

Estado Actual del Uso de Biopelículas y Bioflóculos en el Cultivo de Camarón

Luis Rafael Martínez Córdova¹; Marcel Martínez Porchas²; José Antonio López Elías¹, Anselmo Miranda Baeza³ y Eduardo Ballester⁴.

¹DICTUS, Universidad de Sonora. Blvd Luis Donaldo Colosio entre Reforma y Sahuaripa, Hermosillo, Sonora. C.P. 83000 E-mail: lmtz@guaymas.uson.mx

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (DTAOA). Km 0.6 Carretera a La Victoria, Hermosillo, Sonora. C.P. 83304.

³Centro de Estudios superiores del Estado de Sonora, Navojoa, Sonora

⁴Laboratorio de Carcinicultura, UFPR, Campus Palotina, Rua Pioneiro 1253, Palotina, PR, CEP 85950-000, Brasil

Resumen

El presente documento es una revisión sobre el uso de biopelículas y bioflóculos en el cultivo de camarón, que incluye experiencias internacionales, nacionales e institucionales. Se presenta un panorama sobre lo que son las biopelículas y bioflóculos, su importancia en sistemas naturales y acuícolas, así como también los aspectos más relevantes que deben ser considerados para su promoción y manejo. Se presentan resultados de su uso y manejo en diversos países del mundo incluyendo México, así como también los resultados más sobresalientes que se han obtenido en nuestra institución sobre este importante tópico, que permitirá avanzar hacia una acuicultura más sustentable.

Palabras clave: cultivo de Camarón, biopelículas, acuicultura sustentable.

Introducción

Uno de los problemas importantes que enfrenta la camaronicultura actual para ser realmente una actividad ambientalmente amigable, es que solamente entre el 15 y el 30% del nitrógeno suplementado en el alimento es retenido como biomasa de los organismos cultivados (Tacon *et al.*, 2009; Audelo-Naranjo *et al.*, 2011) mientras que el resto acaba siendo perdido ya sea en sedimentos, efluentes y/o la atmosfera (Boyd, 2000, 2003; Martínez-Córdova *et al.*, 2011). Esto lógicamente se traduce en importantes daños al medio ambiente, debido a la eutrofización y nutrificación de los cuerpos de agua receptores de los efluentes, así como a la degradación de la calidad del agua y el sedimento de los propios estanques de cultivo (Boyd, 2003; Martínez-Córdova *et al.*, 2009).

Una de las estrategias para enfrentar esta problemática, es utilizar sistemas con una mayor “eficiencia”; esto significa, hacer un mejor uso de los recursos, bienes y servicios que ofrece el ambiente natural, y emplear en menor medida energía y materiales exógenos al sistema (como lo es el alimento suplementario).

Bajo este concepto, el aprovechamiento del alimento natural para cultivos acuícolas, contribuiría a la implementación de un sistema más eficiente en comparación con los que tradicionalmente se utilizan.

Existen evidencias irrefutables que demuestran que el alimento natural contribuye significativamente a la nutrición y al crecimiento de los organismos cultivados tanto en sistemas de cultivo semi-intensivos como intensivos (Wyban y Sweeney, 1991; Hennig y Andreatta, 1998; Moriarty, 1997; Quadros-Seiffert y Martínez-Córdova, 2008; Porchas-Cornejo *et al.*, 2011; Audelo-Naranjo *et al.*, 2010, 2011).

Hasta ahora, los elementos de la productividad natural más comúnmente utilizados en la alimentación del camarón, son aquellos pertenecientes al fitoplancton y al zooplancton, los

cuales son promovidos normalmente mediante la fertilización inorgánica o el uso de otro tipo de promotores (Martínez-Córdova *et al.*, 2009). Sin embargo, en los últimos años ha tomado un gran impulso la utilización de microorganismos tanto autotróficos como heterotróficos, los cuales a pesar de su pequeño tamaño, representan una importante fuente de alimentación debido a su elevada tasa de replicación cuando son adecuadamente manejados (Ballester *et al.*, 2010; Becerra-Dorame *et al.*, 2011). La contribución de los microorganismos y los detritos asociados para la alimentación de los camarones ha sido documentada por Moss (2002), quien reporta que el crecimiento de organismos cultivados en agua rica en materia orgánica y microorganismos, proveniente de estanques de cultivo, fue 53% mayor que el de camarones alimentados con el mismo tipo de alimento, pero cultivados en agua clara. Avnimelech (2006) ha hecho importantes contribuciones en el tema del uso de bioflocs en acuicultura, los cuales han servido de base para otras investigaciones y/o aplicaciones a nivel productivo.

El presente documento pretende ser una contribución al conocimiento sobre el uso de los microorganismos asociados a biopelículas y/o bioflóculos, en la alimentación de camarones peneidos.

La información aquí vertida es producto de investigaciones empíricas realizadas en nuestras instituciones: La Universidad de Sonora, El Centro de Estudios Superiores del Estado de Sonora y el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, así como también de estudios y experiencias productivas a nivel nacional o internacional.

Los Microorganismos y su Importancia en Ambientes Naturales y Acuólicas

Se conoce como microorganismos a todos aquellos organismos unicelulares, tanto procariontes autotróficos y heterotróficos (cianobacterias y bacterias) como los eucariontes autotróficos y heterotróficos (microalgas y protozoarios). Sin embargo, muchos consideran

también como microorganismos todos aquellos organismos que no son observables a simple vista, tales como pequeños metazoarios (rotíferos, nematodos y estadios larvales de organismos mayores, como los nauplios de crustáceos).

Está más que comprobada la enorme importancia que los microorganismos tienen en ambientes acuáticos tanto naturales como acuícolas. Se les puede encontrar en el sedimento, en la columna de agua, interna o externamente en otros animales y vegetales acuáticos. Bajo determinadas condiciones, los microorganismos pueden ser encontrados en densidades por arriba de los diez millones por mililitro (10^6 mL^{-1}) y actúan de forma compleja, principalmente a través de sustancias que ellos producen y excretan. En estos ambientes, los microorganismos desempeñan un papel fundamental como productores y consumidores de oxígeno disuelto, reciclando nutrientes y produciendo alimento para organismos mayores. Aunque son muy pequeños, se multiplican rápidamente y son capaces de utilizar prácticamente cualquier compuesto orgánico, lo que hace de ellos el más versátil y numeroso grupo de organismos presente en el ambiente acuático (Horowitz y Horowitz, 2002).

En los estanques de cultivo, los microorganismos juegan un rol muy importante para mantener la calidad del agua, como mediadores del impacto ambiental de los efluentes y en el control de posibles patógenos (Decamp *et al.*, 2002; Moss *et al.*, 2002). Montoya y Velasco (2001) sugieren que los acuicultores se pueden beneficiar del manejo de la comunidad microbiana presente en las unidades de cultivo y así, reducir los niveles de nutrientes en el alimento ofrecido, disminuir el consumo de agua y mejorar la calidad del ambiente de cultivo.

En sistemas de cultivo extensivos o semi-intensivos, las dos fuentes básicas de alimento para los organismos cultivados son la productividad primaria del fitoplancton y los nutrientes adicionados al sistema a través de la fertilización química, orgánica o suplemento

de alimento artificial, las cuales estimulan el crecimiento bacteriano y el establecimiento de toda la cadena trófica (Moriarty, 1997).

