

Aplicación de microorganismos eficientes del ecosistema manglar como estrategia de Biorremediación.

Application of effective microorganisms mangrove ecosystem as bioremediation strategy.

Valarezo Macías C. A¹., Vilela Guiñaran F.²

RESUMEN

La presente investigación se la realizó a lo largo del perfil costero de la provincia de El Oro, en las siguientes estaciones: Arenillas, El Guabo, Huaquillas, Machala y Santa Rosa, durante los meses de septiembre del 2011 a febrero de 2012, en donde se identificaron y caracterizaron especies bacterianas en su mayoría Gram positivas. Se planteó determinar la respuesta biológica de los microorganismos eficientes presentes en las raíces del manglar de la provincia de El Oro como probióticos de manejo acuícola. Inicialmente se utilizó la microbiología tradicional con el raspado del sistema radicular de *Rhizophora mangle* en los medios de cultivo TCBS, TSA, Cetrimide, MacConkey, observando por medio de las características morfológicas de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), siendo posteriormente purificadas y aisladas para la determinación de pruebas bioquímicas, obteniendo las siguientes especies bacterianas Gram positivas, *Burkholderia cepacia*, *Shewanella putrefaciens*, y Gram negativas, *Aeromonas sp.*, *Vibrio alginolyticus*, *Bacillus sp.*

El resultado del análisis microbiológico de las muestra de agua, suelo y bentos reporto la presencia mayoritaria de bacterias Gram negativas y en menor proporción bacterias Gram Positivas. Los parámetros físicos presentes durante la presente investigación promediaron 4,94 mg/L de oxígeno, 30,66 °C de temperatura, 7,94 de pH, 31,4 de salinidad y 45 cm de turbidez.

palabras claves: Bacterias Gram positivas y negativas, Bacterias probióticas, Sistema Radicular de *Rhizophora mangle*, Bioquímica y Medios de Cultivo.

Abstract

This research was conducted along the coastal profile of the province of El Oro, at the following stations: Arenillas, The Guabo Huaquillas, Machala and Santa Rosa, during the months of September 2011 to February 2012, where were identified and

¹Docente Investigador de la Escuela de Ingeniería Acuícola, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Magister en Acuicultura, Doctorando en Ciencias Ambientales, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

²Técnico del Grupo Camaronero Santa Rosa, Provincia de El Oro, Ingeniero Acuicultor, Universidad Técnica de Machala.

characterized bacterial species most Gram positive. In this study determined the biological response of efficient microorganisms present in the roots of mangroves in the province of El Oro as probiotics aquaculture management. Initially used traditional microbiology with scraping the root system of *Rhizophora mangle* in the culture media TCBS, TSA, Cetrimide, Mac Conkey, watching through the morphological characteristics of Colony Forming Units (CFU), was subsequently purified and determination shovel isolated biochemical tests, obtaining the following Gram-positive bacterial species, *Burkholderia cepacia*, *Shewanella putrefaciens*, and Gram negative, *Aeromona sp.*, *Vibrio alginolyticus*, *Bacillus sp.* The results of the microbiological analysis of the samples of water, soil and benthic reported the preponderance of Gram-negative and Gram-positive bacteria lesser extent. Physical parameters present during this investigation averaged 4.94 mg / L of oxygen, 30.66 ° C temperature, pH 7.94, 31.4 and 45 cm salinity turbidity.

Keywords: Gram positive and negative bacteria, probiotic bacteria, Root System of *Rhizophora mangle*, Biochemistry and Culture Media.

INTRODUCCION

El impacto de la Mancha Blanca en nuestro país fue nefasto para la economía del sector camaronero, habiendo quebrado muchas empresas por las bajas producciones en las unidades de producción acuícola. Esto sumado a los malos precios del camarón de los últimos años, ha minimizado el campo socioeconómico de esta importante actividad, permitiendo el desempleo y control de gastos de inversión. Esta problemática ha generado una inestabilidad económica en sector camaronero, donde han existido buenas y malas producciones, dando lugar a que muchos camaroneros, hayan vendido o alquilado sus unidades de producción acuícola, y dedicado a otras actividades económicas.

