VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms en materiales de bebederos pecuarios utilizando agua de la Presa La Golondrina

Dynamics of bacterial colonization and biofilm formation on livestock water trough materials using water from La Presa La Golondrina

Renata Medel Ayala, Ximena Ruiz Chávez, Maximiliano Fernández Mota, Diana Guandalupe Amezcua Hernández, Jesús Raúl Lugo Martínez[1]
Escuela de Nivel Medio Superior de Pénjamo, Universidad de Guanajuato
[1]lugom@ugto.mx

Resumen

La formación de biofilms en superficies en contacto con agua constituye un proceso dinámico influenciado por las características del material, las condiciones ambientales y la capacidad de adaptación de las comunidades microbianas presentes. El objetivo de este estudio fue evaluar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms en materiales utilizados en bebederos pecuarios empleando agua de la Presa La Golondrina como fuente ambiental de microorganismos. Se evaluaron placas de acero inoxidable, plástico y concreto con dimensiones de 5 cm × 5 cm, expuestas durante 0, 48, 96 y 168 horas. La formación de biofilms fue determinada mediante tinción con cristal violeta y cuantificación espectrofotométrica a 590 nm (OD590) como estimación de biomasa adherida. De manera complementaria, se realizaron análisis microbiológicos mediante cultivos para *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., considerando cada combinación de material y tiempo de exposición.

Los resultados mostraron diferencias en los patrones de acumulación de biomasa adherida entre los materiales evaluados, observándose una tendencia de incremento durante los periodos finales de exposición. El concreto presentó una mayor acumulación relativa de biomasa adherida en determinados periodos, mientras que acero inoxidable y plástico mostraron comportamientos diferenciados durante el ensayo. Los análisis microbiológicos evidenciaron variaciones en la presencia de bacterias cultivables según el material y tiempo de exposición, destacando que la cantidad de biomasa detectada mediante cristal violeta no necesariamente refleja de manera proporcional la recuperación de microorganismos cultivables.

Los resultados obtenidos aportan información sobre la interacción entre materiales de superficies pecuarias y comunidades microbianas ambientales, proporcionando una base experimental para comprender los procesos asociados con la formación de biofilms en sistemas de manejo de agua.

Palabras clave: biofilms; colonización bacteriana; materiales pecuarios; biomasa adherida.

Abstract

Biofilm formation on water-contact surfaces is a dynamic process influenced by material characteristics, environmental conditions, and the adaptive capacity of microbial communities. This study aimed to evaluate bacterial colonization dynamics and biofilm formation on materials commonly used in livestock water troughs using water from La Golondrina Dam as an environmental source of microorganisms. Stainless steel, plastic, and concrete coupons measuring 5 cm × 5 cm were exposed for different periods (0, 48, 96, and 168 h). Biofilm formation was assessed through crystal violet staining and spectrophotometric quantification at 590 nm (OD590) as an indirect estimation of adhered biomass. Additionally, microbiological analyses were performed through culture-based methods to evaluate the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. according to material type and exposure time.

The results showed differences in adhered biomass accumulation patterns among the evaluated materials and exposure periods. Overall, absorbance values increased during the final stages of exposure, with concrete surfaces showing higher relative biomass accumulation under the experimental conditions. Stainless steel and

plastic surfaces exhibited different temporal patterns of biofilm development. Microbiological analyses revealed variations in the presence and recovery of cultivable bacteria depending on the material and exposure time, indicating that biomass accumulation detected by crystal violet does not necessarily correspond proportionally to the recovery of cultivable microorganisms.

These findings provide experimental information on the interaction between livestock water trough materials and environmental microbial communities, contributing to the understanding of biofilm formation processes in water management systems associated with animal production.

Introducción

Contexto actual del agua y los sistemas pecuarios como ambientes de interacción microbiana

El agua constituye uno de los recursos esenciales dentro de los sistemas de producción pecuaria, debido a su participación directa en procesos fisiológicos fundamentales para el crecimiento, mantenimiento y bienestar de los animales. Además de su importancia biológica, el agua representa un recurso estratégico dentro de los sistemas agropecuarios debido a la creciente demanda productiva, la presión sobre la disponibilidad hídrica y los cambios ambientales asociados a la variabilidad climática. En este sentido, comprender los factores que modifican las características microbiológicas del agua utilizada en sistemas pecuarios constituye un área de interés científico, particularmente por la interacción constante entre las condiciones ambientales, las comunidades microbianas y las superficies que permanecen en contacto con este recurso (Mekonnen & Hoekstra, 2012; IPCC, 2022).

En diversas regiones rurales, los sistemas pecuarios dependen de fuentes de abastecimiento provenientes de cuerpos de agua superficiales como presas, bordos, lagunas o corrientes naturales. Estas fuentes representan ecosistemas dinámicos donde interactúan factores físicos, químicos y biológicos que determinan la composición de las comunidades microbianas presentes. Variables como temperatura, disponibilidad de nutrientes, concentración de materia orgánica, características fisicoquímicas del agua y condiciones ambientales pueden modificar la estructura y actividad de las poblaciones bacterianas presentes en estos sistemas (Cabral, 2010).

Los ambientes acuáticos naturales constituyen reservorios de una amplia diversidad microbiana, donde las bacterias pueden encontrarse tanto en suspensión dentro de la columna de agua como asociadas a superficies sólidas presentes en el ambiente. Esta capacidad de interacción con diferentes superficies representa una estrategia ecológica importante, ya que permite a los microorganismos establecer comunidades adheridas y adaptarse a condiciones ambientales variables (Berney et al., 2008).