Los microorganismos presentes tanto en ambientes naturales como acuólicas, pueden tener efectos positivos y negativos. Como efectos positivos en acuicultura se pueden destacar la eliminación de compuestos nitrogenados tóxicos como el nitrógeno amoniacal, la degradación de la materia orgánica producto sobre todo del alimento no consumido y muy especialmente su contribución a la nutrición de los organismos que se están cultivando. Pueden mencionarse como efectos negativos la posibilidad de enfermedades virales y bacterianas, la producción de nitrógeno amoniacal y el consumo excesivo de oxígeno, bajo determinadas circunstancias (Horowitz y Horowitz, 2001).

La composición proximal de las biopelículas y bioflóculos es muy adecuada para la nutrición de peces y camarones, no solo contiene los macronutrientes requeridos tales como proteínas (que pueden andar por arriba de 30 %), lípidos (incluyendo ácidos grasos PUFA y HUFA), sino que además, se ha documentado que otros compuestos encontrados en ellos pueden ser altamente beneficiosos para los organismos en cultivo; tal es el caso de ácidos grasos de cadena corta que pueden funcionar como biocontroles contra agentes patógenos. En este contexto, Defoirdt *et al.*, (2006) demostraron que la aplicación de 20 mM de ácido butírico (que pudiera ser también fórmico, acético, propiónico ó valérico) al agua de cultivo de *Artemia*, resultó benéfico para protegerla contra *Vibrio campbellii*. Ciertos productos almacenados en las células como poly- β -hidroxibutirato, que es producido por muchos microorganismos, pueden ser degradados por organismos mayores y servirles como preventivos o curativos de ciertas enfermedades (Defoirdt *et al.*, 2007).

Aprovechamiento de los Microorganismos en Cultivos Acuícolas

Con excepción de los moluscos filtro-alimentadores, la mayoría de los organismos que se cultivan comercialmente son incapaces de consumir directamente microorganismos en la columna de agua, ya que son demasiado pequeños para manipularlos y conducirlos a su sistema digestivo. Sin embargo, sí pueden hacerlo a través del consumo de otros organismos como los protozoarios, que a su vez se alimentan de las bacterias. Las bacterias son también consumidas por nanoflagelados y pequeños ciliados y de esta manera, enriquecen las cadenas tróficas con energía y materia orgánica que acaba siendo transferida a los niveles tróficos más elevados (Sherr y Sherr, 1984, 2000). Los organismos en cultivo también pueden consumir a los microorganismos cuando éstos se encuentran asociados a detritos o bien a sustratos fijos o flotantes. Esta condición ha sido aprovechada para la implementación de sistemas en los que se introducen sustratos artificiales o naturales, fijos o flotantes para la formación de biopelículas o bioflóculos.

Una biopelícula (o biofilm), es una comunidad de microorganismos, principalmente microalgas, bacterias, protozoarios y hongos, asociados a una matriz orgánica adherida a superficies sumergidas (Ramesh *et al.*, 1999). Según Whal (1989), una biopelícula se forma sobre cualquier superficie húmeda, siguiendo un patrón de colonización en el cual pueden ser distinguidas cuatro fases: (i) adsorción de compuestos químicos disueltos (macromoléculas) a las superficies (proceso físico espontáneo); (ii) colonización bacteriana; (iii) colonización por eucariontes unicelulares y (iv) colonización por eucariontes multicelulares.

El concepto de bioflóculos es muy similar, son consorcios formados por bacterias, flagelados, ciliados, cianobacterias, microalgas y pequeños metazoarios además de detritos orgánicos (Burford *et al.*, 2004; Wasielesky *et al.*, 2006).

Horowitz y Horowitz (2001) reportan que tanto las bacterias como las microalgas tienen la capacidad de utilizar con una alta eficiencia el alimento no consumido en los sistemas de

cultivo y a su vez, estos microorganismos se convierten en alimento para los peces o camarones que se están cultivando. Esto hace factible que mediante un adecuado manejo de la microbiota, haya un mejor aprovechamiento del alimento suplementario, un mejor retorno económico y adicionalmente una disminución del nitrógeno y de fósforo en los efluentes, protegiendo de esta forma el medio ambiente. Thompson *et al.*, (1999, 2002), demostraron que microorganismos como bacterias, ciliados y flagelados pueden representar una importante fuente de alimento para larvas de camarón rosa *Farfantepenaeus paulensis*. En ese trabajo, los autores destacan que la importancia de las bacterias como fuente de alimento se debe a las mayores concentraciones de N y P por volumen celular, respecto a otras fuentes de alimentación.

Bianchi *et al.*, (1990) atribuyeron el 70-80% de ganancia de peso de *Litopenaeus vannamei* cultivado en condiciones de laboratorio a la ingesta de flóculos bacterianos. Incluso, se ha documentado que los flóculos podrían llegar a contener hasta el 100% de las vitaminas requeridas por los organismos en cultivo. Además, se sabe que los flóculos contienen agentes probióticos y se ha demostrado que incrementan la actividad de varias enzimas relacionadas con el crecimiento (Avnimelech, 2009).

Aunque el uso flóculos ha impactado positivamente el desarrollo de la acuicultura, no se recomienda su uso como única fuente de alimento, ya que existen algunos nutrientes esenciales que no se encuentran en ellos; por esta razón, se aconseja utilizar una combinación de flóculos y alimento artificial (Avnimelech, 2009).

A pesar de los avances significativos con respecto al conocimiento de la función desempeñada por los microorganismos en los ambientes de cultivo, la completa comprensión de los mecanismos intrínsecos de su actividad aún requiere de estudios más profundos. Por esto, el manejo de los microorganismos es complicado y en ocasiones imprevisible.

Para el caso de los bioflóculos, algunos de los aspectos que determinan su formación, composición y estabilidad están resumidos en la Tabla 1 (Tomada de De Schryver *et al.*, 2008).

Intensidad de la mezcla

Es muy importante mantener los bioflóculos en suspensión, ya que de esta manera mantienen un contacto continuo con los nutrientes de la columna de agua lo que resulta en un crecimiento más rápido. Para ello es necesario provocar una mezcla constante de la columna de agua, normalmente por inyección de aire, teniendo cuidado de que sea lo suficiente para mantener las partículas en suspensión, pero no demasiado fuerte como para desintegrar los flóculos. La intensidad de la mezcla determina la estabilidad de los flóculos, es decir el equilibrio entre la tasa de agregación y la tasa de ruptura, así como también la distribución de los mismos (Chaignon *et al.*, 2002). Se recomienda también verificar que el movimiento de agua provocado por la inyección de aire sea homogéneo en toda la unidad de cultivo, ya que esto evita la formación de zonas anóxicas que podrían desencadenar la proliferación de comunidades bacterianas anaeróbicas.

Fuente de carbono orgánico

Los microorganismos heterótrofos requieren una fuente de carbono orgánico para poder crecer y producir su biomasa; sin embargo, no todas las fuentes son igualmente eficientes. Las fuentes de carbono orgánico incluyen alcoholes, azúcares, almidones y fibras. Alcoholes y azúcares son de fácil digestión, pero carbohidratos complejos como granos de sorgo y trigo son metabolizados más lentamente. No obstante, estos últimos tienen la ventaja de proporcionar un sustrato para la adición de bacterias, así como mantener la liberación de carbono orgánico por más tiempo. Además de eso, exigen una mayor síntesis de enzimas bacterianas para su descomposición, las cuales pueden mejorar la digestión de

la especie en cultivo, al consumir las bacterias presentes en el material detrítico. Una fuente que se ha utilizado ampliamente con buenos resultados, es la melaza (Ballester *et al.*, 2010; Becerra-Dórame *et al.*, 2011). Crab *et al.* (2010), probaron acetato, glicerol y glucosa para la formación de bioflocs con y sin inóculo de *Bacillus subtilis*, en el cultivo de *Macrobrachium rosenbergii*. Los contenidos más altos de proteína se obtuvieron con la combinación de glicerol + *Bacillus* (58% en base seca), seguido de glicerol + acetato (42–43 %) y por último la glucosa (28%). El contenido más alto de ácidos grasos n-6 se obtuvo con glicerol y glicerol + *Bacillus*.