La empresa privada, sin ayuda de los gobiernos de turno, ha unido esfuerzos para desarrollar estrategias tendientes a mejorar la producción acuícola, generando investigación en maduración y larvicultura de larvas *Litopenaeus vannamei*, obteniendo una variedad más resistente a la Mancha Blanca, a la NHP y al IHHNV.

Toda esta iniciativa se ha visto plasmada en el mejoramiento de la producción de post-larvas en los laboratorios a lo largo del perfil costero del Ecuador, dando lugar a una post-larva de calidad y sobretodo, resistente a enfermedades comunes y al incremento en la sobrevivencia en los distintos ciclos productivos que mantiene el sector camaronero. Sin embargo, se siguen presentando cuadros patológicos durante el cultivo de camarón, poniendo en riesgo la producción, por lo que se ha visto necesario, buscar alternativas de tratamientos a base de productos orgánicos acordes con el medio ambiente.

Los probióticos han sido la mejor estrategia para que la acuicultura se desarrolle en los últimos años, a través de su manejo integral a lo largo de todo el ciclo productivo, sin embargo; poco o nada se conoce de estos microorganismos eficientes y su impacto en

el medio ambiente. Por ello se hace necesario seguir una línea de investigación tendiente a conocer de cerca el comportamiento de estos microorganismos y su impacto en los ecosistemas marinos, ya que si bien es cierto, no ha sido fácil adaptarse a este tipo de manejo, sin lugar a dudas, el uso de los microorganismos eficientes ha respondido positivamente en la producción de camarón dando lugar a que el sector se dedique a investigar un poco más, a fin de tener las herramientas necesarias para optimizar la producción y sacar mejores rendimientos económicos. El objetivo propuesto para esta investigación fue determinar la respuesta biológica de los microorganismos eficientes presentes en las raíces del manglar de la provincia de El Oro como probióticos de manejo acuícola.

MATERIALES Y METODOS

Localización y Ubicación Geográfica.

En la Tabla 1, se localiza la ubicación geográfica de la presente investigación a lo largo del perfil costero de la provincia de El Oro, en sus diferentes estaciones de monitoreo:

Tabla 1.- Ubicación Geográfica de las Estaciones de Monitoreo.

Puntos de Muestreo		Ubicación Geográfica	
		S	O
Arenillas	P 1	03°14.733	079°68.588
El Guabo	P 2	03°13.125	079°59.211
Huaquillas	P 3	03°14.988	079°68.941
Machala	P 4	03°13.227	079°60.144
Santa Rosa	P 5	03°13.349	079°60.379

