ml con Tratamiento 12mg/L de Ácido Orgánico				
Fecha de inicio	UFC Iniciales	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	5,60E+02	1,20E+01	0,00E+00	8,00E+01
08/10/2025	7,30E+02	1,00E+01	3,00E+01	7,00E+01
20/10/2025	2,0E+02	4,00E+01	3,00E+01	6,00E+01

Nota. La Tabla 4 presenta conteo de UFC/ml en tres medios experimentales (Carboys, Cilindro y Masivo) sometidas a un tratamiento de ácido orgánico. Fuente: Elaboración propia.

10.1.4 Resultados de tratamiento control

En el tratamiento control, se observó persistencia del crecimiento microbiano en los tres medios de cultivos analizados (Carboys, Cilindro y Masivo), sin embargo, la carga bacteriana se redujo en un exponencial, el resultado final estuvo entre 1.0×10^1 y 1.6×10^2 UFC/ml, la supervivencia de las bacterias patógenas se produjo por las condiciones en el medio, puesto que este bioensayo no se le aplicó ácido orgánico comercial y comparados con los tres tratamientos antes mencionados se confirma que la presencia del ácido orgánico ayuda a la eliminación y a la reducción de este agente patógeno. (Tabla 5).

Tabla 5.

Resultados de Prueba Control.

Resultados Finales de Prueba Control				
Fecha inicial	UFC/ml Iniciales	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	5,60E+02	3,00E+01	5,00E+01	4,10E+01
08/10/2025	7,30E+02	1,00E+01	1,00E+01	1,20E+02
20/10/2025	2,0E+02	1,60E+02	5,00E+01	1,00E+01

Nota. La Tabla 5 presenta conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) sin tratamiento de ácido orgánico. Fuente: Elaboración propia.

10.2 Cinética de Crecimiento de *Thalassiosira weissflogii*.

La cinética de crecimiento que tuvo el cultivo de microalgas solo se contabilizaron células de buen tamaño y forma, el tratamiento de 5 mg/L en sistemas de masivos tuvo un mejor crecimiento en las primeras 24 horas con 172%, seguido de cilindros con 113% en 48 horas, pero manteniéndose con un alto exponencial de crecimiento en sistemas de carboys con un 80% promedio en 48 y 72 horas. Tabla 6.

Tabla 6.

Promedio de Datos de Cinética de Crecimiento T1- 5mg/L.

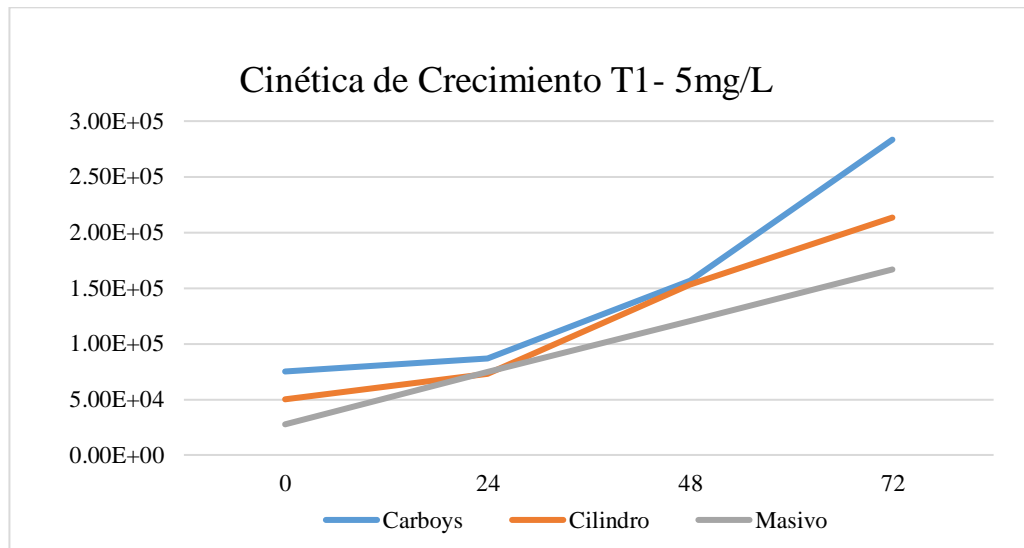
Cinética de Crecimiento T1- 5mg/L						
Horas	Carboys	%	Cilindro	%	Masivo	%
0	7,50E+04	-	5,00E+04	-	2,75E+04	-
24	8,67E+04	15,56%	7,25E+04	45,00%	7,50E+04	172,73%
48	1,57E+05	80,77%	1,53E+05	111,49%	1,20E+05	60,00%
72	2,83E+05	80,85%	2,13E+05	39,13%	1,67E+05	38,89%
	Promedio(%)	59,06%		65,21%		90,54%

La Figura 4 muestra el crecimiento celular del cultivo de microalgas en tres sistemas diferentes, en Carboys tuvo un crecimiento de 75'000 a 283'000 siendo este el más

estable, en sistemas de cilindros crece de forma continua, pero con menor pendiente final.

Figura 3.

Cinética de crecimiento con tratamiento de 5mg/L.



Fuente. Elaboración propia

A continuación, se describe la cinética de crecimiento con el tratamiento de 9mg/L, dónde se detalla el bloom en las primeras 48 horas, en sistemas de Carboys y Cilindros, y decayendo de manera significativa al término de las 72 horas, en sistemas de masivos se observa un buen crecimiento que sobrepasa el 100%, siendo el más alto con este tratamiento, pero que después de las 48 horas merma su crecimiento. (Tabla 7).

Tabla 7.

Promedio de Datos sobre la Cinética de Crecimiento T2- 9mg/L.

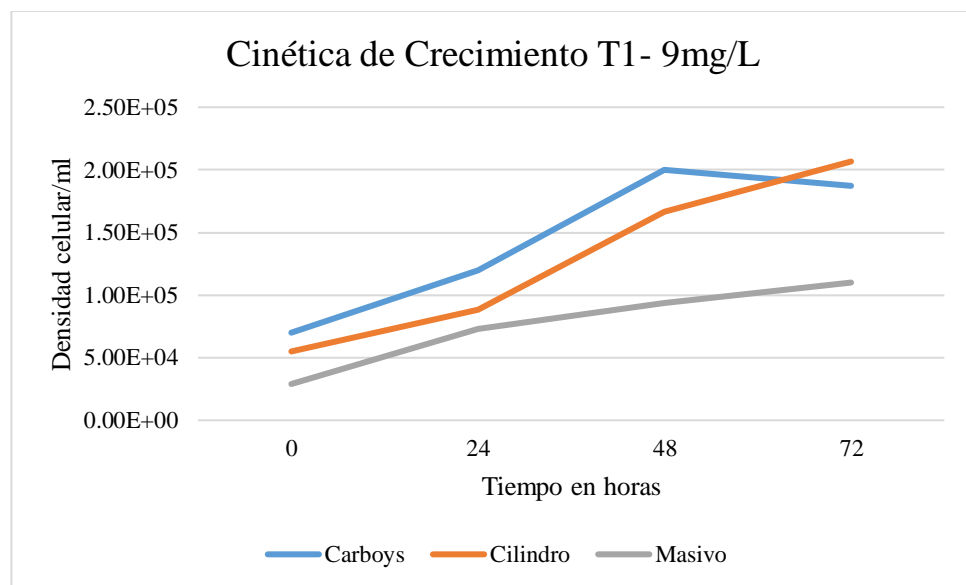
Cinética de Crecimiento T1- 9mg/L

Horas	Carboys	%	Cilindro	%	Masivo	%
0	7,00E+04	-	5,50E+04	-	2,90E+04	-
24	1,20E+05	71,43%	8,83E+04	60,61%	7,33E+04	152,87%
48	2,00E+05	66,67%	1,67E+05	88,68%	9,33E+04	27,27%
72	1,88E+05	-6,25%	2,07E+05	24,00%	1,10E+05	17,86%
Promedio(%)		43,95%		57,76%		66,00%

La Figura 5, muestra las líneas de crecimiento que tienen los tres sistemas de cultivos, cilindros refleja una línea creciente con mayor consistencia, a diferencia de carboys que decae en el término de 72 horas.