La tasa de carga orgánica y la proporción C:N.

La dosificación a la cual el carbón orgánico es añadido al sistema de cultivo, es uno de los parámetros más importantes en el manejo de los bioflóculos. El carbono se puede añadir a pequeñas dosis y continuamente o a grandes dosis con menor continuidad. La segunda forma es más recomendable si lo que se desea es que los microorganismos almacenen productos de reserva (Salehizadeh y Van Loosdrecht, 2004).

Normalmente en un sistema de acuicultura integrada que utiliza microorganismos como una forma de atrapar y retener nutrientes, la eficiencia es solamente de alrededor del 7 % de N y 6 % de P contenido en el alimento (Schneider *et al.*, 2005). Sin embargo, cuando N y P están bien balanceados en la columna de agua y la absorción del nitrógeno amoniacal esta eficientemente diseñada, se puede lograr una retención casi completa. Una concentración de alrededor de 10 mg de $\text{NH}_4\text{-N/L}$ puede ser removida casi completamente después de 5 horas de haber adicionado glucosa a una tasa de C:N igual a 10 y además, sin la acumulación de nitratos o nitritos.

El tipo de microorganismos que se desarrollen mayormente en las biopelículas o bioflóculos puede variar dependiendo de la proporción C:N. Por ejemplo, con proporciones

debajo de 10, se pueden desarrollar principalmente bacterias autotróficas o microalgas. Con proporción de 20 o más, es probable que se desarrolle una mayor proporción de bacterias heterotróficas.

Las bacterias son ineficientes en la descomposición de material orgánico con elevados niveles de carbono (hojas o madera) o nitrógeno (harinas vegetales con altos niveles proteicos). Mezclas balanceadas de carbohidratos y compuestos nitrogenados con C:N de aproximadamente 20:1 (razón con base en el peso) son digeridos con mayor facilidad (Chamberlain *et al.*, 2001).

Cuando se acumulan concentraciones elevadas de N en el sistema de cultivo, es necesario añadir carbohidratos a una tasa de 20 kg por Kg de N.

La intensidad luminosa

La intensidad luminosa está relacionada con las características de las comunidades que se van a asociar a las biopelículas o bioflóculos. Sistemas expuestos directamente a la luz solar propiciarán la proliferación de microalgas y otros organismos autótrofos, mientras que en condiciones de obscuridad o poca intensidad luminosa, habrá mayores posibilidades de que se desarrollen bacterias heterótrofas, hongos, etcétera.

La concentración de oxígeno disuelto

Es recomendable mantener niveles de oxígeno disuelto (OD) por encima de 4-5 mg/L para garantizar un buen desarrollo de los bioflóculos y las biopelículas, y evitar así un efecto negativo en las comunidades cultivadas. Es necesario recordar que para las bacterias y otros organismos asociados en un sistema aeróbico, el oxígeno es necesario para su metabolismo en un sistema.

Se tiene la hipótesis de que la concentración de oxígeno disuelto puede determinar también el tamaño y la estabilidad del flóculo, siendo ambos parámetros mayores, a mayor concentración de OD (Wilén y Balmer, 1999). Por último, la tasa de degradación de materia orgánica por parte de las bacterias, aumenta en la presencia de oxígeno, mientras que se disminuye en condiciones de bajos niveles de oxígeno, propiciando la acumulación de la materia orgánica que a su vez provoca condiciones anaeróbicas (Avnimelech 2009). Entonces, bajo un escenario de inyección de aire ineficiente y bajos niveles de OD, los resultados podrían ser catastróficos, ya que se provocaría la formación de compuestos sulfurados (H_2S) en los sedimentos, los cuales pueden llegar a ser tóxicos a niveles menores a 1 mg/L.

Tabla 1. Parámetros que afectan la formación, composición y estabilidad de los bioflóculos

Parámetro	Influencia en el bioflóculo	Posibilidades de manipulación	Parámetros relacionados
Intensidad de la mezcla	Estructura y talla final	Escoger la fuente de poder y aireación	Oxígeno disuelto
Fuente de carbón orgánico (glucosa, acetato, almidón, glicerol, melasa)	Composición química. Tipo de microorganismos asociado Reservas celulares (polihidroxicarbohidratos)	Elección de la fuente de carbón orgánico Estrategia de alimentación (continua, intervalos)	Carga orgánica Oxígeno disuelto
Tasa de carga orgánica y proporción C:N	Tipo de microorganismos asociados a los bioflóculos o biopelículas. Composición proximal	Evaluar y suplementar los nutrientes adecuados para un buen balance	Carga orgánica; Oxígeno disuelto
Oxígeno disuelto	Composición microbiana Estructura y volumen del flóculo	Fuente de poder Equipo de aireación	Intensidad de mezcla Carga orgánica
Temperatura	Estructura y Actividad	Mantenimiento de la temperatura	Oxígeno disuelto
pH/composición iónica	Estabilidad del flóculo	Adición de ácidos o bases, iones mono o polivalentes	Alcalinidad, conductividad

Aunque se ha argumentado que la presencia de microorganismos formando bioflóculos o biopelículas incrementa la demanda de oxígeno en los sistemas; la ausencia de éstos incrementaría aun más dicha demanda, debido a que no degradarían la materia orgánica, y ésta al acumularse y descomponerse aumentaría en gran medida la demanda de oxígeno (Avnimelech, 2009).

La Temperatura

El efecto de la temperatura es complejo. Wilen *et al.* (2000) encontraron que la defloculación ocurre mayormente a bajas temperaturas (4 °C), en comparación con temperaturas más altas (18-20°C), probablemente debido a una menor actividad microbiana. Krishna y Van Loosdrecht (1999) reportan que temperaturas tan altas como 30–35 °C resultan en un abultamiento de los flóculos debido a la excesiva producción de polisacáridos extracelulares. Esto puede hacer que pierdan flotabilidad y precipiten al fondo.

La temperatura puede tener un efecto muy significativo en el crecimiento y estructura de los bioflóculos y biopelículas, al propiciar el desarrollo y asociación de organismos que sean tolerantes a dichas temperaturas, así como en el metabolismo de los microorganismos presentes. Por lo general, temperaturas más elevadas implican una mayor actividad bacteriana, lo que se traduce en mayor biomasa y consumo de metabolitos nitrogenados. Sin embargo, a temperaturas elevadas hay también mayor excreción por parte de dichos microorganismos.

El pH

Cambios en el pH son determinantes para la estabilidad de la comunidad microbiana presente en los flóculos (Mikkelsen *et al.*, 1996). El pH óptimo dependerá también de la especie que se esté cultivando. Para algunos salmónidos un pH de 4.2–5.0 puede ser letal o al menos ocasionar serios problemas. Es necesario considerar también que el pH está directamente relacionado con la alcalinidad, la cual para la mayoría de acuacultivos se recomienda mantener arriba de 50-100 mg de CaCO₃.

Cargas electroquímicas

Para que la promoción y el uso de microorganismos en acuicultura tengan éxito, es necesario que estos organismos unicelulares sean capaces de adherirse a sustratos, así como adherirse unos a otros y formar agregados. Sin embargo, algunos tipos de organismos poseen cargas electroquímicas negativas, y tienden a repelerse, evitando la formación de agregados o flóculos. Según Avnimelech (2009), es recomendable agregar iones de calcio o aluminio para disminuir estas fuerzas de repulsión y con ello promover una floculación estable.