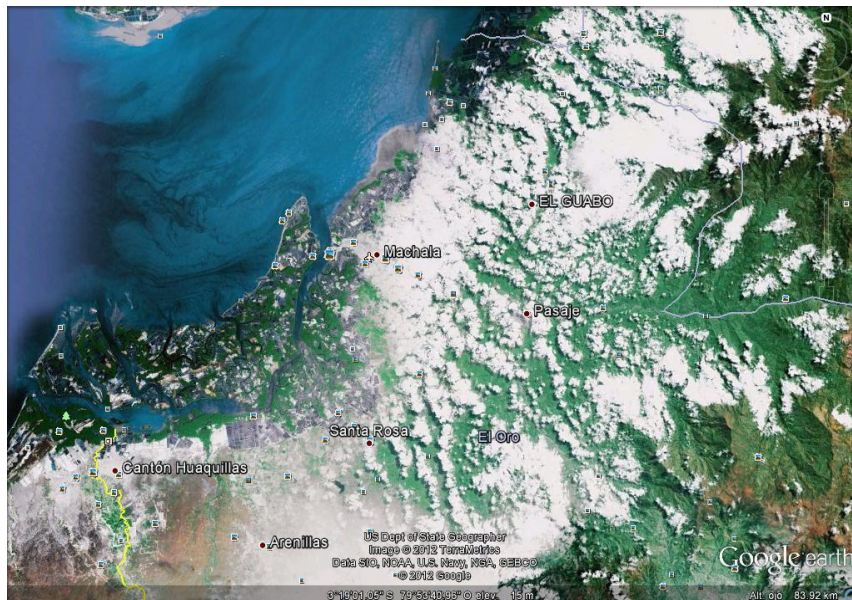


Figura 1.- Mapa del Perfil Costero de la Provincia del El Oro donde se encuentran los cinco estaciones de monitoreo del ecosistema manglar

Variables de Estudio.

- Identificación de microorganismos eficientes (Probióticos).
- Cuantificación de microorganismos eficientes.
- Parámetros físicos: Oxígeno, Salinidad, pH, Temperatura, Turbidez

Recolección de muestras.

La campaña de muestreo se ejecutó tomando un día específicamente para todas las variables, empleando para ello el equipo de muestreo de la Escuela de Ingeniería Acuícola, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Se recolectaron muestras de agua, sedimentos y bentos de raíces de mangle, de las cinco áreas a estudio. Todas las muestras fueron tomadas en cada una de las estaciones “*in situ*” y trasladadas en recipientes plásticos de 250 ml, a los Laboratorios de la Escuela de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, para su identificación y tratamiento respectivo.

Producción de Microorganismos Eficientes.

Preparación de material.

Se esterilizo todo el material de vidrio empleado en la siembra de los microorganismos eficientes. Paralelamente, cada uno de los materiales de plástico se los desinfecto con una solución de ácido muriático y enjuagado con abundante agua, para ser utilizados directamente.

Procesamiento de muestras de microorganismos eficientes.

Las muestras extraídas de las raíces de mangle de los diferentes ecosistemas de manglar del perfil costero de la provincia de El Oro, fueron puestas en recipientes estériles para su procesamiento y extracción de los microorganismos eficientes en el Laboratorio de Acuicultura de la FCA-UTMACH. Se contó como nutrientes, el uso de melaza, para su replicación.

Siembra de microorganismos eficientes.

Las muestras procesadas de las raíces de mangle fueron sembradas en tubos de ensayo, con agua y melaza. Se dejó sellada con fundas plásticas negras para evitar la presencia de luz, y para estimular su reproducción; posteriormente fueron pasadas a recipientes de mayor capacidad.

Replicación de microorganismos eficientes.

Una vez obtenida las cepas correspondientes de los microorganismos eficientes, se escogieron los mejores tubos para ser sembrados en frascos de 0,5 litros, previamente esterilizados. Aquí se utilizaron 50 ml de melaza, y posteriormente se los sello con fundas negras y se dejó por espacio de 4 a 8 días.

Mantenimiento de microorganismos eficientes.

Una vez replicados los microorganismos eficientes, colocados en recipientes específicos, los de mejor presencia y coloración se los escogió para ser sembradas en tubos de 125 ml. Aquí se adicionan 2 ml de melaza/tubo, se los sello con fundas negras y se dejó por espacio de 4 a 8 días.

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

Resultados de valoración de las bacterias de muestras de agua.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la valoración de las bacterias en las muestras de agua, donde se detectó la presencia de Aerobios Totales en Arenillas, El Guabo y Huaquillas; mientras que para hongos y levaduras, Machala tuvo la mayor concentración a diferencia de Santa Rosa, y en menor proporción en Arenillas, El guabo y Huaquillas. En cuanto los bacillos en las zonas costeras de Arenillas, El Guabo y Machala, se presentaron en concentraciones bajas, mientras que en Huaquillas y Santa Rosa, las cantidades fueron más elevadas.

Tabla 2.- Valoración de las bacterias en las muestras del agua.