Figura 4.

Cinética de crecimiento T2- 9mg/L



Fuente. Elaboración propia

Con los datos obtenidos realizamos el promedio sobre la cinética de crecimiento de las microalgas con el tratamiento de 12mg/L observándose

porcentajes de crecimientos consistentes en Carboys en 48 y 72 horas, y de manera irregular en sistemas de Cilindro y en Masivos existió crecimientos paulatinos propios del sistema.(Tabla 8).

Tabla 8.

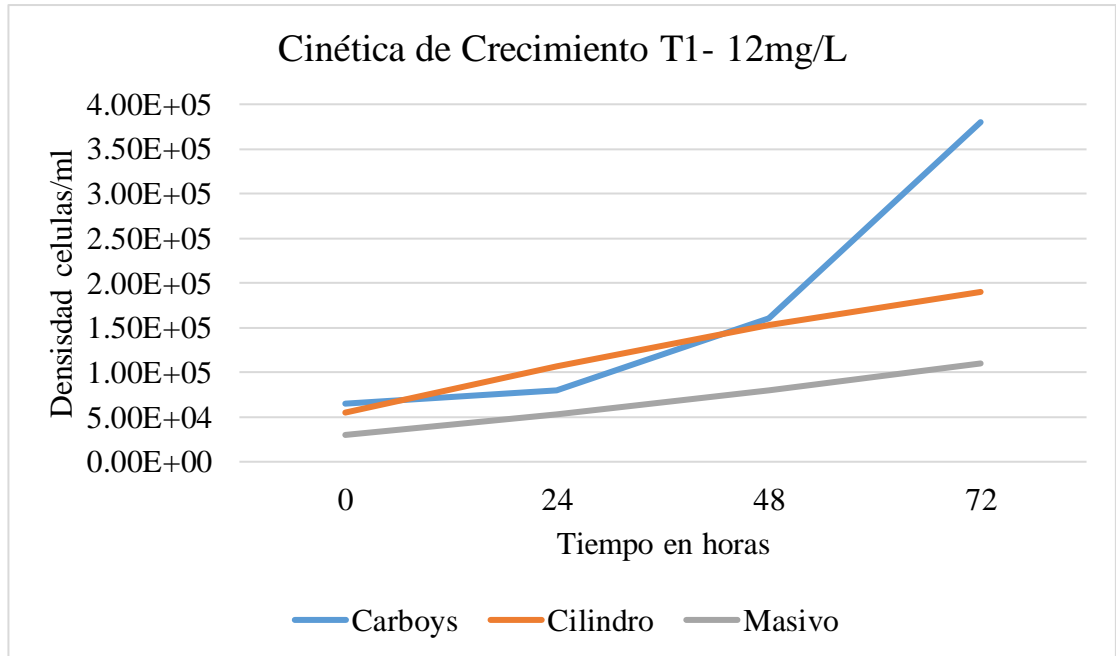
Promedio de Datos de *Cinética de Crecimiento T1- 12mg/L*.

Cinética de Crecimiento T1- 12mg/L						
Horas	Carboys	%	Cilindro	%	Masivo	%
0	6,50E+04		5,50E+04		3,00E+04	
24	8,00E+04	23,08%	1,07E+05	93,94%	5,33E+04	77,78%
48	1,60E+05	100,00%	1,53E+05	43,75%	8,00E+04	50,00%
72	3,80E+05	137,50%	1,90E+05	23,91%	1,10E+05	37,50%
Promedio(%)		86,86%		53,87%		55,09%

En la Figura 6 representamos las líneas de crecimiento de cada sistema de cultivo, donde el sistema Carboys muestra una línea de crecimiento mayor en relación a los otros dos sistemas de cultivos, donde cilindro tuvo un crecimiento fuerte, su pendiente disminuye a las 72 horas, el sistema de Masivo su curva de crecimiento es más plana.

Figura 5.

Líneas de Cinética de Crecimiento del T3 – 12 mg/L.



Fuente. Elaboración propia.

En el medio de control en las primeras 24 horas en el sistema de Carboys fueron porcentualmente menores con el 28,57% resaltando el medio de cultivo de masivos con 126% de crecimiento. En las siguientes 48 horas el medio de cultivo de Carboys al de Masivo con 77,78% y 57,89% respectivamente, y cilindros fue mayor con 107,41%, al término de las 72 horas el sistema Carboys superó a los dos sistemas con 145%, reflejando una cinética ascendente en este medio, no así en los medios de cilindros y masivos los cuales descendieron su crecimiento al término de las 72 horas. (Tabla 9).

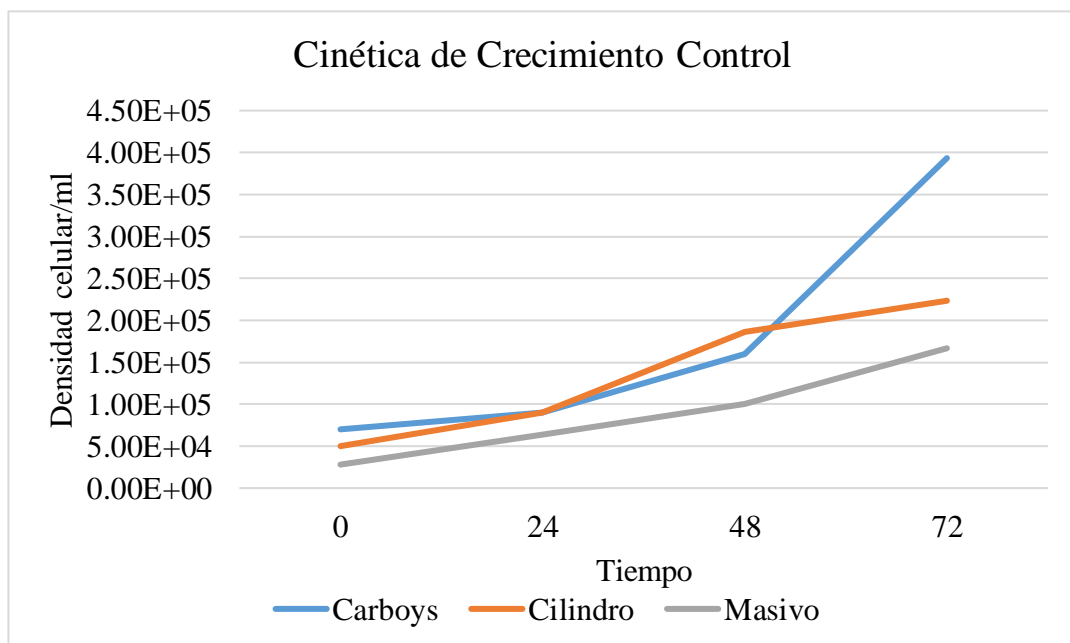
Tabla 9.

Promedio de Datos de Cinética de Crecimiento Control.

Cinética de Crecimiento Control						
Horas	Carboys	%	Cilindro	%	Masivo	%
0	7,00E+04		5,00E+04		2,80E+04	
24	9,00E+04	28,57%	9,00E+04	80,00%	6,33E+04	126,19%
48	1,60E+05	77,78%	1,87E+05	107,41%	1,00E+05	57,89%
72	3,93E+05	145,83%	2,23E+05	19,64%	1,67E+05	66,67%
	Promedio(%)	84,06%		69,02%		83,58%

El sistema de Carboys muestra una gráfica lineal de cinética de crecimiento ascendente durante los monitoreos en las 72 horas, mientras que Masivos y Cilindros la gráfica muestra un crecimiento regular en el transcurso de las 72 horas. (Figura 7).

Figura 6. Líneas de Cinética de Crecimiento del Control



Fuente. Elaboración propia

10.3 Resultados de densidad celular.

10.3.1 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 5mg/L.