Estado Actual del Uso de Biopelículas y Bioflóculos en el Cultivo de Camarones

Experiencias de otros países

Ballester *et al.* (2009) utilizaron sistemas con bioflóculos microbianos suspendidos para cultivar camarón rosa *F. paulensis*, alimentados con diferentes niveles de proteína (25, 30, 35, 40 y 45 %) en la dieta. Los resultados mostraron que no hubo diferencias en la sobrevivencia (Figura 1) y que el crecimiento fue igualmente bueno para organismos alimentados con 35, 40 o 45 % de proteína (Figura 2). También la calidad del agua se mantuvo adecuada en los sistemas con bioflóculos, a pesar de la alta densidad de organismos y pese a los altos niveles proteicos.

Krupesha Sharma *et al.*, (2011), desarrollaron una biopelícula de *Vibrio alginoliticus*, para inmunoestimulación oral de *P. monodon* utilizando hojuelas de quitina como sustrato y tripticasa de soya (TSB) como nutriente. Los resultados preliminares mostraron que la respuesta inmune del camarón fue mejor cuando utilizaron células inactivadas procedentes de la biopelícula, que cuando utilizaron células libres de la bacteria, tanto en términos de hemocitos totales (Figura 3a) como de actividad de fenoloxidasa (Figura 3b).

Emerenciano *et al.*, (2011) evaluaron en Brasil el efecto del sistema BFT en la sobrevivencia, crecimiento y resistencia a la salinidad de postlarvas de *F. paulensis*. Probaron un sistema con bioflóculos y alimento suplementario (B+A), uno con solo bioflóculos (B) y uno con solo alimento suplementario (A). Encontraron que la sobrevivencia y biomasa final fueron igualmente buenos en el sistema B+A y en el sistema B; ambos superiores al sistema A. El crecimiento sin embargo, fue significativamente mejor en B+A (Tabla 2). No se observaron diferencias respecto a la tolerancia a la salinidad (CL₅₀), ni a 24 ni a 48 horas. La composición de los bioflóculos presentó niveles de proteína de 30.4 % pero los niveles de lípidos fueron relativamente bajos.



Figura 1. Sobrevivencia de *F. paulensis* alimentado con bioflóculos y diferentes porcentajes de proteína cruda en la dieta. Los tratamientos consistieron en: 25% (barra 1), 30% (2), 35% (3), 40% (4) y 45% (5) de proteína cruda. (Ballester *et al.*, 2011)

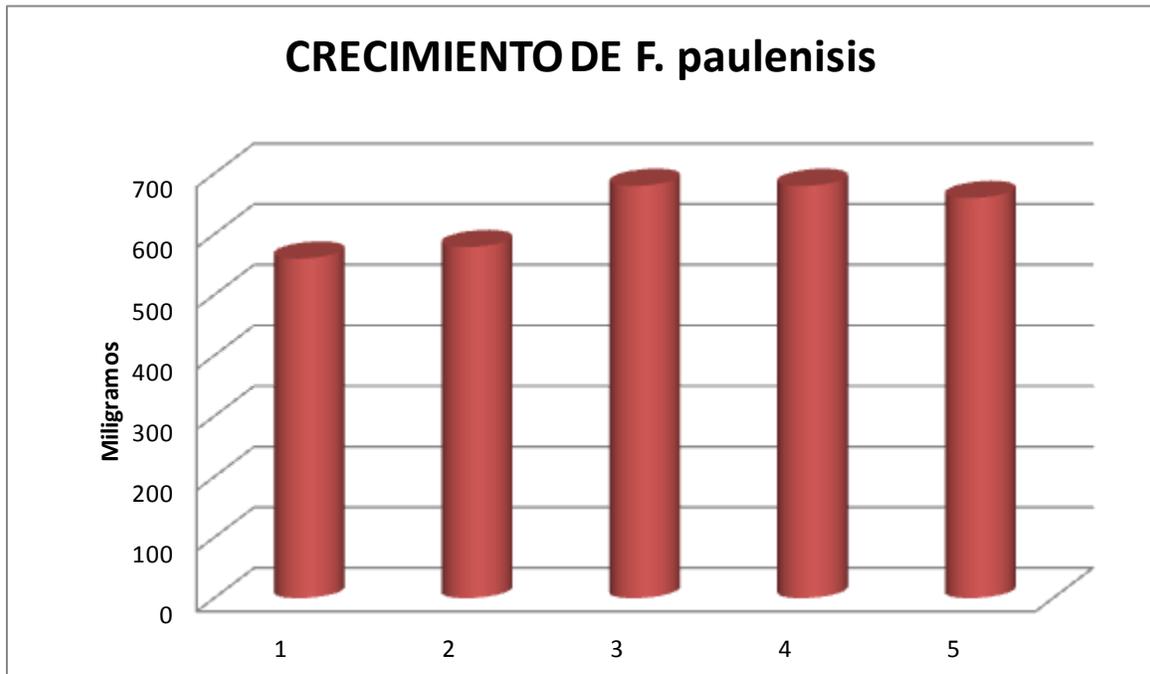


Figura 2. Crecimiento de *F. paulensis* alimentado con bioflóculos y diferentes porcentajes de proteína cruda en la dieta. Los tratamientos consistieron en: 25% (barra 1), 30% (2), 35% (3), 40% (4) y 45% (5) de proteína cruda. (Ballester *et al.*, 2011).

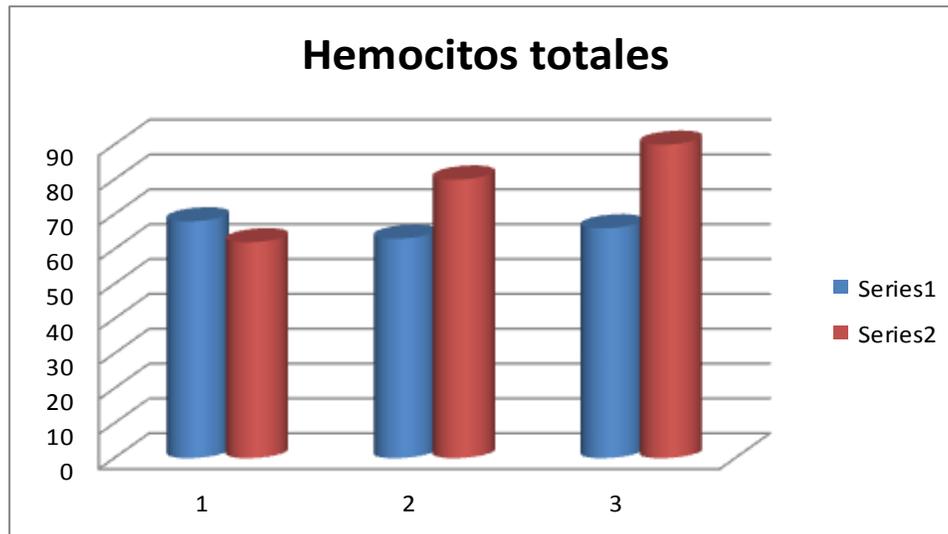


Figura 3a. Respuesta inmune (número de hemocitos totales) de *P. monodon* alimentado con células libres (2) y células inmovilizadas procedentes de una biopelícula (3), de *Vibrio alginoliticus*, en comparación con un control (1)