En los sistemas de abastecimiento pecuario, los recipientes y estructuras destinadas al almacenamiento o suministro de agua representan superficies de contacto continuo entre el ambiente acuático y los microorganismos presentes. Bajo estas condiciones, las superficies pueden funcionar como sitios potenciales de adhesión microbiana, favoreciendo procesos naturales de colonización y desarrollo de comunidades bacterianas organizadas.

Formación de biofilms como estrategia de supervivencia microbiana

Una de las estrategias más importantes desarrolladas por los microorganismos para permanecer en diferentes ambientes es la formación de biofilms o biopelículas. Estas estructuras corresponden a comunidades microbianas adheridas a una superficie e inmersas en una matriz extracelular compuesta principalmente por polisacáridos, proteínas y material genético extracelular producido por las propias células bacterianas (Donlan & Costerton, 2002).

Actualmente, los biofilms son reconocidos como una forma predominante de organización microbiana en ambientes naturales y artificiales. A diferencia de las células bacterianas libres, las comunidades organizadas en biofilms presentan características fisiológicas y ecológicas particulares derivadas de la interacción entre las células y la matriz extracelular, lo que favorece su permanencia y adaptación dentro del ambiente donde se desarrollan (Flemming *et al*., 2016; Flemming & Wuertz, 2019).

El proceso de formación de biofilms ocurre mediante diferentes etapas. Inicialmente, las células bacterianas establecen una adhesión reversible con la superficie mediante interacciones fisicoquímicas. Posteriormente, ocurre una fijación más estable asociada con la producción de sustancias poliméricas extracelulares, seguida por la maduración de una estructura organizada y finalmente la dispersión de células hacia nuevos sitios de colonización (Donlan & Costerton, 2002). Esta dinámica convierte al biofilm en un fenómeno complejo donde participan factores relacionados tanto con las características microbianas como con las condiciones ambientales y propiedades del material.

Influencia del material sobre la colonización bacteriana

La formación de biofilms depende de múltiples factores, entre los cuales destacan las características de la superficie donde ocurre la adhesión. Propiedades como rugosidad, porosidad, hidrofobicidad, composición química y capacidad de retención de materia orgánica pueden modificar la interacción entre las células bacterianas y el material disponible para la colonización (Van Houdt & Michiels, 2010).

Los materiales empleados en estructuras relacionadas con el manejo del agua presentan diferencias físicas y químicas que pueden influir en la cantidad de biomasa adherida. El plástico, el acero inoxidable y el concreto poseen características particulares relacionadas con su composición, textura superficial y capacidad de interacción con microorganismos ambientales. Por ello, la comparación experimental entre estos materiales permite analizar cómo las propiedades de la superficie pueden favorecer o limitar el desarrollo de biofilms.

En sistemas pecuarios, los bebederos representan un modelo experimental de interés debido a que sus superficies permanecen expuestas al contacto prolongado con agua y comunidades microbianas ambientales. Sin embargo, la dinámica específica de colonización bacteriana sobre diferentes materiales requiere evaluaciones experimentales bajo condiciones controladas que permitan comparar su comportamiento durante periodos definidos de exposición.

Evaluación experimental de biofilms y relevancia del estudio

La evaluación de la formación de biofilms puede realizarse mediante diferentes técnicas microbiológicas. Entre ellas, la tinción con cristal violeta representa uno de los métodos más utilizados debido a su simplicidad, reproducibilidad y capacidad para estimar la biomasa total adherida sobre una superficie. Esta técnica se basa en la retención del colorante por componentes celulares y de la matriz extracelular del biofilm, permitiendo realizar mediciones espectrofotométricas como aproximación cuantitativa de la biomasa formada (O'Toole & Kolter, 1998; Stepanović et al., 2007).

Aunque esta metodología no permite identificar directamente las especies microbianas presentes ni determinar la viabilidad celular, constituye una herramienta adecuada para realizar comparaciones experimentales entre diferentes materiales y condiciones de exposición. Su aplicación permite analizar tendencias de colonización y establecer relaciones entre el tipo de superficie y la capacidad relativa de formación de biofilms.

La Presa La Golondrina representa una fuente ambiental adecuada para desarrollar un modelo experimental de interacción microorganismo-superficie, debido a que permite estudiar comunidades microbianas presentes en un ecosistema acuático natural y analizar su comportamiento frente a materiales representativos de sistemas utilizados en bebederos pecuarios.

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo analizar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms en materiales de bebederos pecuarios utilizando agua de la Presa La Golondrina como fuente ambiental de microorganismos. Mediante la evaluación de biomasa adherida y el seguimiento temporal del proceso de colonización, se busca comparar el comportamiento de superficies de acero inoxidable, plástico y concreto, generando información experimental sobre la influencia del material en la formación de comunidades microbianas adheridas.

Además de su contribución científica, este proyecto posee un componente formativo al involucrar estudiantes en actividades de investigación experimental, fortaleciendo competencias relacionadas con diseño experimental, aplicación de técnicas microbiológicas, análisis de datos y comunicación científica.

Planteamiento del problema

El agua utilizada en sistemas de abastecimiento pecuario constituye un elemento esencial para el desarrollo y mantenimiento de los animales. En diversas regiones, estas fuentes pueden provenir de cuerpos de agua superficiales como presas, estanques o bordos, los cuales representan ambientes dinámicos donde interactúan factores físicos, químicos y biológicos que determinan la composición de las comunidades microbianas presentes.

Cuando el agua permanece en contacto con superficies sólidas, los microorganismos pueden adherirse y desarrollar estructuras organizadas denominadas biofilms o biopelículas. Estas comunidades microbianas se caracterizan por la producción de una matriz extracelular que favorece su permanencia y adaptación sobre diferentes materiales como se puede mostrar en la Figura 1 (Donlan & Costerton, 2002; Flemming et al., 2016).