En la Tabla 10 se muestra densidades celulares obtenidas con el tratamiento de 5 mg/L evidencian la seguridad y compatibilidad del ácido orgánico comercial, puesto que se mantuvieron en rangos óptimos en todos los medios de cultivo evaluados durante el bioensayo.

Tabla 10. *Resultados de densidades celulares con tratamiento de 5mg/L.*

Densidad Celular con 5mg/L de Ácido Orgánico			
Fecha inicio	Carboys	Cilindro	Masivo
C.I. 30/09/2025	200000	180000	180000
C.I. 08/10/2025	350000	200000	180000
C.I. 20/10/2025	300000	260000	140000

Nota. La Tabla 10 presenta conteo de densidades celulares en los tres medios de cultivos realizados en los bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.3.2 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 9mg/L

En la Tabla 10 se muestra densidades celulares se mantuvo dentro de rangos adecuados para el desarrollo microbiano, con valores comprendidos entre 100.000 y 270.000 cel/ml, sin evidenciar inhibición significativa del crecimiento.

Los medios de cultivos, Carboys y Cilindro presentaron densidades relativamente estables, con ligeras variaciones entre las fechas de muestreo, lo que sugiere que la concentración de 9mg/L de ácido orgánico no afectó de forma negativa la viabilidad celular. En el sistema Masivo, aunque las densidades fueron de 100.000 cel/ml, se mantuvieron constantes a lo largo del ensayo, lo que indica una adecuada adaptación celular al tratamiento. (Tabla 11).

Tabla 11. *Densidad celular (cel/ml) obtenida en muestras tratadas con 9 mg/L de ácido orgánico.*

Densidad Celular con 9mg/L de Ácido Orgánico			
Fecha Inicio de Prueba	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	250000	200000	130000
08/10/2025	230000	200000	100000
20/10/2025	270000	220000	100000

Nota. La Tabla 11 presenta conteo de densidades celulares en los tres medios de cultivos realizados en los tres bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.3.3 Resultados de densidad celular alcanzados con tratamiento de 12mg/L

Los valores iniciales de densidad celular (expresados en células por mililitro) muestran variaciones entre los diferentes sistemas y fechas. En los carboys, las densidades registradas fluctuaron entre 340 000 y 400 000 células/ml, (Tabla 11) alcanzando los valores más altos en las pruebas del 30 de septiembre y 20 de octubre. En el sistema de cilindro, las densidades variaron de 180 000 a 200 000 células/mL, mientras que en el sistema masivo se obtuvieron los valores más bajos, entre 100 000 y 120 000 células/ml.

El cultivo carboys mantuvo mayores densidades celulares en comparación con los otros cultivos, lo que sugiere una mayor eficiencia en el crecimiento celular bajo las condiciones de ensayo con 12 mg/L de ácido orgánico. Por el contrario, el cultivo cilindro presentó las menores densidades en todas las fechas evaluadas, a diferencia de masivos que se mantuvo en rangos óptimos. (Tabla 12).

Tabla 12. *Densidad celular con tratamiento con 12mg/L*

Resultados de Densidad Celular con 12mg/L de Ácido Orgánico			
Fecha inicio	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	400000	180000	120000
08/10/2025	340000	200000	110000
20/10/2025	400000	190000	100000

Nota. La Tabla 12 presenta conteo de densidades celulares en los tres medios de cultivos realizados en los tres bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.3.4 Resultados de densidad celular alcanzados en prueba control.

Las densidades de células por mililitro mostraron diferencias tanto entre los distintos sistemas de cultivos como en las fechas analizadas. En el sistema de carboys, los valores variaron oscilaron entre 350 000 y 450 000 células/ml, alcanzó una densidad mayor en el bioensayo realizado el 20 de octubre. En el cilindro, las densidades se mantuvieron entre 200 000 y 250 000 células/ml, viéndose con una densidad celular baja en relación al promedio que este medio de cultivo mayormente presenta, mientras que el sistema masivo presentó los niveles

normales, con un intervalo de 150000 a 180000 en relación a los medios que fueron tratados con el ácido orgánico. (Tabla 13)

Tabla 13. *Densidad celular Prueba control.*

Resultados de Densidad Celular Prueba Control			
Fecha inicio de prueba	Carboys	Cilindro	Masivo
30/09/2025	380000	200000	170000
08/10/2025	350000	220000	180000
20/10/2025	450000	250000	150000

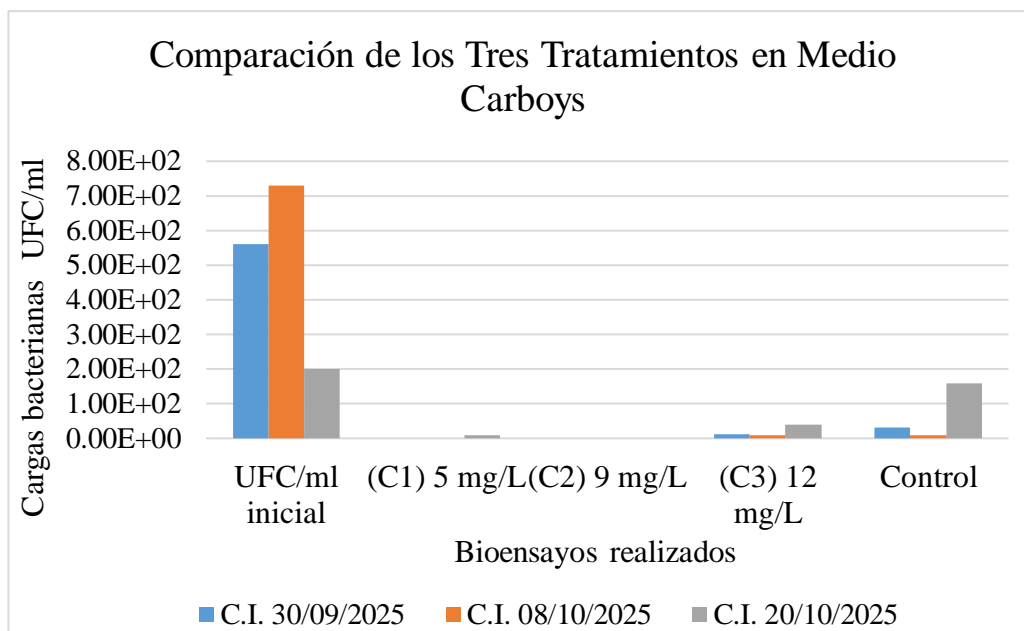
Nota. En la Tabla 13 se presentan los resultados correspondientes a la densidad celular obtenida en el Prueba control. Fuente: Elaboración propia.

10.4 Comparación de los Tres Tratamientos

10.4.1 Comparación de los tres tratamientos en cultivo Carboys

Los conteos iniciales en el medio de cultivo Carboys, existió una inhibición total con la concentración intermedia de 9mg/L, y en los dos tratamientos restantes hubo crecimiento mayor en el tercer bioensayo. (Figura 8).

Figura 7. Comparación de los tres tratamientos en medio carboys.