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AEROBIOS TOTALES UFC/ml	HONGOS Y LEVADURAS UFC/ml	BACILLOS UFC/ml
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	3×10^2	2×10^1	2×10^1
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	3×10^2	2×10^1	2×10^1
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	3×10^2	2×10^1	3×10^1
P 4	Machala	SSA-0929-04	NTC	8×10^1	2×10^2
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	NTC	2×10^2	3×10^2

Resultados de valoración de las bacterias de muestras de suelo.

En la tabla 3 se muestran los resultados de la valoración de las bacterias en las muestras de suelo donde se detectó la presencia de Aerobios Totales en El Guabo (La Puntilla), mientras que en los ecosistemas de manglar de Arenillas, Huaquillas, Machala y Santa Rosa, no hubo presencia de Aerobios Totales. En cuanto a la presencia de Hongos y Levaduras, Arenillas y Santa Rosa presentaron concentraciones altas, mientras que Huaquillas presento niveles medios; y Machala, concentraciones bajas. En el Guabo no se detectó la presencia de Hongos y Levaduras, sin embargo, tuvo mayores concentraciones de Bacillos al igual que Arenillas, y en menor proporción Huaquillas, Machala y Santa Rosa.

Tabla 3.- Valoración de las bacterias en las muestras de suelo.

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AEROBIOS TOTALES UFC/g	HONGOS Y LEVADURAS UFC/g	BACILLOS UFC/g
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	NTC	8×10^2	4×10^2
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	8×10^2	NTC	5×10^3
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	NTC	4×10^2	2×10^2
P 4	Machala	SSA-0929-04	NTC	1×10^3	2×10^3
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	NTC	8×10^2	1×10^2

Resultados de valoración de las bacterias de muestras de bentos de manglar

En la tabla 4 se muestran los resultados de la valoración de las bacterias en las muestras de bentos de manglar donde se detectó la presencia de Aerobios totales en Santa Rosa y Machala, no así en el resto de cantones. En lo referente a Hongos y Levaduras, hubo presencia en todos los cantones, con una mayor concentración en Machala y Santa Rosa, decreciendo en Huaquillas, El Guabo y Arenillas. Los niveles de Bacilos fueron en mayor concentración en Arenillas, mientras que en Huaquillas y Machala presentaron concentraciones medias, descendiendo en Santa Rosa y El Guabo.

Tabla 4.- Valoración de las bacterias en las muestras de bentos del manglar.

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AEROBIOS TOTALES UFC/ml	HONGOS Y LEVADURAS UFC/ml	BACILLOS UFC/ml
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	NTC	3×10^2	7×10^2
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	NTC	4×10^2	1×10^2
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	NTC	5×10^2	5×10^2
P 4	Machala	SSA-0929-04	2×10^3	6×10^2	5×10^3
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	3×10^3	6×10^2	3×10^3

Análisis microbiológico para identificación de bacterias del agua.

En la tabla 5 se muestra los tipos de agar utilizados para la detección de bacterias y su forma, dando como resultado bacterias Gram positivas y Gram negativas; como Cocos Grandes y Bacilos Grandes, Cortos y Pequeños.

Tabla 5.- Identificación de bacterias en las muestras del agua.

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AGAR	TIPO DE BACTERIAS GRAM +/-	FORMA
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	Dextrosa	Positivo	Cocos Grandes
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Positivo	Bacilos Grandes
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	TSA	Negativo	Bacilos Cortos
P 4	Machala	SSA-0929-04	Dextrosa	Negativo	Bacilos Grandes
			Dextrosa	Positivo	Cocos Grandes
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	Dextrosa	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Pequeños

Análisis microbiológico para identificación de bacterias del suelo.

En la tabla 6 se muestra los tipos de agar utilizados para la detección de bacterias y su forma, dando como resultado bacterias Gram positivas y Gram negativas; como cocos grandes y bacilos grandes, largos, cortos y pequeños.