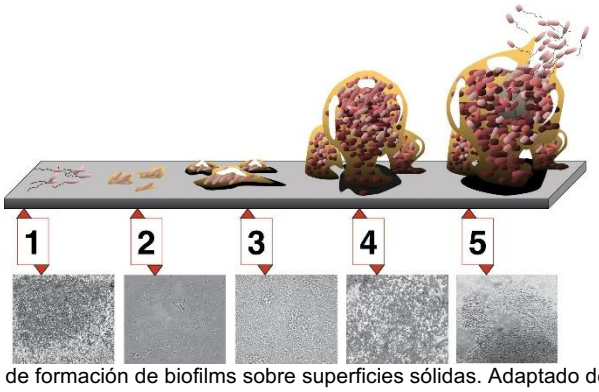


Figura 1. Etapas del proceso de formación de biofilms sobre superficies sólidas. Adaptado de Donlan y Costerton (2002) y Flemming et al. (2016).

Los materiales empleados en sistemas de almacenamiento y suministro de agua presentan características físicas y químicas particulares, como rugosidad, porosidad y capacidad de retención de materia orgánica, que pueden modificar la interacción microorganismo-superficie y favorecer diferencias en la acumulación de biomasa adherida (Van Houdt & Michiels, 2010). Sin embargo, aún es necesario generar información experimental sobre el comportamiento de materiales utilizados comúnmente en ambientes pecuarios bajo condiciones que representen escenarios ambientales locales.

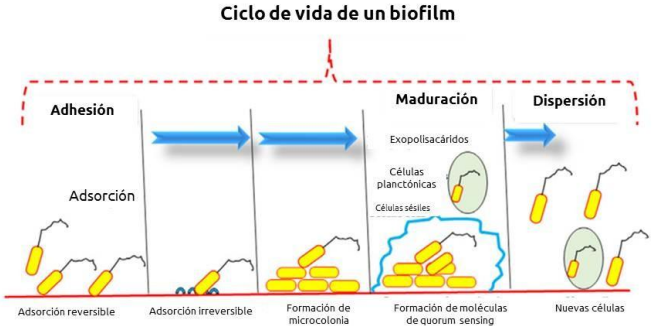


Figura 2. Esquema representa la relación entre las características de la superficie, la acumulación de biomasa adherida y la detección de microorganismos cultivables.

En este contexto, superficies de acero inoxidable, plástico y concreto utilizadas en bebederos pecuarios pueden presentar diferentes patrones de colonización bacteriana y formación de biofilms. La evaluación de estos procesos requiere integrar aproximaciones complementarias que permitan analizar tanto la acumulación de biomasa adherida como la presencia de microorganismos cultivables asociados a las superficies.

La Presa La Golondrina representa una fuente de agua de interés para estudiar la interacción entre comunidades microbianas presentes en un ecosistema acuático natural y materiales empleados en sistemas pecuarios. Por ello, resulta necesario generar información experimental que permita comparar la dinámica de formación de biofilms y la presencia de bacterias cultivables en diferentes materiales durante distintos periodos de exposición.

Por lo anterior, surge la siguiente pregunta de investigación:
¿Cómo se comporta la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre superficies de acero inoxidable, plástico y concreto utilizadas en bebederos pecuarios durante diferentes periodos de exposición al agua de la Presa La Golondrina, considerando la biomasa adherida y la presencia de bacterias cultivables como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.?

El presente estudio busca responder esta pregunta mediante la evaluación comparativa de superficies de diferentes materiales, utilizando la tinción con cristal violeta y análisis espectrofotométrico de biomasa adherida, complementados con análisis microbiológicos mediante cultivo bacteriano.

Justificación

La formación de biofilms representa un fenómeno microbiológico ampliamente distribuido en ambientes naturales y sistemas donde existe interacción constante entre microorganismos y superficies sólidas. El estudio de estos procesos permite comprender cómo las comunidades bacterianas establecen mecanismos de adhesión y permanencia en distintos materiales, contribuyendo al conocimiento de las relaciones microorganismos y superficie.

En sistemas pecuarios, los recipientes destinados al suministro de agua presentan superficies que pueden entrar en contacto prolongado con comunidades microbianas presentes en fuentes ambientales. Debido a que los materiales empleados poseen características diferentes, resulta relevante analizar experimentalmente si estas propiedades influyen en la capacidad de colonización bacteriana y desarrollo de biofilms.

La comparación entre materiales como acero inoxidable, plástico y concreto permitirá generar información sobre el comportamiento relativo de cada superficie bajo un mismo ambiente experimental. Este enfoque permitirá identificar diferencias en la acumulación de biomasa adherida y comprender la influencia del material como un factor determinante dentro del proceso de formación de biopelículas.

Desde el punto de vista metodológico, el proyecto permitirá aplicar técnicas utilizadas en microbiología experimental, como preparación de superficies, exposición controlada de materiales, tinción con cristal violeta, medición espectrofotométrica y análisis comparativo de resultados. Estas herramientas representan estrategias adecuadas para introducir a estudiantes en procesos de investigación científica mediante un modelo experimental reproducible.

Asimismo, el estudio posee relevancia académica debido a que integra conocimientos de microbiología, química, análisis de datos y metodología científica, fortaleciendo las competencias de los participantes en el desarrollo de proyectos de investigación. Esta característica se encuentra alineada con los objetivos del Verano de la Ciencia UG, cuyo propósito es fomentar la formación científica mediante la participación estudiantil en proyectos de investigación, desarrollo tecnológico e innovación.