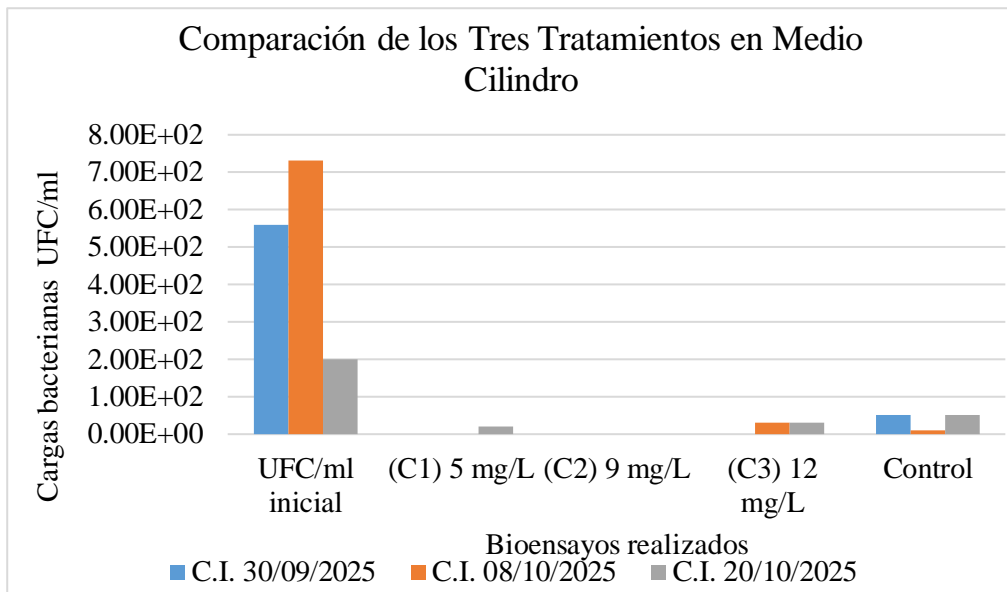


Nota: La Figura 8 presenta resultados de los valores de comparación sobre los tres tratamientos en los tres bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.4.2 Comparación de los Tres Tratamientos en Medio Cilindro

Los conteos iniciales en el medio de cultivo cilindro de la misma manera existió una inhibición total con la concentración intermedia de 9mg/L, y en los dos tratamientos restantes hubo crecimiento en el tratamiento de 12 mg/L y en el de control. Existió un leve crecimiento en el tratamiento de 5mg/L en el tercer bioensayo. (Figura 9).

Figura 8. Resultados de los Tres Tratamientos en Medio Cilindro.

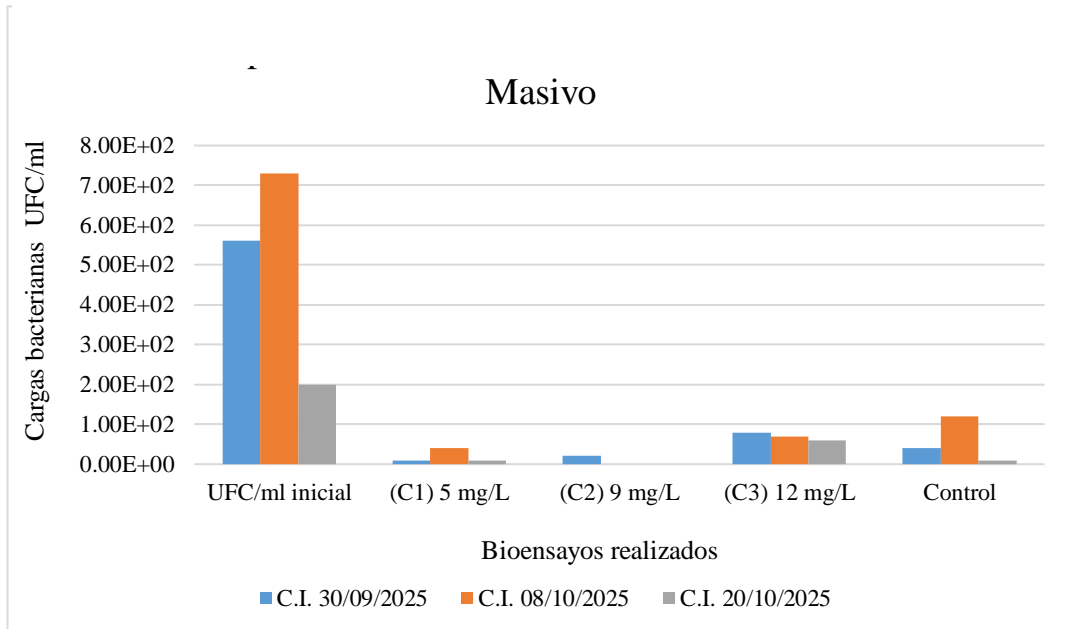


Nota: La Figura 9 presenta resultados de los valores de comparación sobre los tres tratamientos en los tres bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.4.3 Comparación de los Tres Tratamientos en Medio Masivo

En el medio de masivos hubo mayor crecimiento con el tratamiento de 12 mg/L viéndose una inestabilidad en la aplicación en esta concentración, de la misma manera hubo crecimiento en el bioensayo control, con el tratamiento de 5mg/L existió un crecimiento en menor exponencial y el tratamiento de 9mg/L hubo crecimiento de 20 UFC/ml corroborando este tratamiento como el de mejor resultado. (Figura 10).

Figura 9. Resultados de los tres tratamientos en medios masivos.



Nota: La Figura 10 presenta resultados de los valores de comparación sobre los tres tratamientos en los tres bioensayos. Fuente: Elaboración propia.

10.5 Correlación de Pearson aplicado a los bioensayos en relación a conteos de unidades formadoras de colonias y densidades celulares.

La Tabla 14 muestra los resultados finales de las densidades celulares/ml alineados con las unidades formadoras de colonia que se obtuvieron luego de los tratamientos con ácido orgánico utilizados en los tres sistemas de cultivos de los bioensayos realizados.

Tabla 14.

Resultados Finales de UFC/ml en Medios de Cultivos y de Densidad Celular/ml.

Medios de Cultivos	UFC Final/ml	Densidad Celular/ml
CARBOYS	0,00E+00	200000
	0,00E+00	350000
	1,00E+01	300000
	0,00E+00	250000
	0,00E+00	230000
	0,00E+00	270000
	1,20E+01	400000
	1,00E+01	340000
	4,00E+01	400000
	3,00E+01	380000
	1,00E+01	350000
	1,60E+02	450000
CILINDRO	0,00E+00	180000
	0,00E+00	200000
	2,00E+01	260000
	0,00E+00	200000
	0,00E+00	200000
	0,00E+00	220000
	0,00E+00	180000
	3,00E+01	200000
	3,00E+01	190000
	5,00E+01	200000
	1,00E+01	220000
	5,00E+01	250000

MASIVO	1,00E+01	180000
	4,00E+01	180000
	1,00E+01	140000
	2,00E+01	130000
	0,00E+00	100000
	0,00E+00	100000
	8,00E+01	120000
	7,00E+01	110000
	6,00E+01	100000
	4,10E+01	170000
	1,20E+02	180000
	1,00E+01	150000

Nota. En la Tabla 14 se presentan datos totales de UFC/ml en relación con las densidades alcanzadas en el cultivo. Fuente: Elaboración propia.

El análisis del coeficiente de correlación de Pearson, el valor que se obtuvo para los carboys fue de 0,6606. revela una correlación positiva moderada. Esto indica que existe una relación directa entre el tratamiento con ácido orgánico y el control, muestran una densidad moderada y seguridad en el cultivo de Carboys. (Tabla 15).

En cilindros el coeficiente de correlación fue de 0,3688, lo cual es una correlación positiva débil, que sugiere una relación menos estable entre todos los tratamientos. las características físicas propias del sistema. Las características

físicas propias del medio de cultivo son las responsables sobre variabilidad en el comportamiento de la densidad celular en relación al crecimiento bacteriano. (Tabla 15).

Por lo contrario, el cultivo masivo presenta un coeficiente muy bajo ($r = 0,1903492530$), lo que indica una correlación casi nula entre las dos variables como la densidad celular del tratamiento y la del control. El resultado sugiere, en sistemas de mayor escala, el efecto del ácido orgánico sobre el crecimiento celular podría estar condicionado por otros factores, como la eficiencia en el sistema de aireación, la homogenización de nutrientes o las diversas variables ambientales. (Tabla 15).

Los datos reflejan que la respuesta al ácido orgánico va a depender según el tipo de sistema de cultivo, carboys el sistema que muestra una relación positiva moderada puesto que es más cercano a 1 a diferencia de los otros sistemas de cultivos que fueron casi nulos.

Tabla 15.