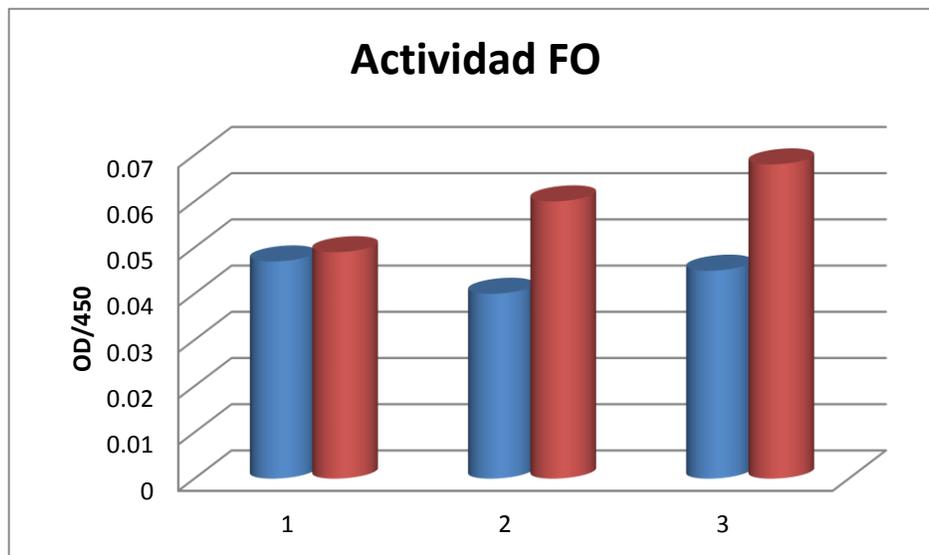


Figura 3b. Respuesta inmune (actividad de fenoloxidasa) de *P. monodon* alimentado con células libres (2) y células inmovilizadas procedentes de una biopelícula (3) de *Vibrio alginoliticus*, en comparación con un control (1)

Tabla 2 Promedios (\pm DE) de los parámetros de producción de *F. paulensis* alimentados con bioflóculos + alimento suplementario (B+A), solo bioflóculos (B) y solo alimento suplementario (A).

	B+A	B	A
Talla final (mm)	11.96 \pm 0.16a	10.83b \pm 0.21b	9.78 \pm 0.12c
Peso final (mg)	6.80 \pm 0.39a	4.94 \pm 0.33b	3.57 \pm 0.18c
Ganancia en peso (mg)	5.40 \pm 0.39a	3.54 \pm 0.33b	2.17 \pm 0.18c
Sobrevivencia (%)	47.75 \pm 3.53a	25.75 \pm 4.13ab	17.58 \pm 1.62b
Biomasa final (mg)	1,266.7 \pm 29.8a	491.4 \pm 11.8ab	248.1 \pm 20.9b

Khun *et al.* (2010), evaluaron la inclusión dietaria para *L. vannamei*, de bioflóculos obtenidos por dos procesos diferentes: reactores secuenciales en serie (SBR) y reactores con membranas biológicas (MBR); ellos utilizaron como fuente de nutrientes los efluentes de una granja de peces. El desempeño productivo de los camarones no se vio comprometido en los niveles de inclusión del bioflóculo del 10 al 30 %, independientemente si sustituyó a la proteína de soya (0 a 100 %) o a la harina de pescado (0 a 67 %). La sobrevivencia no presentó diferencias significativas entre las dietas y fue siempre superior al 92 %. Tampoco se observaron diferencias en la biomasa final. El crecimiento fue en promedio 10 % mayor en las dietas con bioflóculos.

Experiencias en el país

Audelo-Naranjo *et al.*, (2010) evaluaron sustratos artificiales para la formación de biopelículas a nivel de mesocosmos, en el cultivo intensivo de *L. vannamei* a dos densidades (200 y 270 organismos·m⁻²). Los resultados mostraron que para ambas densidades, el crecimiento fue significativamente mejor en los tratamientos en que se usaron los sustratos comparados con sus respectivos controles (Figura 4). Igualmente, la sobrevivencia (Figura 5), biomasa final (Figura 6), factor de conversión alimenticia, FCA

(Figura 7) y factor de conversión económica (Figura 8), fueron mejores en los tratamientos con sustrato que en los controles.

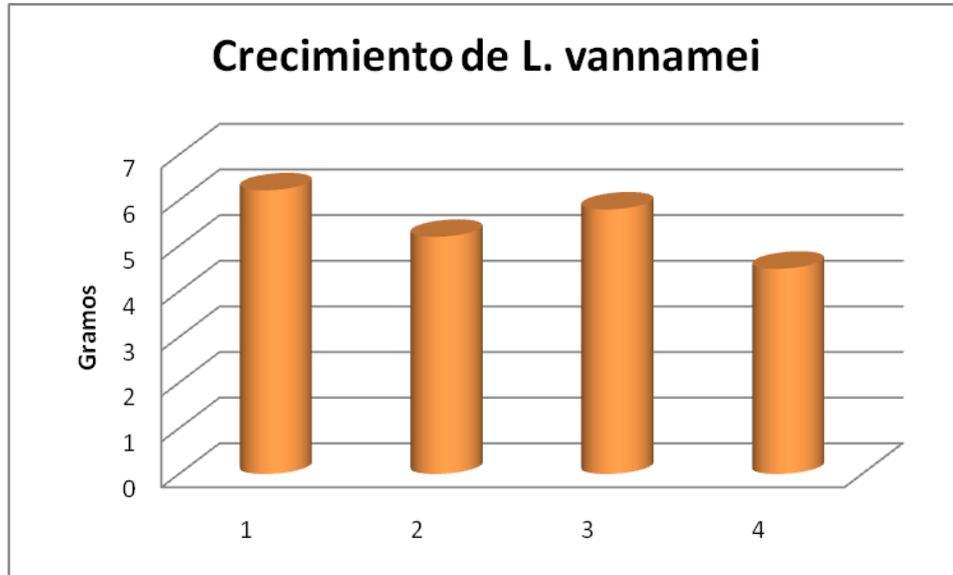


Figura 4. Crecimiento de *L. vannamei* con biopelículas a 200 org/m² (1) y 270 org/m² (3) y sin biopelículas a 200 org/m² (2) y 270 org/m² (4).

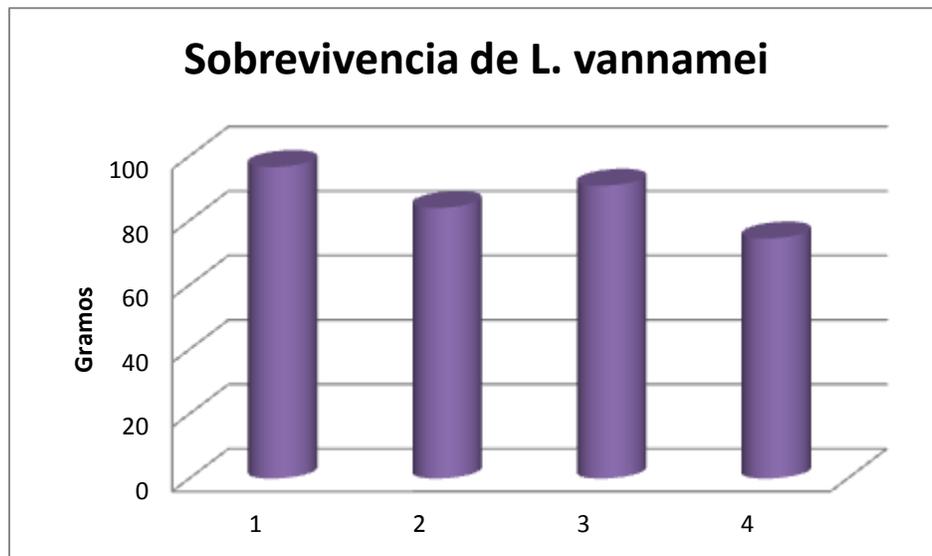


Figura 5. Sobrevivencia de *L. vannamei* con biopelículas a 200 org/m² (1) y 270 org/m² (3) y sin biopelículas a 200 org/m² (2) y 270 org/m² (4).