Tabla 6.- Identificación de bacterias presente en el suelo

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AGAR	TIPO DE BACTERIAS GRAM +/-	FORMA
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	Dextrosa	Negativo	Bacilos Grandes
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Pequeños
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Pequeños
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	MRS	Negativo	Bacilos Cortos
			MRS	Negativo	Bacilos Cortos
			MRS	Negativo	Bacilos Cortos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Grandes
			Dextrosa	Positivo	Bacilos Pequeños
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	MRS	Positivo	Bacilos Largos
			MRS	Negativo	Bacilos Cortos
			MRS	Positivo	Bacilos Grandes
			MRS	Negativo	Bacilos Grandes
			Dextrosa	Negativo	Bacilos largos
			Dextrosa	Positivo	Cocos Grandes
P 4	Machala	SSA-0929-04	Dextrosa	Positivo	Bacilos Largos
			TSA	Negativo	Bacilos Grandes
			Dextrosa	Positivo	Bacilos Pequeños
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	Dextrosa	Negativo	Bacilos Pequeños
			MRS	Negativo	Bacilos Grandes

Análisis microbiológico para identificación de bacteria del manglar.

En la tabla 7 se muestra el tipo de agar sé que utilizó para detectar las bacterias Gram +/- y su forma, en el P1 se utilizó dextrosa que dio como resultado bacterias Gram negativo y positivo y en cuanto a su forma presentan bacilos largos, pequeños y cocos grandes.

Tabla 7.- Identificación del bentos del manglar.

MUESTRA	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	AGAR	TIPO DE BACTERIAS GRAM +/-	FORMA
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	Dextrosa	Negativo	Bacilos Largos
			Dextrosa	Negativo	Bacilos Pequeños
			Dextrosa	Positivo	Cocos Grandes

Resultados de las muestras de probióticos artesanales extraídos del bentos de las raíces del manglar.

En la tabla 8 se muestran las identificaciones bioquímicas de las bacterias, en Arenillas se detectó la Bacteria *Burkholderia cepacia*, en El Guabo *Aeromona sp.*, en Huaquillas *Vibrio alginolyticus*, en Machala *Shewanella putrefaciens* y *Vibrio alginolyticus*, y en Santa Rosa se *Bacillus sp.*.

Tabla 8.- Identificación de las bacterias extraídas del bentos de las raíces del manglar.

MUESTRA DE PROBIÓTICO	ZONA COSTERA DE MANGLAR	CÓDIGO NG	IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE BACTERIAS	TIPO DE BACTERIAS GRAM +/-	PORCENTAJE
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	<i>Burkholderiacepacia</i>	Positivo	80%
P 2	El Guabo	SSA-0929-02	<i>Aeromona sp.</i>	Negativo	86%
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	<i>Vibrio alginolyticus</i>	Negativo	80%
P 4	Machala	SSA-0929-04	<i>Shewanellaputrefaciens</i>	Positivo	75%
			<i>Vibrio alginolyticus</i>	Negativo	90%
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	<i>Bacillus sp.</i>	Negativo	70%

En la figura 2 se presentan la valoración de las bacterias extraídas del bentos de las raíces del manglar, la bacterias que se encontraron en mayor porcentaje fueron *Vibrio alginolyticus* con un 90%, seguido del P2 con 86%, P1 y P3 con 80%, P4 con 75% y en menor porcentaje se encuentra el P5 que pertenece a *Bacillus sp.* con un 70%