Resultados Correlación de Pearson entre densidad celular y UFC/ml de los tres medios de cultivos, Carboys, Cilindros y Masivos.

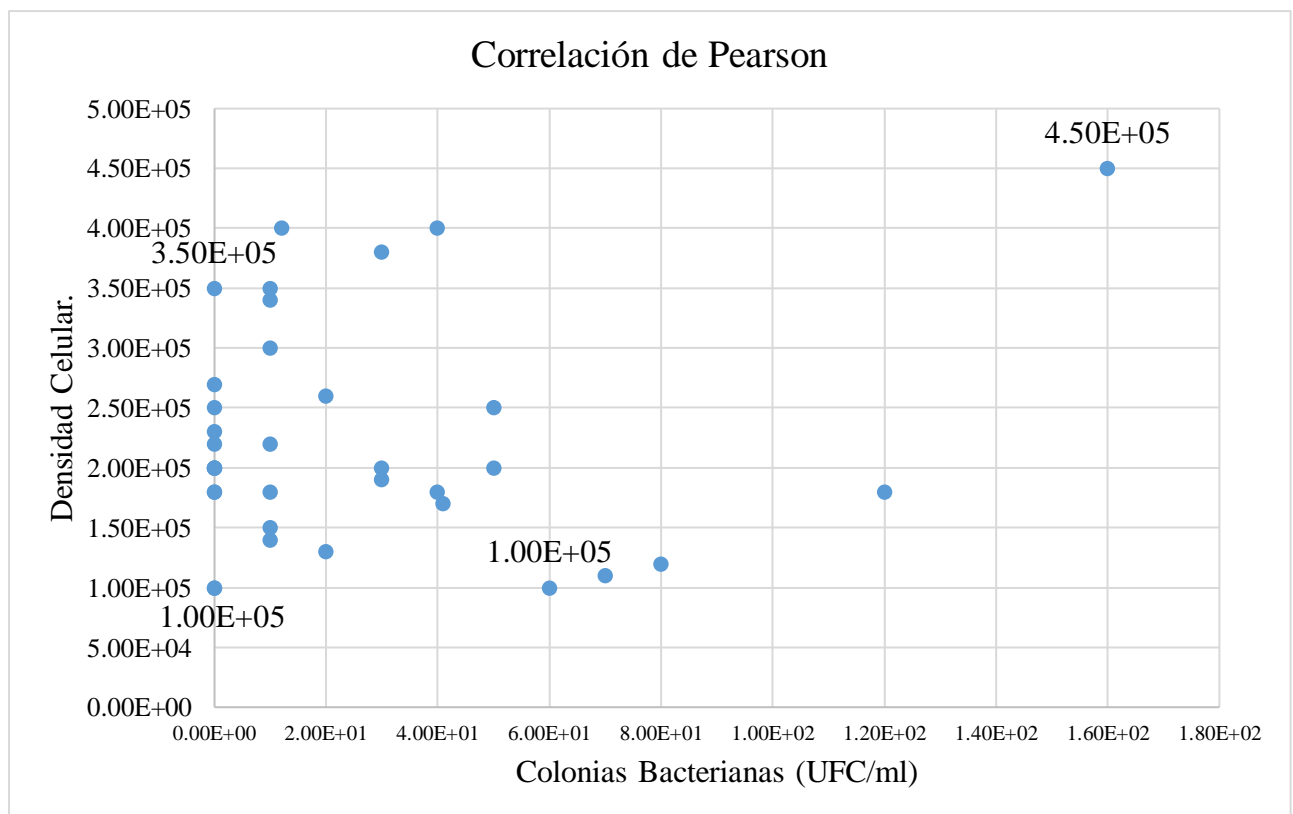
Correlación de Pearson		
Carboys	Cilindros	Masivos
0,660604041	0,36881503	0,190349253

Nota. En la Tabla 14 se presenta una correlación entre densidad celular y UFC/ml de los tres medios de cultivos, Carboys, Cilindros y Masivos

Los datos detallados anteriormente están reflejados en la Figura 12, el cual muestra una correlación nula, evidenciando una dispersión total de los datos obtenidos en los resultados de los bioensayos, no existe una correlación entre las densidades de los cultivos de microalgas y las unidades formadoras de colonias detectadas, en los tres tratamientos realizados en los bioensayos.

Figura 10.

Correlación de Pearson entre densidad celular y cargas bacterianas UFC/ml.



Fuente. Elaboración propia.

11 DISCUSIÓN, Y CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

11.1 Discusiones

El ácido orgánico comercial, compuesto por ácido fórmico y ácido lignosulfónico, ejerce un efecto antimicrobiano sobre bacterias patógenas del género *Pseudomonas* en cultivos de *Thalassiosira weissflogii*. Esta acción se alinea con lo reportado por Adams & Boopathy (2013), quienes demostraron que el ácido fórmico puede controlar eficazmente patógenos acuáticos como *Vibrio* y *Pseudomonas* sin comprometer la calidad del cultivo.

Los tres tratamientos evaluados, C1=5mg/L, C2=9mg/L Y C3=12mg/L mostraron distintos niveles de inhibición bacteriana. El tratamiento C2=9 mg/L, fue el mejor, por los resultados presentados, logrando una inhibición completa de UFC/ml en cultivos de carboys y cilindros, y una reducción significativa en cultivos de masivos. Este resultado coincide con Wing-Keong Ng & Koh (2018), quienes argumentan que los ácidos orgánicos son capaces de sustituir antibióticos en acuicultura, ajustando las dosis a las condiciones del sistema que se va a trabajar.

La variabilidad observada en esta investigación en los sistemas masivos frente a los cultivos de carboys, se corrobora con lo investigado por Fabay et al. (2022) que

destaca la efectividad del ácido orgánico en las condiciones y factores ambientales en el cultivo de *Thalassiosira weissflogii*.

Zuccaro et al. (2020) y Vrieling et al. (2020) indican que *T. weissflogii* tolera y resiste variaciones ambientales, explicando la estabilidad frente al tratamiento. Los cultivos mantuvieron una densidad celular dentro de rangos óptimos $>100,000$ cel/ml en todos los tratamientos, especialmente con 5 y 9 mg/L correspondientes a tratamientos de C1 y C2 respectivamente. Esto respalda la hipótesis nula (H_0), indicando que el ácido orgánico reduce unidades formadoras de colonias de bacterias patógenas sin afectar negativamente el crecimiento de las microalgas.

A diferencia, el tratamiento con 12 mg/L reflejó cierta inestabilidad en la densidad celular, lo que sugiere que dosis excesivas pueden alterar la homeostasis del cultivo. Mine & Boopathy (2011), han descrito este fenómeno y previenen sobre las concentraciones excesivas de ácidos orgánicos generan efectos desfavorables en cultivos sensibles.

La correlación que se obtuvo con el análisis de Pearson prácticamente fue nula en relación carga bacteriana y la densidad celular refiriéndose a los medios de cultivos, especialmente en sistemas masivos ($r = 0,1$), lo que señala que la presencia de *Pseudomonas* sp. en el medio de cultivo compite con las células del cultivo por nutrientes y oxígeno, afectando su crecimiento. Riquelme & Avendaño (2003) ya

habían señalado esta interacción bacteria con fitoplancton como un factor determinante en la seguridad y calidad del cultivo.

Los tratamientos aplicados con ácido orgánico fueron efectivos en distintas escalas de los cultivos (carboys, cilindros y masivos), lo que demuestra su adaptabilidad. Según Magazine (2022), los ácidos orgánicos podrían ser parte de protocolos de bioseguridad en cultivos acuícola, siempre que se respeten las condiciones específicas del sistema y las concentraciones requeridas. Adicional, la estabilidad del tratamiento frente a fluctuaciones de parámetros físico químicos como pH, salinidad y temperatura refuerza su viabilidad en sistemas controlados. (Chowdury et al., 2020).