Finalmente, los resultados obtenidos permitirán generar evidencia experimental sobre la dinámica de colonización bacteriana en materiales asociados con bebederos pecuarios, contribuyendo al conocimiento del comportamiento de biofilms en ambientes controlados y proporcionando una base para futuras investigaciones relacionadas con microbiología ambiental y materiales de contacto con agua.

Hipótesis

Las características del material utilizado en superficies de bebederos pecuarios (acero inoxidable, plástico y concreto) pueden modificar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms durante diferentes periodos de exposición al agua de la Presa La Golondrina, generando variaciones en la acumulación de biomasa adherida y en la presencia de bacterias cultivables como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.

Objetivo general

Evaluar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre superficies de acero inoxidable, plástico y concreto utilizadas en bebederos pecuarios, durante diferentes periodos de exposición al agua de la Presa La Golondrina, mediante la estimación de biomasa adherida por tinción con cristal violeta y análisis espectrofotométrico, complementada con la evaluación microbiológica de bacterias cultivables como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.

Objetivos particulares

1.- Caracterizar la formación de biomasa adherida asociada a biofilms sobre superficies de acero inoxidable, plástico y concreto durante diferentes periodos de exposición al agua de la Presa La Golondrina mediante tinción con cristal violeta y medición espectrofotométrica a 590 nm.

2.- Evaluar la presencia y comportamiento de bacterias cultivables como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. asociadas a las superficies de los diferentes materiales durante los tiempos de exposición establecidos.

3.- Comparar los patrones de acumulación de biomasa adherida y presencia de bacterias cultivables entre los materiales evaluados, considerando la dinámica temporal del proceso de colonización bacteriana.

4.- Analizar la relación descriptiva entre los valores de biomasa adherida obtenidos mediante cristal violeta y los resultados microbiológicos obtenidos mediante cultivo bacteriano.

5.- Evaluar la reducción de biomasa adherida después de la aplicación de tratamientos de limpieza sobre las superficies analizadas.

Metodología

El estudio experimental realizado fue comparativo y longitudinal para evaluar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre materiales utilizados en bebederos pecuarios, utilizando agua proveniente de la Presa La Golondrina como fuente ambiental de comunidades microbianas considerando el diagrama mostrado en la Figura 3. El diseño experimental consideró como factores de estudio: Factor 1. *Material de superficie:* acero inoxidable, plástico y concreto. Factor 2. Tiempo de exposición: (0, 48, 96 y 168 horas). La variable respuesta correspondió a la biomasa adherida asociada a la formación de biofilms, determinada mediante tinción con cristal violeta y medición espectrofotométrica de absorbancia a 590 nm (OD590). Como evaluación complementaria, se realizaron análisis microbiológicos mediante cultivo para determinar la presencia de bacterias indicadoras asociadas a las superficies evaluadas.

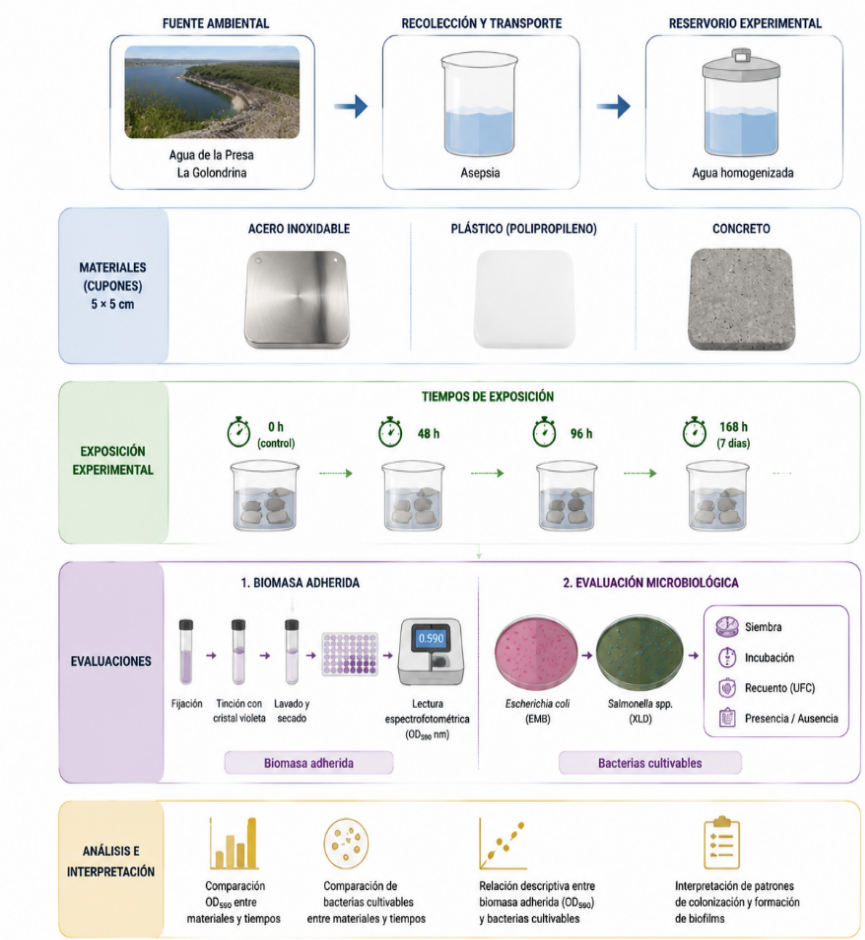


Figura 3. Diseño experimental empleado para evaluar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre materiales utilizados en bebederos pecuarios.