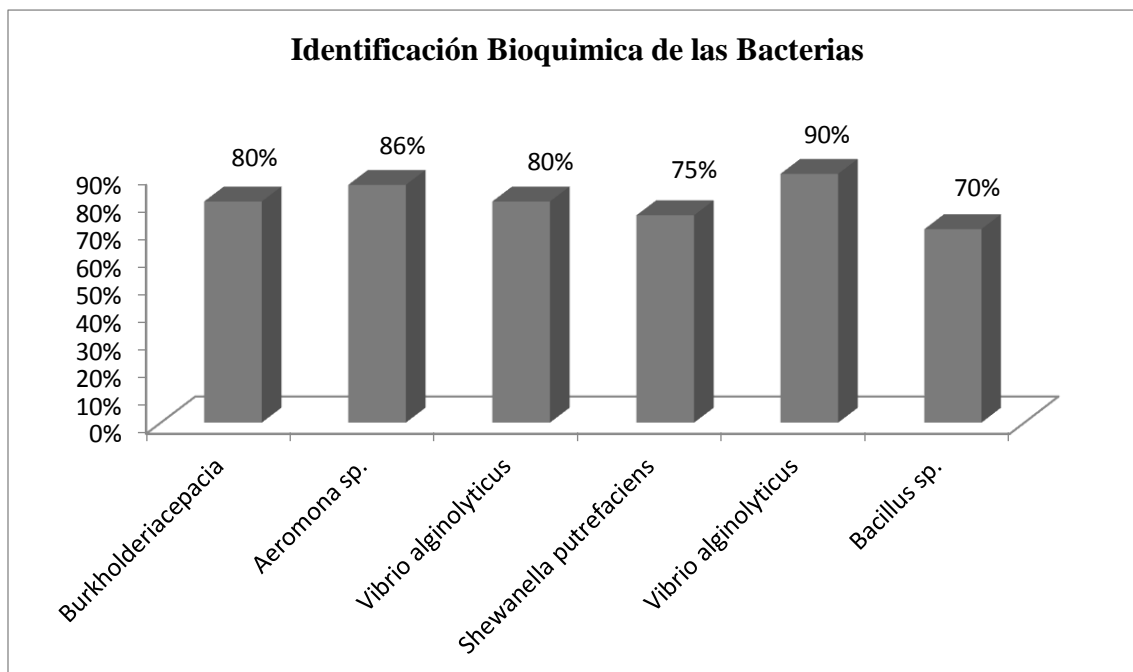


Figura 2. Valoración del bentos de las raíces de manglar

Parámetros físicos de las estaciones de monitoreo.

En la tabla 9 se muestran los parámetros físicos que se obtuvieron en las cinco estaciones de muestreo.

Tabla 9.- Parámetros físicos.

Muestra	Zona Costera de Manglar	CÓDIGO NG	PARÁMETROS				
			Oxígeno mg/l	Temperatura °C	pH	Salinidad ‰	Turbidez cm
P 1	Arenillas	SSA-0929-01	4,53	32,0	7,9	32	40
P 2	Guabo	SSA-0929-02	5,78	29,2	8,1	31	45
P 3	Huaquillas	SSA-0929-03	4,66	31,4	7,9	32	40
P 4	Machala	SSA-0929-04	4,26	30,5	8,0	31	55
P 5	Santa Rosa	SSA-0929-05	5,47	30,2	7,8	31	45

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Finalizado el presente trabajo de investigación se puede concluir lo siguiente:

1. Después de haber aislado las Unidades Formadoras de Colonias en los diferentes medios de cultivo y posteriormente purificadas para determinación de pruebas bioquímicas, obteniendo las siguientes especies bacterianas Gram positivas, *Burkholderia cepacia*, *Shewanella putrefaciens*, y Gram negativas, *Aeromonas sp.*, *Vibrio alginolyticus*, *Bacillus sp.*
2. El resultado del análisis microbiológico de las muestra de agua, suelo y bentos reporto la presencia mayoritaria de bacterias Gram negativas y en menor proporción bacterias Gram Positivas.
3. Los parámetros físicos presentes durante la presente investigación promediaron 4,94 mg/L de oxígeno, 30,66 °C de temperatura, 7,94 de pH, 31,4 de salinidad y 45 cm de turbidez.
4. Se recomienda continuar con la investigación a fin de poder probar estos probióticos naturales ya en las Unidades de Producción Acuícola, para minimizar los impactos por la presencia de diferentes patologías durante el ciclo de cultivo.

AGRADECIMIENTOS.

Nuestro agradecimiento fraterno para todos los compañeros docentes de la Escuela de Ingeniería Acuícola de la UTMACH, que hicieron posible la culminación de la presente investigación.

Referencias.