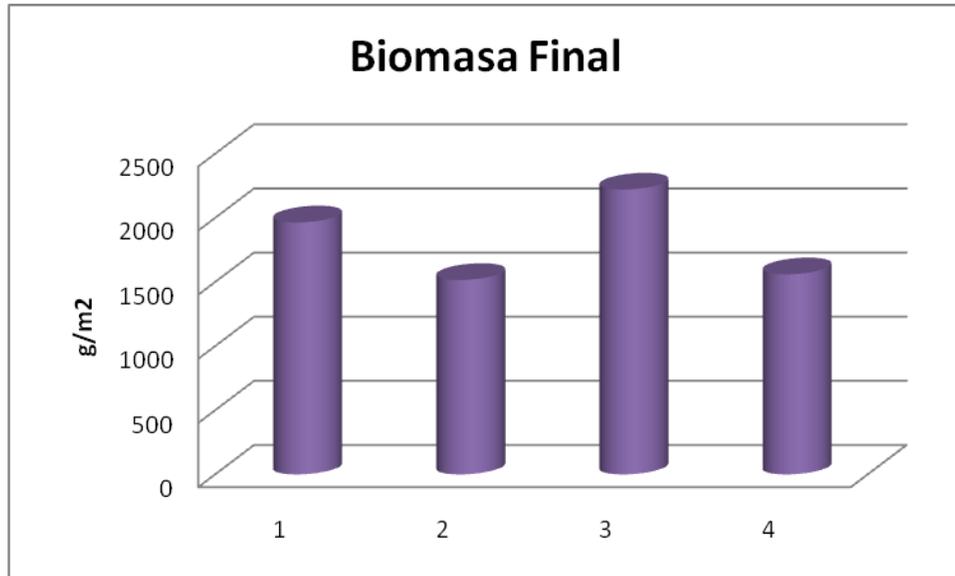


Figura 6. Biomasa de *L. vannamei* con biopelículas a 200 org/m² (1) y 270 org/m² (3) y sin biopelículas a 200 org/m² (2) y 270 org/m² (4).

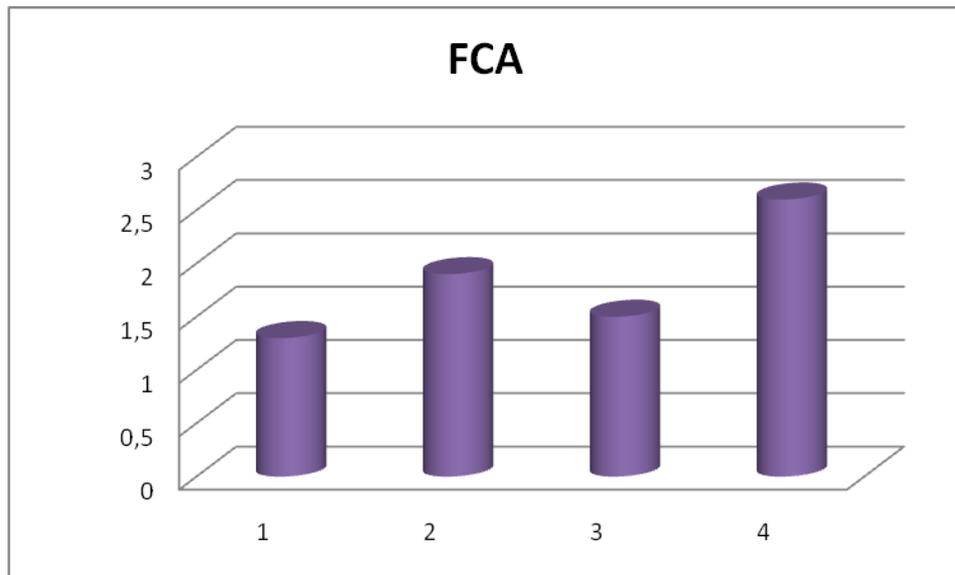


Figura 7. Factor de conversión alimenticia de *L. vannamei* con biopelículas a 200 org/m² (1) y 270 org/m² (3) y sin biopelículas a 200 org/m² (2) y 270 org/m² (4).

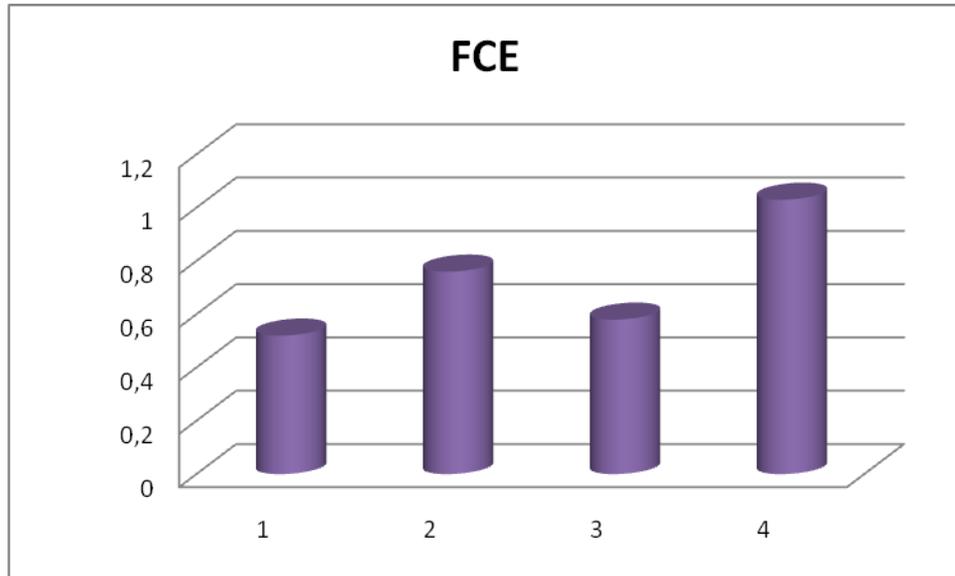


Figura 8. Factor de conversión económica de *L. vannamei* con biopelículas a 200 org/m² (1) y 270 org/m² (3) y sin biopelículas a 200 org/m² (2) y 270 org/m² (4).

Experiencias Institucionales

Becerra Dórame *et al.*, (2011a y 2011b), llevaron a cabo la maternización y preengorda de *L. vannamei* en sistemas basados en la promoción de microorganismos en biopelículas y bioflóculos, tanto en sistemas autotróficos como heterotróficos. Para la maternización no se observaron diferencias en biomasa final y FCA y el crecimiento fue mejor en el tratamiento control (Tabla 3); sin embargo, la sobrevivencia fue mejor en el sistema autotrófico en comparación con el control y el heterotrófico, los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí (Figura 9).

Para la preengorda, los resultados mostraron nuevamente que el crecimiento fue mejor en el control; sin embargo, la sobrevivencia y la biomasa final fueron mejores en el sistema autotrófico, seguido del heterotrófico y por último el control (Tabla 4 y Figura 10).

Tanto en la maternización como en la preengorda los FCA fueron muy bajos en todos los tratamientos, con promedios de 0.67 en la maternización y 0.56 en la preengorda. Esto, aunado a que no se utilizó Artemia, sugiere un beneficio económico considerable.