Preparación de materiales experimentales
Para la evaluación experimental se utilizaron placas (cupones) elaboradas con tres materiales representativos de superficies empleadas en sistemas de abastecimiento pecuario, las que corresponden a acero inoxidable, plástico y concreto. Cada cupón presentó dimensiones estandarizadas de 5 cm × 5 cm, equivalente a un área superficial de exposición de 25 cm². Antes del inicio del experimento, las placas fueron acondicionadas, identificadas y preparadas bajo condiciones homogéneas para reducir variaciones asociadas al estado inicial de las superficies. La estandarización del área permitió realizar comparaciones directas entre materiales, considerando la misma superficie disponible para la adhesión microbiana y desarrollo del biofilm.

Obtención y preparación del agua experimental
El agua utilizada durante el ensayo experimental fue obtenida de la Presa La Golondrina, seleccionada como fuente ambiental de microorganismos presentes en condiciones naturales. Previo al montaje experimental se registraron las condiciones iniciales del agua mediante parámetros básicos de caracterización, con la finalidad de establecer un marco de referencia del ambiente acuático empleado. La muestra de agua fue utilizada como medio de exposición para favorecer la interacción entre las comunidades microbianas presentes y las superficies evaluadas.

Sistema de exposición de superficies
Los cupones de cada material fueron colocados en contacto con el agua experimental bajo condiciones controladas durante los diferentes periodos establecidos.
La evaluación se realizó considerando cada combinación: Material empleado × Tiempo de exposición

De esta manera, se analizaron los cambios en la colonización superficial conforme aumentó el tiempo de contacto entre el agua y los materiales.
Las muestras fueron recuperadas en cada periodo experimental para realizar las evaluaciones correspondientes de formación de biofilm y análisis microbiológico.

Evaluación de formación de biofilms mediante tinción con cristal violeta
La formación de biofilms fue evaluada mediante la técnica de tinción con cristal violeta, utilizada como método indirecto para estimar la cantidad de biomasa total adherida sobre las superficies.
Después de cada tiempo de exposición, los cupones fueron procesados mediante: a) la recuperación de la superficie experimental, b) la eliminación de material no adherido, c) la aplicación de tinción con cristal violeta, d) la eliminación del exceso de colorante, e) la solubilización del colorante retenido, y f) la lectura espectrofotométrica.
La absorbancia fue determinada a una longitud de onda de 590 nm (OD590), además, para cada condición experimental se consideró el promedio obtenido a partir de tres mediciones, generando un valor representativo de biomasa adherida para cada combinación material-tiempo y los valores obtenidos fueron utilizados como indicador comparativo de la capacidad relativa de formación de biofilm entre las diferentes superficies evaluadas.

Evaluación microbiológica mediante cultivo bacteriano
Como complemento al análisis de biomasa adherida, se realizaron evaluaciones microbiológicas mediante técnicas de cultivo bacteriano.
Los análisis fueron realizados considerando cada condición experimental fueron el material del cupón y el tiempo de exposición.
Se realizaron cultivos dirigidos para evaluar la presencia de *Escherichia coli y salmonella* spp.
Los resultados obtenidos mediante cultivo fueron utilizados para complementar la información proporcionada por la técnica de cristal violeta, permitiendo comparar la relación entre la cantidad relativa de biomasa adherida, la presencia de microorganismos cultivables, el tipo de material y el tiempo de exposición.
Esta integración permitió diferenciar entre una acumulación general de biomasa asociada al biofilm y la presencia de microorganismos indicadores específicos.

Análisis de resultados
Los datos obtenidos mediante espectrofotometría y cultivo microbiológico fueron organizados de acuerdo con el material evaluado, el tiempo de exposición, absorbancia OD590, y los resultados de cultivo bacteriano.
Se realizó un análisis descriptivo mediante promedios de las concentraciones obtenidas, comparación entre materiales, evolución temporal y la representación gráfica de tendencias. La interpretación conjunta permitió analizar si los incrementos en biomasa adherida observados mediante cristal violeta presentaron correspondencia con la presencia de bacterias cultivables detectadas mediante cultivo. Además, los resultados de absorbancia obtenidos para cada tratamiento fueron analizados considerando el efecto del material y del tiempo de exposición sobre la formación de biofilm. Se evaluó la tendencia de acumulación de biomasa adherida mediante comparación entre tratamientos y representación gráfica de la evolución temporal y los resultados microbiológicos fueron utilizados como evidencia complementaria para interpretar las diferencias observadas en la formación de biofilms.

Resultados

Para las absorbancias
Se determinó la absorbancia inicial de las muestras para cada periodo de tiempo como paso previo para el cálculo y la interpretación de las concentraciones (mol/L) correspondientes que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones (mol/L) para los materiales utilizados respecto del tiempo.

Material	0 h	48 h	96 h	168 h
Plástico	0.3445	0.3540	0.4795	1.6600

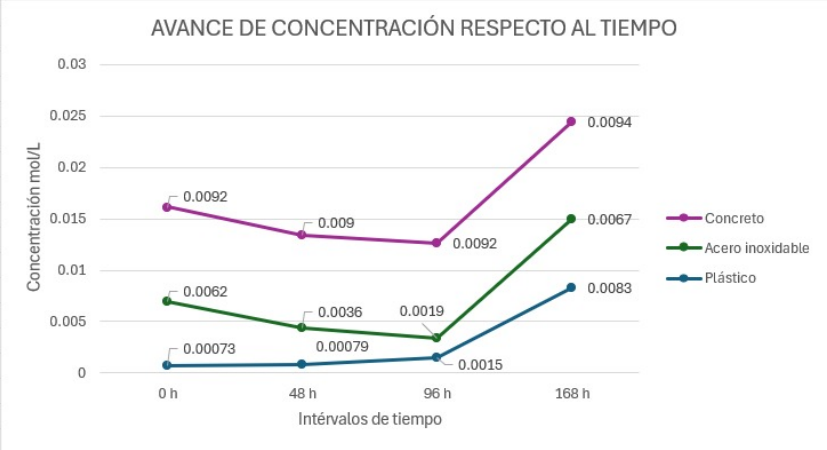
Acero inoxidable	1.3005	0.8500	0.5445	1.3905
Concreto	1.8285	1.7780	1.8285	1.8510

Concentraciones

En la Gráfica 1 se presenta el comportamiento cinético de la acumulación de biomasa (expresada en concentración mol/L) sobre cupones de concreto, acero inoxidable y plástico expuestos a agua proveniente de la Presa La Golondrina durante un periodo de 168 horas.