11.2 Conclusiones

Se evaluó de manera integral el efecto antimicrobiano de un ácido orgánico comercial, compuesto por ácido fórmico y ácido lignosulfónico, aplicado en tres concentraciones (5, 9 y 12 mg/L) sobre cultivos de *Thalassiosira weissflogii*. Los resultados obtenidos evidenciaron que el uso de este compuesto representa una alternativa viable y sostenible para el control de bacterias patógenas del género *Pseudomonas*, sin comprometer significativamente la viabilidad ni la cinética de crecimiento de las microalgas.

El tratamiento de 9 mg/L (C2) fue la más eficaz, logrando una reducción significativa de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) por debajo del umbral inicial ($E+02$), sin afectar la densidad celular del cultivo. destacan la importancia de ajustar las dosis de ácidos orgánicos para maximizar su efecto antimicrobiano sin generar efectos adversos sobre los organismos cultivados. En contraste, la concentración más alta (12 mg/L) mostró una ligera disminución en la densidad celular, lo que sugiere que hubo una dosis excesiva.

El análisis estadístico mediante correlación de Pearson reveló una correlación positiva moderada en Carboys que nos indica que mientras las cargas bacterianas estén por debajo de E+01 el crecimiento celular estará en el rango óptimo de cada medio de cultivo. En los bioensayos de control se evidenció que la presencia de *Pseudomonas* sp. afecta el crecimiento de *T. weissflogii*, probablemente por competencia por nutrientes y oxígeno, tal como lo describen Riquelme & Avendaño (2003). La importancia de esta correlación refuerza las medidas de implementar estrategias de control microbiológico ayudando a la seguridad del cultivo para evitar contaminaciones masivas en sistemas acuícolas

11.3 Recomendaciones

Se recomienda implementar protocolos técnicos para la aplicación de ácido orgánico comercial en cultivos de *Thalassiosira weissflogii*, priorizando la concentración de 9 mg/L, que demostró ser la más eficiente en la inhibición de bacterias patógenas sin comprometer la densidad celular del cultivo.

Los análisis microbiológicos regulares en los sistemas de cultivo, son de gran importancia para detectar de manera oportuna la presencia de patógenos como *Pseudomonas* sp y contrarrestar su patogenicidad antes de que puedan comprometer la calidad del alimento vivo.

Realizar seguimiento a parámetros estandarizados como pH (8.0–8.5), temperatura (25–28 °C) y salinidad (31–33 ups), para optimizar y garantizar la viabilidad del cultivo de *T. weissflogii* y potenciar la acción antimicrobiana del ácido orgánico y mantener su estructura fisiológica.

Replicar esta investigación en condiciones comerciales de producción masivas de microalgas, laboratorios de larvas de camarón, para evaluar la efectividad del tratamiento con mayor carga biológica y variables ambientales, que presenten cargas bacterianas igual o mayor a E+05.

12 BIBLIOGRAFÍA.

- Adams, D., & Boopathy, R. (2013). Use of formic acid to control vibriosis in shrimp aquaculture. En D. Adams, & R. Boopathy, *Cersita* (págs. 1017-1021). Estados Unidos : Biologia, 68(6). doi: <https://doi.org/10.2478/s11756-013-0251-x>
- Alejos Cabrera, R. M. (2023). Uso del método espectrofotométrico para la cuantificación celular de microalgas marinas de uso en la acuicultura. *Revista ION*, 75-84. Obtenido de [.https://doi.org/10.18273/revion.v36n3-2023007](https://doi.org/10.18273/revion.v36n3-2023007)
- Anthem, P. (2025). *Programa Mundial de Alimentos*. Obtenido de Seguridad alimentaria: qué significa y por qué importa: <https://es.wfp.org/historias/seguridad-alimentaria-que-significa-y-por-que-importa#:~:text=Giulio%20D'Adamo-,%C2%BFQu%C3%A9%20es%20la%20seguridad%20alimentaria?,personas%20est%C3%A1n%20en%20peligro%20inmediato>.
- Anzai, Kudo, & Oyaizu. (1997). *Int J Syst Bacteriol*. Obtenido de he phylogeny of the genera Chryseomonas, Flavimonas, and Pseudomonas supports synonymy of these three genera: doi: 10.1099/00207713-47-2-249. PMID: 9103607. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9103607/>

- Chauhan, M., Kimothi, A., Sharma, A., & Pandey, A. (2023). *Cold adapted Pseudomonas: ecology to biotechnology*. doi:doi:10.3389/fmicb.2023.1218708.
- Cheryl, D., & Chun. (2010). Capítulo 33 - Aplicación de la genética y la biología molecular al estudio del patógeno humano *Cryptococcus neoformans*. *ELSEIVIER*, 797-831. doi:[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(10\)70033-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(10)70033-1)
- Chowdury, K., Nahar, N., & Deb, U. (2020). Factores de crecimiento involucrados en el cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles. *Scientific Research An Academic Publisher. Ingeniería computacional del agua, la energía y el medio ambiente*, 185-215. Obtenido de <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=103862>
- Chromoagar. (2025). *Identificación de la sustancia/mezcla y de la empresa/entidad*. Obtenido de The Chromogenic Media Pioneer: <https://www.chromoagar.com/wp-content/uploads/2021/11/AD-ASQ-259-v3.3.pdf>
- Cognita. (2023). *Cognita Conecta*. Obtenido de Conteo celular de microalgas paso a paso: <https://cognitaconecta.com/conteo-celular-de-microalgas-paso-a-paso/>
- Criollo, S., Peña , M., Mocha , B., & Sorroza , L. (2024). Suplementación de extracto de orégano (*Origanum vulgare*) y ácido fórmico para controlar la vibriosis en acuicultura: Suplementação de um fitobiótico com ácidos

orgánicos para controlar a vibriose em aquicultura. *FAO*. Obtenido de <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>

Eze, V., Velasquez, S., Hernández, A., Monje, I., & Orta, M. (2018). *Modelado cinético del cultivo de microalgas para el tratamiento de aguas residuales y el secuestro de dióxido de carbono*. Obtenido de ELSEVIER: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417309840>

Fabay, R., Serrano, J., Alejos, M., & Fabay, J. (2022). *Efectos de la acidificación de la dieta y la fuente de ácido en el crecimiento y la eficiencia alimenticia de los peces*. doi:<https://doi.org/10.3892>

Fryxell, G., & Hasle. (1977). *Registro mundial de especies marinas*. Obtenido de WORMS : <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=163513>

Ghayourmanesh, S. (2022). *EBSCO*. Obtenido de <https://www.ebsco.com/research-starters/chemistry/organic-acids>

Gil, M. (2023). *LIFEDER*. Obtenido de Ciencia. Biología. Agar cuenta estándar: <https://www.lifeder.com/agar-cuenta-estandar/>

Gómez, A., López, J., Rodríguez, A., Fortiz, J., Martínez, L., & Apolinario, A. &. (2016). *Latin american journal of aquatic research*. Obtenido de Producción de compuestos fenólicos por cuatro especies de microalgas marinas sometidas a diferentes condiciones de iluminación.: <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue1-fulltext-14>

Guillard, & Ryther.(1962). *Estudios de diatomeas planctónicas marinas*. Obtenido de Gran. Can J Microbiol.: doi: 10.1139/m62-029. PMID: 13902807.

Heimann, K., & Huerlimann, R. (2015). Capítulo 3 - Clasificación de microalgas : principales clases y géneros de especies de microalgas comerciales. En *Manual de microalgas marinas* (págs. 25-41). Academic Press. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00003-0>.

Hernández, A., & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 2(49), 157-173.