Tabla 3. Promedios \pm DE de los parámetros de producción durante la maternización de *Litopenaeus vannamei* in sistemas autotróficos (A-T), heterotróficos (H-T) y el control (C).

PI (peso inicial); PF (peso final); GP (ganancia en peso); FCA (factor de conversión alimenticia); TCE (tasa de crecimiento específica)

	PI (mg)	PF (mg)	GP(mg)	BF ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)	FCR	TCE (%)
C	15 \pm 2 ^a	96 \pm 6 ^a	81 \pm 2 ^a	547.5 \pm 73.3 ^a	0.67 \pm 0.1 ^a	6.79 \pm 0.6 ^a
A-T	15 \pm 1 ^a	72 \pm 11 ^b	57 \pm 10 ^b	484.5 \pm 52.2 ^a	0.69 \pm 0.1 ^a	5.59 \pm 1.0 ^b
H-T	16 \pm 2 ^a	93 \pm 6 ^a	77 \pm 8 ^a	504.0 \pm 56.6 ^a	0.65 \pm 0.0 ^a	6.22 \pm 0.6 ^b

Tabla 4. Promedio \pm DE de los parámetros de producción durante la preengorda de *Litopenaeus vannamei* en el control (C), sistema autotrófico (A), y sistema heterotrófico (H). PI (peso inicial); PF (peso final); GP (ganancia en peso); FCA (factor de conversión alimenticia); TCE (tasa de crecimiento específica)

	PI (g)	PF (g)	GP (g)	BF (g/m ³)	FCR	TCE (%)
C	0.24 \pm 0.05 ^a	1.82 \pm 0.8 ^a	1.58 \pm 0.7 ^a	480.5 \pm 69 ^a	0.58 \pm 0.1 ^a	5.92 \pm 1.4 ^a
A	0.27 \pm 0.06 ^a	1.137 \pm 0.6 ^b	0.87 \pm 0.5 ^b	617.0 \pm 108 ^b	0.54 \pm 0.0 ^a	4.21 \pm 0.9 ^b
H	0.198 \pm 0.1 ^b	1.214 \pm 0.7 ^b	1.015 \pm 0.6 ^b	536.9 \pm 40 ^b	0.55 \pm 0.1 ^a	5.69 \pm 0.3 ^a

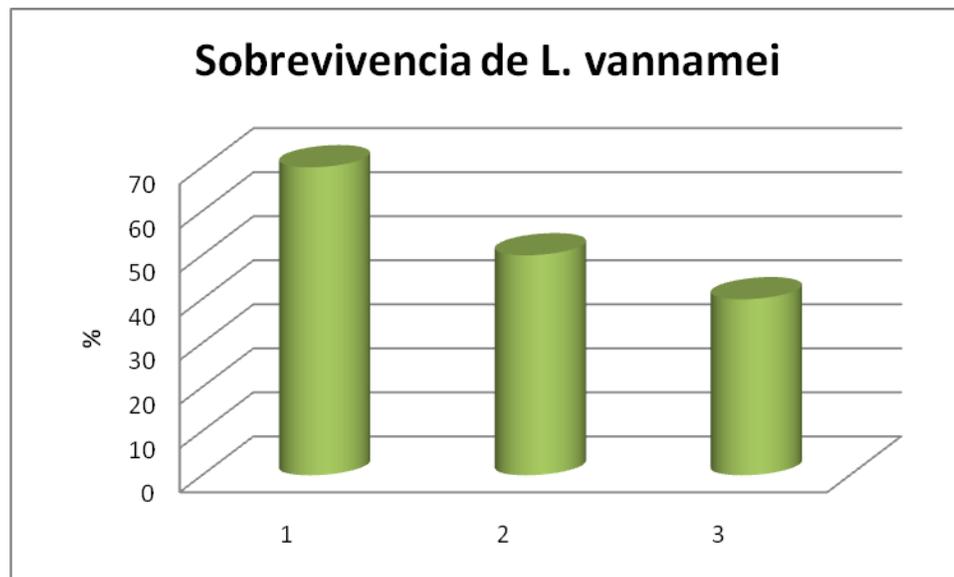


Figura 9. Sobrevivencia en la maternización de *L. vannamei* con bioflóculos y biopelículas en sistemas autotróficos (1), heterotróficos (2) y control (3).

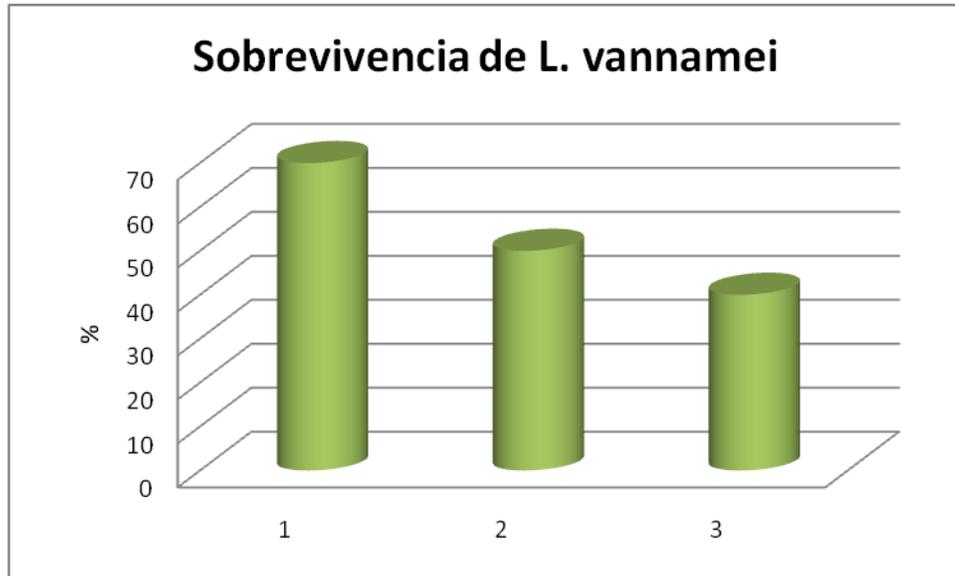


Figura 10. Sobrevivencia en la preengorda de *L. vannamei* con bioflóculos y biopelículas en sistemas autotróficos (1), heterotróficos (2) y control (3).

Se llevó a cabo un análisis del contenido de proteínas y lípidos en los bioflóculos en los sistemas autotrófico, heterotrófico y control (paredes de las tinas). Los resultados presentados en la Tabla 5, mostraron que para la maternización los niveles de proteína más altos se obtuvieron en el control y sistema heterotrófico; mientras que los lípidos presentaron valores más altos en el sistema heterotrófico. Para la preengorda, los niveles de proteína fueron significativamente más altos en el sistema heterotrófico, seguido del control, mientras que los lípidos observaron valores más elevados en el control.

Tabla 5. Contenido de Proteína, Lípidos y Peso seco durante la maternización y pre-engorda intensiva del camarón blanco *L. vannamei*.

Maternización		
	Proteína %	Lípidos %
Control	26.0 ± 7.9	14.03± 1.07
Autotrófico	14.8± 2.1	6.13± 0.41
Heterotrófico	22.9 ± 3.9	17.52± 4.45
Pre-engorda		
	Proteína %	Lípidos %
Control	28.0± 6.1	21.07± 7.09
Autotrófico	22.1± 6.0	6.94± 0.61
Heterotrófico	33.0± 7.1	9.14± 0.51

Se analizó también la actividad enzimática digestiva de los camarones cultivados en cada uno de los sistemas. Los resultados (Tabla 6) no presentaron diferencias significativas en cuanto a actividad de tripsina, amilasa y lipasas, aunque en el sistema heterotrófico fueron ligeramente superiores.