Durante la etapa inicial de evaluación (0 a 96 h), se observó una fase de estabilización y ligera disminución de la concentración medida en los tres materiales. A las 96 h se registraron los valores mínimos de concentración para cada superficie: $0.0092\ mol/L$ en concreto, $0.0019\ mol/L$ en acero inoxidable y $0.0015\ mol/L$ en plástico. A partir de las 96 h y hasta las 168 h ocurrió un incremento pronunciado en la acumulación de biomasa en todos los materiales. Al finalizar el periodo de $168\ h$, el concreto registró un valor de $0.0094\ mol/L$, seguido por el plástico con 0.0083 mol/L y el acero inoxidable $0.0067\ mol/L$.

Gráfica 1. Avance de concentración de biofilm en cada material respecto al tiempo.



Crecimiento de *E. coli y salmonella* spp

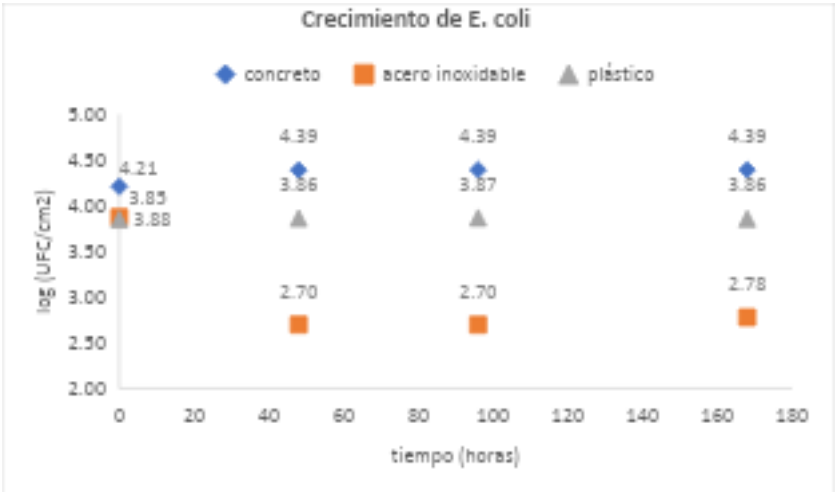
De manera simultánea se hizo el cultivo en medios selectivos para determinar la correspondencia entre los biofilms detectados en cada material utilizado y el crecimiento de *E. coli* y de *salmonella* spp, por lo que se identificaron colonias para salmonella, de acuerdo con el material y al tiempo en que se tomó la muestra para realizar el cultivo mostrado en la Tabla 2:

Tabla 2. Presencia de salmonella en los materiales: plástico, acero inoxidable y concreto

Material	0 h	48 h	96 h	168 h
Plástico	Con presencia	Con presencia	Con presencia	*
Acero inoxidable	Con presencia	*	*	*
Concreto	Con presencia	Con presencia	*	*

Al obtener los valores de crecimiento para *E. coli*, se muestran en la gráfica 2, la manera en que evolucionó el crecimiento de las unidades formadoras de colonias:

Gráfica 2. Unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli* en cada material respecto al tiempo



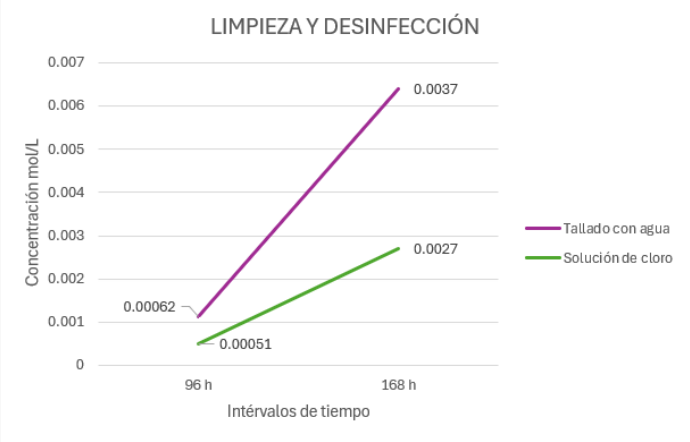
Proceso de desinfección

Los análisis comparativos permitieron determinar que el acero inoxidable presenta un comportamiento favorable frente a la adhesión microbiana al tener la menor cantidad de biofilm en la mayoría de los intérvalos de tiempo, posicionándose como el mejor material para la fabricación y mantenimiento de bebederos pecuarios en comparación con el plástico y el concreto.

Reincorporamos las placas metálicas y se sometieron nuevamente a los tiempos de 96 y 168 horas. Al aplicar procedimientos de limpieza sobre las placas de acero inoxidable, tanto mediante remoción mecánica con agua como con la aplicación de una dilución de cloro, se observó una reducción considerable en la cantidad de biofilm presente en las superficies. En relación con la evaluación de los métodos de remoción de biofilm a las 168 h, mostrados en la Gráfica 3, se identificó que el procedimiento de tallado mecánico únicamente con

agua mantuvo una concentración residual de 0.0037 mol/L. En contraste, la aplicación de la solución de cloro combinada redujo significativamente la presencia de biomasa adherida, alcanzando un nivel final de 0.0027 mol/L.