India. (2023). *Una revisión científica analiMicroalgas para el crecimiento de la industria acuícola de especies alimentadas*. Obtenido de Mis Peces. El portal de la Acuicultura : <https://www.mispeces.com/noticias/Microalgas-para-el-crecimiento-de-la-industria-acuicola-de-especies-alimentadas>

Khabbaz RF, A. P. (1984). *National Library of Medicine*. Obtenido de The American journal of medicine : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6419604/>

Magazine, P. A. (2022). *Panorama Acuícola Magazine*. Obtenido de “ÁCIDOS ORGÁNICOS + ALICINA PARA USO ACUÍCOLA EN FINCA, RACEWAYS Y LABORATORIOS”: <https://panoramaacuicola.com/2022/08/20/megacidg-acidos-organicos-alicina-para-uso-acuicola-en-fincas-raceways-y-laboratorios/>

Martínez, F. A., Holguín, R., Renganathan, P., Gaysina, L., Sukhanova, N., & Rueda, E. (2025). Microalgas como ingredientes alimentarios funcionales: beneficios nutricionales, desafíos y consideraciones regulatorias para un

consumo seguro. *biomass*, 5-25. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2673-8783/5/2/25>

Matthijs, S., Teherán, K., Laus, J., Jackson, R., Cooper, R., & Cornelis, P. (2006). Tioquinolobactina, un sideróforo de *Pseudomonas* con actividad antifúngica y anti- *Pythium*. *Environmental Microbiology*, 425-434. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17222140/>

Mine, S., & Boopathy, G. (2011). Effect of organic acids on shrimp pathogen, *Vibrio harveyi*. *Current Microbiology*, 1-7. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/S00284-011-9932-2/METRICS>

Mingyang, M., & Qiang, H. (2023). *Microalgas como fuentes de alimento y aditivos para la acuicultura sostenible: perspectivas y desafíos*. Obtenido de Reviews in Aquaculture: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/raq.12869>

Mise, J. (2024). PROTACID RX E. *Subpartidas Arancelarias*. Obtenido de <https://www.importacionesecuador.com.ec/subpartidas-arancelarias/protacid-rx-e>

Muller-Feuga, A. (2000). Journal of Applied Phycology. *Revista de Ficología aplicada*, páginas 527–534. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008106304417#citeas>

Nichols, H., & BOLD, H. (1965). *Journal of Phycology*. Obtenido de *Trichosarcina polymorpha* Gen. et Sp. Nov.: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1965.tb04552.x>

- Oriol, S., & Fornós. (2025). *3tres3.com*. Obtenido de Comunidad Profesional Porcina: https://www.3tres3.com/latam/articulos/acidos-organicos-estructura-quimica-mecanismo-de-accion-y-beneficios_17675/
- Ping, L., Danli, W., Mengdi, D., Yongqing, S., & Qingqing, Z. V. (2022). Purificación y caracterización de la bacteriocina producida por una cepa de *Lacticaseibacillus rhamnosus* ZFM216. *Fronteras en Microbiología*, 3. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1050807>
- PROFUTURE. (2023). *EUFIC*. Obtenido de Microalgas: Qué son y cómo cultivarlas y utilizarlas: <https://www.eufic.org/es/produccion-de-alimentos/articulo/microalgas-que-son-y-como-cultivarlas-y-utilizarlas>
- Riquelme, C., & Avendano, C. (2003). Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Rev. chil. hist. nat., Santiago*, v. 76, n. 4,, 725-736,. Obtenido de https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-078X2003000400014&script=sci_abstract&tlng=es
- Saati-Santamaría, Z., Baroncelli, R., Rivas, R., & García-Fraile, P. (2022). *Comparative Genomics of the Genus Pseudomonas Reveals Host- and Environment-Specific Evolution*. Obtenido de *Microbiology Spectrum*: ISSN 2165-0497. doi:10.1128/spectrum.02370-22
- Saati-Santamaría, Z., Rivas, R., Kolařík, M., & García-Fraile, P. (2021). *A New Perspective of Pseudomonas—Host Interactions: Distribution and Potential Ecological Functions of the Genus Pseudomonas within the Bark*

Beetle Holobiont. Obtenido de Biology: ISSN 2079-7737.
doi:10.3390/biology10020164

Saati-Santamaría, Z., Selem-Mojica, N., Peral-Aranega, E., Rivas, R., & García-Fraile, P. (2022). *Microbial Genomics*. Obtenido de Unveiling the genomic potential of *Pseudomonas* type strains for discovering new natural products: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/mgen/10.1099/mgen.0.000758>

Saritaş, S. K. (2024). Aplicaciones biológicas y nutricionales de las microalgas. *Nutrients*, 17-93. Obtenido de <https://www.mdpi.com/2072-6643/17/1/93>

Silvana, O., Bianchini, R. Á., Rafaela, G., & Badiale, R. C. (Febrero de 2015). *SCIELO*. Obtenido de IDESSIA: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292015000100010>

Villón, B., Duque, R., & Rodríguez, D. (2025). Efecto del método de infección de *Pseudomonas* sp. asociada a tanques de larvicultura del camarón blanco *Penaeus vannamei*. *Scielo Revista Científica y Tecnológica UPSE (RCT)*, 23-33. doi:<https://doi.org/10.26423/rctu.v12i1.872>

Vrieling, Á., Poort, L., & Belen, T. (2020). *Revista Europea de Ficología* . Obtenido de taylor & Francis: https://web.archive.org/web/20111129055550/http://www.reedmariculture.com/product_instant_algae_tw_1200.html

Wing-Keong Ng & Chik-Boon Koh. (2018). *Ácidos orgánicos en alimentos acuícolas: un potencial sustituto de los antibióticos* . Obtenido de Global

Seafood Alliance: <https://www.globalseafood.org/advocate/acidos-organicos-en-alimentos-acuicolas-un-potencial-sustituto-de-los-antibioticos>

Ycaza. (2016). *Universidad Yachay Tech*. Obtenido de <https://yachaytech.edu.ec/noticia/las-microalgas/>

Zuccaro, G., Abu, A., & Steyer, J. (2020). Cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles. *Academic press*, 11-29. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/275659447_Produccion_de_biocombustibles_a_partir_de_microalgas

13 ANEXOS

Anexo 1. Tabla de resultados de bioensayo.