1. AGUIRRE, D. 1999. Aguirre, M, Collis,MD, 1999. Lactic acid bacteria and human clinical infection. Jappl bacteriol, 75:95-107.
2. ALONGI, D.M. 1988. Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. Microb. Ecol. 15:59-79.
3. ALONGI, D., RAMANATHAN,A., KANNAN, L., TIRENDI,F., TROTT, L Y BALAKRISHNA PRASAD. 2005. Influence of human-induced disturbance on benthic microbial metabolism in the Pichavaram mangroves, Vellar-Coleroon estuarine complex, India. Springer Berlin / Heidelberg. Vol147
4. AXELSSON, L. (1998. Lactic acid bacteria: Classification and Physiology. En

Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects, 2nd edition, pag. 1-72 Marcel Dekker Inc. New York, USA.

5. BARRIONUEVO, R Y MARCIAL, R (2006). Ecología trófica de la fauna acuática en el manglar de San Pedro – Sechura. Universalía.

6. BARBOZA, J.E., VÁZQUEZ, H., SALCEDO, R Y BAUTISTA, M. (2004). Probióticos y conservación naturales en alimentos. Acta Universitaria. 14(3): 32-38

7. BRIZUELA, M. PEREZ, A. 1998. Mecanismo de acción de los probióticos. ACPA.2, Vol.17. p: 53-55.

8. CARR, F. J., CHILL, D. y MAIDAN, N. (2002).The lactic acid bacteria: A literatura survey. Critical reviews in Microbiology 28(4).281-370.

9. FAUST MARIA A. , ROSE A. GULLEDGE (1996). Associations of microalgae and meio fauna in floating detritus at a mangrove island, Twin Cays, Belize. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, P 159-175.

10. FIGUEREIRO, R Y CUÑA, M (1991). Cuadernos de acuicultura. Editado por conselleria de pesca marisquero e acuicultura Xunta de Galicia España. 422p.

11. FULLER, D. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology. 66: 365–78.

12. FULLER, D. 1992. Probiotic: The Scientific Basic.Ed: Chapman and Hall, London.

13. GARCIA, M. REVAH, S. Y GÓMEZ, L. (1998). Productos lácteos. En Biotecnología Alimentaria, Limusa Noriega Editores pág. 163 – 178. Mexico D.F.

14. GUERRERO, R; Hoyos, G. 1991. Utilización de los probióticos en pollos alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas. Bacteriología en la industria de la alimentación animal. Vol. 2.P:108.

15. HAVENAAR, R. 1992. Probiotics: A general view. In : Wood BJB: the lactic acid bacteria, volumen. 1: The lactic acid bacteria in health and disease, Chapman& hall, New York, NY: 209-224.

16. HYDE, K. 1989. Ecology of tropical marine fungi. Hydrobiología, 178: 199-208.

17. HOLO, H., JEKNIC, Z., DAESCHEL, M., STEVANOVIC, S Y NES, I. F. (2001).Plantaricin W from Lactobacillus plantarum belongs to a new family of two-peptide antibiotitcs. Microbiology. 147:643-651

18. HOLGUÍN G, VÁZQUEZ P, BASHAN Y. (2001). The Role of Sediment Microorganisms in the Productivity, Conservation, and Rehabilitation of Mangrove Ecosystem: An Overview. Biol Fertil Soils. 33:265-178.