Gráfica 3. Evaluación de los procesos de remoción de biofilm en placas de acero inoxidable.



Discusión de resultados

La formación de biofilms sobre superficies en contacto con agua es un proceso dinámico determinado por las características del material, las condiciones ambientales y la capacidad de adaptación de las comunidades microbianas presentes. En este estudio se evaluó la colonización bacteriana y formación de biofilms sobre placas de acero inoxidable, plástico y concreto de 5 cm × 5 cm, expuestas durante diferentes periodos al agua de la Presa La Golondrina. Para ello, se integraron dos aproximaciones experimentales complementarias: la estimación de biomasa adherida mediante tinción con cristal violeta y lectura espectrofotométrica a 590 nm (OD590), así como la evaluación microbiológica mediante cultivos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.

Los valores de absorbancia obtenidos mostraron diferencias en la acumulación de biomasa adherida entre materiales y tiempos de exposición. De manera general, se observó un incremento de la absorbancia durante los periodos finales de evaluación, siendo más evidente en las superficies de concreto, donde se registraron mayores valores relativos de biomasa adherida. Este comportamiento sugiere una mayor acumulación de estructuras asociadas al desarrollo del biofilm bajo las condiciones experimentales evaluadas.

La mayor acumulación observada en concreto puede relacionarse con sus características superficiales, particularmente su heterogeneidad y capacidad de retención de materia orgánica, condiciones que pueden favorecer la adhesión inicial y el establecimiento de comunidades microbianas adheridas. En contraste, el acero inoxidable presentó menores valores relativos de biomasa en algunos periodos, posiblemente asociado con una superficie menos porosa y con menor capacidad de retención física de partículas. Sin embargo, la formación de biofilms no depende únicamente del material, sino también de factores ambientales, disponibilidad de nutrientes y composición de las comunidades microbianas presentes (Van Houdt & Michiels, 2010).

El plástico mostró un comportamiento variable durante el ensayo, con incremento de biomasa hacia las etapas finales de exposición. Este comportamiento confirma que la colonización microbiana es un proceso progresivo donde la adhesión inicial, producción de matriz extracelular y maduración del biofilm ocurren conforme aumenta el tiempo de contacto entre microorganismos y superficie (Donlan & Costerton, 2002).
La interpretación de los valores de OD590 debe considerar que la técnica de cristal violeta estima biomasa total adherida, incluyendo células bacterianas y componentes de la matriz extracelular, por lo que un incremento en absorbancia no representa necesariamente un aumento proporcional de células viables. Por

esta razón, los resultados espectrofotométricos fueron complementados con la evaluación microbiológica mediante cultivos bacterianos.

Los cultivos realizados para *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. permitieron identificar diferencias en la presencia y recuperación de bacterias cultivables según el material y el tiempo de exposición. La comparación entre ambas aproximaciones mostró que la acumulación de biomasa y la presencia de microorganismos cultivables no necesariamente presentan el mismo comportamiento, debido a que dentro del biofilm pueden coexistir células con diferentes estados fisiológicos y una matriz extracelular que contribuye a la estructura adherida (Flemming et al., 2016; Flemming & Wuertz, 2019).

Estos resultados resaltan que la formación de biofilms es un fenómeno complejo donde intervienen tanto la capacidad de los microorganismos para adherirse y producir matriz extracelular como las características propias de la superficie. La integración de mediciones espectrofotométricas y microbiológicas permitió obtener una interpretación más completa de la dinámica de colonización bacteriana en los materiales evaluados.

El efecto del tiempo de exposición mostró una tendencia hacia una mayor acumulación de biomasa y presencia bacteriana en periodos prolongados, lo cual coincide con la progresión esperada del establecimiento de comunidades adheridas en sistemas donde existe contacto continuo entre agua y superficies sólidas (Hall-Stoodley et al., 2004).

Respecto a los tratamientos de limpieza evaluados, la reducción observada después de la aplicación de procedimientos mecánicos y desinfectantes evidencia la importancia de utilizar estrategias combinadas para disminuir estructuras de biofilm, debido a la protección que proporciona la matriz extracelular frente a procesos de eliminación (Simões et al., 2010).

En conjunto, los resultados indican que los materiales evaluados presentaron diferentes patrones de acumulación de biomasa adherida y presencia de bacterias cultivables durante el periodo experimental. La combinación de métodos espectrofotométricos y microbiológicos permitió caracterizar de manera complementaria la dinámica de colonización bacteriana sobre superficies asociadas a sistemas de abastecimiento pecuario.

Conclusiones

El presente estudio permitió evaluar la dinámica de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre superficies de acero inoxidable, plástico y concreto utilizadas en bebederos pecuarios, empleando agua de la Presa La Golondrina como fuente ambiental de microorganismos. La integración de la evaluación de biomasa adherida mediante tinción con cristal violeta y la detección de bacterias que fue posible identificar mediante cultivo microbiológico permitió analizar el proceso de colonización desde dos aproximaciones complementarias.

Los resultados obtenidos mediante espectrofotometría mostraron una tendencia al incremento de biomasa adherida conforme aumentó el tiempo de exposición de las superficies al agua experimental. El concreto presentó los valores más altos de concentración proveniente de la absorbancia durante el periodo final de evaluación, alcanzando un valor de OD590 de 1.8510 mol/L a las 168 horas, lo que sugiere una mayor acumulación relativa de biomasa asociada a estructuras tipo biofilm bajo las condiciones evaluadas. Este comportamiento puede relacionarse con las características superficiales del material, particularmente su heterogeneidad y capacidad de retención de materia orgánica.