RESULTADOS DE BIOENSAYOS																							
Hs. día	C1-9ppm/pseudomona					Hs. día	C2-9ppm/pseudomona					Hs. día	C1-12ppm/pseudomona					Hs. día	Prueba Control				
	Fecha	Conc. xL	UFC inicial	PH	Temperatura		Fecha	Conc. xL	UFC inicial	PH	Temperatura		Fecha	Conc. xL	UFC inicial	PH	Temperatura		Fecha	Conc. xL	UFC inicial	PH	Temperatura
5	30/02/2025	60000	5,60E+02	7,9	26	30/02/2025	100000	5,60E+02	8,2	25,5	30/02/2025	60000	5,60E+02	8,2	25	30/02/2025	100000	5,60E+02	8,2	26			
6	1/02/2025	70000	0	8,1	25,5	1/02/2025	100000	0	8,4	26	1/02/2025	150000	0	8,4	25	1/02/2025	200000	0	8,3	26			
7	2/02/2025	200000	0,00E+00	8,3	26	2/02/2025	250000	0,00E+00	8,5	25,5	2/02/2025	400000	1,20E+01	8	26	2/02/2025	300000	3,00E+01	8	25,5			
8	3/02/2025	50000	7,30E+02	8,2	25	3/02/2025	50000	7,30E+02	8,3	26	3/02/2025	50000	7,30E+02	8,1	26	3/02/2025	70000	7,30E+02	8,1	25,5			
9	4/02/2025	150000	0	8,4	26	4/02/2025	200000	0,00E+00	8,4	26	4/02/2025	130000	0	8,2	25,5	4/02/2025	130000	0	8,3	25			
10	10/02/2025	350000	3,00E+01	8,5	25,5	10/02/2025	230000	0,00E+00	8,4	25,5	10/02/2025	240000	1,00E+01	8,1	25	10/02/2025	350000	1,00E+01	8,5	26			
11	20/02/2025	100000	1,20E+03	8,1	25	20/02/2025	150000	1,20E+03	8,3	25,5	20/02/2025	100000	1,20E+03	7,9	26	20/02/2025	160000	1,20E+03	8,4	25,5			
12	21/02/2025	200000	0	8,3	26	21/02/2025	200000	0	8,3	25,5	21/02/2025	200000	0	8	25,5	21/02/2025	150000	0	8	26			
13	22/02/2025	300000	1,00E+01	8,5	26	22/02/2025	270000	0,00E+00	8,5	26	22/02/2025	350000	4,00E+01	8	25,5	22/02/2025	450000	1,60E+02	8,3	26			
14			8,25						8,35					8,1					8,3				
15	30/02/2025	70000	5,60E+02	8,1	26	30/02/2025	50000	5,60E+02	8	26	30/02/2025	150000	5,60E+02	8,4	26	30/02/2025	100000	5,60E+02	8,3	25			
16	1/02/2025	150000	0	8,3	25	1/02/2025	100000	0	8,5	26	1/02/2025	170000	0	8,3	26	1/02/2025	100000	0	8,4	26			
17	2/02/2025	100000	0,00E+00	8,1	26	2/02/2025	200000	0,00E+00	8,5	26	2/02/2025	100000	0,00E+00	8	26	2/02/2025	200000	5,00E+01	8,1	26			
18	3/02/2025	450000	7,30E+02	8,2	25	3/02/2025	75000	7,30E+02	8,3	25	3/02/2025	50000	7,30E+02	8,1	25,5	3/02/2025	50000	7,30E+02	8	25			
19	4/02/2025	150000	0	8,5	26	4/02/2025	150000	0	8,5	26	4/02/2025	150000	0	8,5	25,5	4/02/2025	200000	0	8,5	25			
20	10/02/2025	200000	0,00E+00	8,1	26	10/02/2025	200000	0,00E+00	8,4	25	10/02/2025	200000	3,00E+01	8,2	25	10/02/2025	220000	1,00E+01	8,1	25			
21	20/02/2025	100000	1,20E+03	8,4	25,5	20/02/2025	130000	1,20E+03	8,3	25,5	20/02/2025	120000	1,20E+03	8	26	20/02/2025	120000	1,20E+03	8,3	26			
22	21/02/2025	160000	0	8	26	21/02/2025	100000	0	8,4	25,5	21/02/2025	140000	0	8,1	25,5	21/02/2025	100000	0	8,5	26			
23	22/02/2025	240000	2,00E+01	8,5	26	22/02/2025	220000	0,00E+00	8,5	25	22/02/2025	190000	2,00E+01	8,1	25,5	22/02/2025	250000	5,00E+01	8,4	26			
24			8,24					8,4					8,2					8,2					
25	30/02/2025	100000	5,60E+02	8,4	25	30/02/2025	100000	5,60E+02	8,5	26	30/02/2025	70000	5,60E+02	8,2	26	30/02/2025	50000	5,60E+02	8,5	25,5			
26	1/02/2025	100000	0	8,1	26	1/02/2025	100000	0	8,4	25,5	1/02/2025	90000	0	8,4	25	1/02/2025	100000	0	8,3	25,5			
27	2/02/2025	100000	1,00E+01	8,2	26	2/02/2025	120000	2,00E+01	8,5	26	2/02/2025	120000	5,00E+01	8,1	25	2/02/2025	170000	4,10E+01	8,5	26			
28	3/02/2025	75000	7,30E+02	8,2	26	3/02/2025	40000	7,30E+02	8,4	25,5	3/02/2025	60000	7,30E+02	8,5	25	3/02/2025	70000	7,30E+02	8,2	25			
29	4/02/2025	100000	0	8,3	25	4/02/2025	60000	0	8,3	26	4/02/2025	100000	0	8,5	25,5	4/02/2025	100000	0	8,3	25			
30	10/02/2025	100000	4,00E+01	8	25,5	10/02/2025	100000	0,00E+00	8,5	26	10/02/2025	100000	7,00E+01	8	25,5	10/02/2025	100000	1,20E+02	8,2	25			
31	20/02/2025	50000	1,20E+03	8,5	26	20/02/2025	50000	1,20E+03	8,3	26	20/02/2025	50000	1,20E+03	8,4	26	20/02/2025	50000	1,20E+03	8,4	26			
32	21/02/2025	80000	0	8,5	25,5	21/02/2025	90000	0	8,2	26	21/02/2025	60000	0	8	25,5	21/02/2025	50000	0	8,4	25,5			
33	22/02/2025	140000	1,00E+01	8,4	26	22/02/2025	100000	0,00E+00	8,5	25,5	22/02/2025	100000	6,00E+01	8	25,5	22/02/2025	150000	1,00E+01	8,5	26			
34			8,30					8,4					8,2					8,4					

Anexo 9. Inoculación de bacteria pseudomona sp



Anexo 8. Toma de parámetros



Anexo 10. Visita de docente tutora Blga. Dadsania Rodríguez Moreira Mgt.



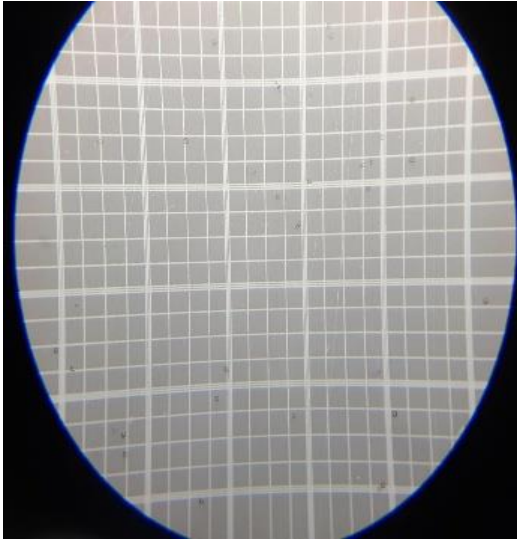
Anexo 12. Siembra de medios de cultivos



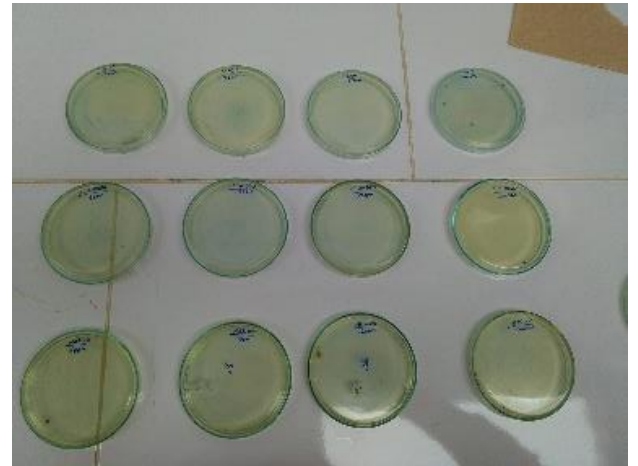
Anexo 11. Tratamiento con ácido comercial



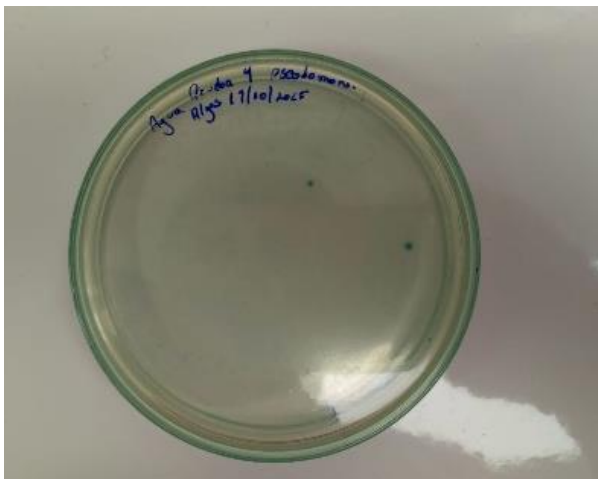
Anexo 14. Conteos de densidad celular por ml.



Anexo 13. Resultados de Análisis microbiológicos



Anexo 15. Conteo inicial del tercer bioensayo



Anexo 16. Resultados de análisis de copilatio.