19. QING-HUA CHEN, NORA FUNG-YEE TAM, PAUL K.S. SHIN, SIU-GIU CHEUNG, RUN-LIN XU (2009) Ciliate communities in a constructed mangrove wetland for wastewater treatment. *Marine Pollution Bulletin* 58:711–719.
20. KATHIRESAN, K. 2003. Polythene and plastic-degrading microbes in an Indian mangrove soil. *Rev. Biol. Trop.*, 51 (3-4): 629-33.
21. MENDEZ DE SOUZA P, MARINHO, PH, LIMA, MA (2005) Copper influence on polyphosphate metabolism of *Cunninghamella elegans*. *Braz. J. Microbiol.* 36: 315-320.
22. J.R. SEYMOUR, L. SEURONT, J.G. MITCHELL (2007). Microscale gradients of planktonic microbial communities above the sediment surface in a mangrove estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73. 651 – 666.
23. OGUEKE,C.C., OWUAMANAM,C.I., IHEDIOHANMA, N.C. E IWOUNO,J.O. (2010). Probiotics and Prebiotics. Unfolding prospects for Better Human Health. *Pakistan Journal of Nutrition.* 9(9): 833- 843.
24. OUWEHAND, A. C. (1998). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. En: *En Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects*, 2nd edition, pag. 1-72 Marcel Dekker Inc. New York, USA.
25. RAGHUKUMAR, S, S. SHARMA, C. RAGHUKUMAR, V. SATHE-PATHAK Y D. CHANDRAMOHAN. 1994. Thraustocytic and fungal component of marine detritus. IV. Laboratory studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata* Blume. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 183:113-131.
26. ROBERFROID, M. 2000. El rol de los probióticos en la alimentación humana. *Nutrición. Nestlé* .Vol 2 no3 .p6-11.
27. ROITT, I. 1994. *Inmunología*. Ediciones científicas y técnicas, S.A. SALVAT. 3ra Edición. P345-389.
28. SAARELA, M. 2000. Beneficio de los probióticos. *J biotecnol.*84, 3, 197-215.
29. SHIRAI, K., GUERRERO, I Y LARA, P. (1996).Bacterias lácticas en alimentos fermentados. *Ciencia.* 47:125-137.
30. SCHAASFMA, G. 2001. Significance of probiotic in human diets, in SOMED21st International Congress on microbial ecology and disease. Paris, October 28-30, 1996. Paris: Institut Pasteur, pp.38.
31. TORRES. M. R. (2002). *Flora intestinal, probióticos y salud*. Segunda edición, formas finas (edit) Guadalajara, México
32. TOLEDO, G., Y. BASHAN Y A. SOELDNER. 1995a. Cyanobacteria and black mangroves in Northwestern Mexico: colonization, and diurnal and seasonal nitrogen

fixation on aerial roots. *Can. J. Microbiol.* 41:999-1011.

33. TIAN , H.J. LIU , T.L. ZHENG , K.K. KWON , S.J. KIM C, C.L. YAN (2008). PAHs contamination and bacterial communities in mangrove surface sediments of the Jiulong River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* 57:707–715.

34. VANEGAS J. (2004). Determinación de la actividad fijadora de nitrógeno de diazótrofos asociados a plántulas de *Rhizophora mangle* y *Avicenia germinans* en manglares del Caribe colombiano [Trabajo de grado] Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá; pág. 25-36

35. VÁZQUEZ, S. M., SUÁREZ, H. Y ZAPATA, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición.*36(1):64-71.

36. VAZQUEZ P, HOLGUIN G, PUENTE ME, LOPEZ-CORTES A, BASHAN Y. 2000; Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semi arid coastal lagoon. *Biol Fertil Soils* 30: 460-468.

37. VOLLARD, E. 1994.Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother*,38: 409-14.

38. VILLE, C. 1992. *Biología Segunda Ediciones Mundi- Prensa. Madrid- España.* Pp.36, 56-62

39. WANG Y., QIU QIU, ZHONGYI YANG, ZHIJIAN HU, NORA FUNG-YEE TAM Y

40. GUORONG XIN. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in two mangroves in South China. *Vol 331 (1-2).*

APENDICE.

Figura 3. Área de reconocimiento del ecosistema de manglar.



Figura 4. Raíces de Manglar.



Figura 5. Zona bentónica del ecosistema de manglar.



Figura 6. Recolección de muestras de bentos de raíz de manglar.



Figura 7. Toma de parámetros en las áreas de muestreo.



Figura 8. Elaboración de la pasta de sedimento bacteriano.



Figura 9. Preparación de medios de cultivo.



Figura 10. Replicación de micro-organismos eficientes.