Las superficies de acero inoxidable y plástico presentaron patrones diferentes de acumulación de biomasa durante el periodo experimental. El acero inoxidable mostró valores de OD590 desde 0.5445 mol/L hasta el máximo de 1.3905 mol/L, mientras que el plástico presentó un incremento hacia los periodos finales de exposición, alcanzando 1.66 mol/L lo que indica que el desarrollo del biofilm depende de la interacción entre las características del material, el tiempo de contacto y las condiciones ambientales presentes.

Los análisis microbiológicos permitieron identificar la presencia de bacterias cultivables asociadas a las superficies evaluadas. La detección de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en determinadas combinaciones de material y tiempo de exposición evidencia la capacidad de las superficies para permitir la permanencia de microorganismos provenientes del ambiente acuático. Sin embargo, la comparación entre los resultados de cultivo y los valores de absorbancia mostró que una mayor cantidad de biomasa adherida no necesariamente

corresponde de manera proporcional con una mayor recuperación de microorganismos cultivables, debido a la complejidad estructural de los biofilms y la contribución de la matriz extracelular.

La evaluación conjunta de biomasa adherida y microorganismos cultivables permitió establecer que la formación de biofilms es un proceso multifactorial en el que intervienen las propiedades del material, el tiempo de exposición y las características de la comunidad microbiana presente. La utilización combinada de técnicas espectrofotométricas y microbiológicas proporcionó una aproximación más completa para estudiar la colonización bacteriana sobre superficies asociadas a sistemas de abastecimiento pecuario.

Finalmente, los tratamientos de limpieza evaluados mostraron una reducción de la biomasa adherida respecto a las superficies sin tratamiento, evidenciando la importancia de aplicar estrategias combinadas de remoción física y desinfección para disminuir estructuras asociadas a biofilms.

Impacto del proyecto

El presente proyecto contribuye al conocimiento de los procesos de colonización bacteriana y formación de biofilms sobre materiales utilizados en sistemas de abastecimiento de agua pecuaria, mediante la evaluación experimental de superficies de acero inoxidable, plástico y concreto expuestas a agua proveniente de la Presa La Golondrina.

Desde una perspectiva científica, el estudio aporta información sobre la interacción entre comunidades microbianas ambientales y diferentes materiales de contacto, permitiendo comprender cómo las características superficiales pueden relacionarse con la acumulación de biomasa adherida y la presencia de microorganismos cultivables asociados a estructuras tipo biofilm. La integración de técnicas espectrofotométricas mediante tinción con cristal violeta y análisis microbiológicos mediante cultivo representa una aproximación complementaria para estudiar la dinámica de colonización bacteriana en superficies.

En el ámbito pecuario, los resultados generados proporcionan elementos experimentales que pueden contribuir a la comprensión de los factores que participan en la formación de biofilms en materiales empleados comúnmente en bebederos. Esta información puede servir como base para futuras investigaciones orientadas a evaluar estrategias de selección de materiales, mantenimiento y limpieza de superficies en sistemas de manejo de agua para animales, considerando la complejidad de las comunidades microbianas presentes en ambientes naturales.

Asimismo, el proyecto tiene un impacto formativo al fortalecer las competencias científicas de los estudiantes participantes mediante su involucramiento en actividades de investigación experimental, incluyendo diseño metodológico, preparación de muestras, aplicación de técnicas microbiológicas, análisis e interpretación de resultados y comunicación científica. Estas experiencias favorecen el desarrollo de habilidades relacionadas con el pensamiento crítico, la generación de conocimiento y la resolución de problemas mediante herramientas científicas.

Finalmente, los resultados obtenidos establecen una base experimental para estudios posteriores que incorporen metodologías complementarias, como identificación molecular de comunidades microbianas, análisis fisicoquímico de superficies y evaluación bajo condiciones más cercanas a sistemas pecuarios reales. De esta manera, el proyecto contribuye al fortalecimiento del conocimiento sobre biofilms ambientales y su relación con materiales utilizados en sistemas productivos.

Referencias bibliográficas

American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.). American Public Health Association.

Berney, M., Vital, M., Hülshoff, I., Weilenmann, H. U., Egli, T., & Hammes, F. (2008). Rapid, cultivation-independent assessment of bacterial viability, abundance, and inoculation potential in drinking water. *Water Research, 42*(14), 4010–4018. https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.07.017

Cabral, J. P. S. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 7*(10), 3657–3703. https://doi.org/10.3390/ijerph7103657

Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews, 15*(2), 167–193. https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002

Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology, 14*, 563–575. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94

Flemming, H. C., & Wuertz, S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology, 17*, 247–260. https://doi.org/10.1038/s41579-019-0158-9

Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology, 2*, 95–108. https://doi.org/10.1038/nrmicro821

IPCC. (2022). *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Cambridge University Press.

Kumar, A., Alam, A., Rani, M., Ehtesham, N. Z., & Hasnain, S. E. (2017). Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. *International Journal of Medical Microbiology, 307*(8), 481–489. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.09.016

Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems, 15*, 401–415. https://doi.org/10.1007/s10021-011-9517-8

O'Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis. *Molecular Microbiology, 28*(3), 449–461.

Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry, 7*(4), 493–512. https://doi.org/10.4155/fmc.15.6

Simões, M., Simões, L. C., & Vieira, M. J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology, 43*(4), 573–583. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.12.008

Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Cirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS, 115*(8), 891–899. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

Van Houdt, R., & Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology, 109*(4), 1117–1131. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x