Tabla 6. Actividad enzimática digestiva de los diferentes tratamientos en la pre-engorda intensiva de *Litopenaeus vannamei*.

	Tripsina	Amilasa	Lipasa
Tratamiento	Abs/min/mg de Proteína	Abs/min/mg de Proteína	Abs/min/mg de Proteína
Autotrófico	0.24 ± 0.04 ^a	0.21 ± 0.02 ^a	0.003 ± 0.001 ^a
Control	0.25 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.05 ^a	0.003 ± 0.001 ^a
Heterótrofo	0.28 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.05 ^b	0.002 ± 0.001 ^a

Actualmente se está desarrollando una investigación para evaluar sustratos sintéticos inorgánicos (malla nylon) y naturales orgánicos (malla a base de hilo de origen vegetal) para la formación de biopelículas en un sistema semi-intensivo alto (25 organismos/m²) de cultivo de camarón en estanques de tierra. Los resultados preliminares muestran una tendencia a un crecimiento similar, pero una mayor sobrevivencia y biomasa, así como un menor FCA en los sistemas con sustratos tanto sintéticos como naturales, en comparación con el control.

Conclusiones

La revisión bibliográfica llevada a cabo, así como las experiencias nacionales e institucionales, permiten proponer las siguientes conclusiones:

- a. La utilización de microorganismos en el cultivo de organismos acuáticos y particularmente camarones, ha arrojado resultados positivos, tanto en la respuesta productiva, como en el mejoramiento de la calidad del agua del sistema y de los efluentes.

- b. Tanto los bioflóculos como las biopelículas contribuyen significativamente en este propósito y adicionalmente tienen un efecto positivo en la condición nutricional e inmune de los organismos cultivados.
- c. Hay aún mucho por investigar en este campo, especialmente en aspectos relacionados con la dinámica de la formación, estabilidad y composición de biopelículas y bioflóculos; en las estrategias para su manejo y en el efecto real sobre los organismos cultivados.
- d. Con los conocimientos que hasta ahora se tienen, es posible comenzar a aplicar el uso de bioflóculos y biopelículas a nivel comercial en México. Sin embargo, esto también requiere de una inversión considerable para realizar modificaciones a la infraestructura de las granjas.

Literatura citada

- Audelo-Naranjo, J.M., Martínez-Córdova, L.R., Voltolina, D., Gomez-Jimenez, S. 2010. Water quality, production parameters and nutritional condition of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) grown intensively in zero water exchange mesocosms with artificial substrates. *Aquaculture Research*. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02725.x.
- Audelo-Naranjo, J.M., Martínez-Córdova, L.R., Voltolina, D. 2010. Nitrogen budget in intensive cultures of *Litopenaeus vannamei* in mesocosms, with zero water exchange and artificial substrates. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 45:519-524.
- Avnimelech, Y. 2006. Biofilters: the need for a new comprehensive approach. *Aquaculture Engineering*, 34:172-178.
- Ballester, E.L.C., Abreu, P.C., Cavalli, R.O., Emerciano, M., Abrew, L., Wasielesky, W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in zero water Exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition*. 16:163-172.
- Bianchi, M., Berdier, E., Bianchi, A., Domenach, A.M., Marty, D. 1990. Use of ¹⁵N labelled food pellets to estimate the consumption of heterotrophic microbial communities to penaeid prawns diet in closed-system aquaculture. In: R. Lesel (ed.). *Microbiology in Poecilotherms*, Elsevier Science Publishers, B. V. (Biomedical Division), Amsterdam, The Netherlands.
- Becerra-Dórame, M.J., Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M., López-Elías, J.A. 2011. Evaluation of autotrophic and heterotrophic microcosm-based systems on the production response of *Litopenaeus vannamei* intensively nursed without *Artemia* and with zero water exchange. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 63:1-7.
- Boyd, C.E. 2003. Guidelines for aquaculture effluent management at the farm level. *Aquaculture*, 226: 101:112.
- Boyd, C.E., Gautier, D. 2000. Effluent composition and water quality standards. *Global Aquaculture Advocate*, 3: 61-66
- Burford, M.A., Smith, D.M., Tarbrett, S.J., Coman, F.E., Thompson, P.J., Barllay, M.C., Toscas, P.J. 2004. The effect of dietary protein on the growth and survival of the shrimp *Penaeus monodon* in outdoor tanks. *Aquaculture Nutrition*. 10:15-23.
- Chaignon, V., Lartiges, B.S., El Samrani, A., Mustin, C., 2002. Evolution of size distribution and transfer of mineral particles between flocs in activated sludges: an insight into floc exchange dynamics. *Water Research*. 36:676-684.

- Crab, R., Chielens, B., Wille, M., Bossier, P., Verstraete, W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. *Aquaculture Research*. 41:559–567.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., Verstraete, W. 2008. The basis of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*. 277:125-137.
- Decamp, O., Conquest, L., Forster, I., Tacon, A.G.J. 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: role of eukaryotic microorganisms. In: LEE, C-S & P O'BRIEN (eds.) *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, Chap. 5:79-84.
- Defoirdt, T., Halet, D., Sorgeloos, P., Bossier, P., Verstraete, W., 2006. Short-chain fatty acids protect photobiotic *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Aquaculture*. 261: 804–808.
- Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van de Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., Verstraete, W., 2007. The bacterial storage compound poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environmental Microbiology*. 9:445–452.
- Emerenciano, M., Ballester, E.L.C., Cavalli, R.O., Wasielesky, W. 2011. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: growth performance, floc composition and salinity stress tolerance. *Aquaculture International*. DOI 10.1007/s10499-010-9408-6.
- Horowitz, A., Horowitz, S. 2001. Microorganismos e prácticas de alimentación en acuicultura. *Aquacultura de América Latina*. 1:37-39.
- Horowitz, S., Horowitz, A. 2002. Microbial intervention in Aquaculture. En: Lee CS, O'Brien P. (eds.). *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, Chap. 9:119-129.
- Krishna, C., Van Loosdrecht, M.C.M., 1999. Effect of temperature on storage polymers and settleability of activated sludge. *Water Research*. 33:2374–2382.
- Krupesha Sharma, S.R., Shankar, K.M., Sathyanarayana, M.L. Patil, R.R. Narayana Swamy, H.D., Rao, S. 2011. Development of biofilm of *Vibrio alginolyticus* for oral immunostimulation of shrimp. *Aquaculture International* 19:421–430.
- Kuhn, D.D., Lawrence, A.L., Boardman, G.D., Patnaik, S., Marsh, L., Flick, Jr., J.G. 2010 Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 303:28-33.
- Hennig, O.L., Andreatta, E.R. 1998. Effect of temperature in an intensive nursery system for *Penaeus paulensis* (Perez Farfante, 1967). *Aquaculture*. 164:167-172.
- Martínez, L., *et al.* 2011. Estado Actual del Uso de Biopelículas y Bioflóculos en el Cultivo de Camarón. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., Hernández-Hernández, L. (Eds), *Avances en Nutrición Acuicola XI - Memorias del Onceavo Simposio Internacional de Nutrición Acuicola*, 23-25 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-775-4. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 393-423.

- Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M., Cortés-Jacinto, E. 2009. Camaronicultura Mexicana y mundial: ¿Actividad sustentable o industria contaminante?. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 25:181-196.
- Martínez-Córdova, L.R., López-Elías, J.A., Leyva-Miranda, G., Armenta-Ayón, L. Martínez-Porchas, M. 2011. Bioremediation and reuse of shrimp aquaculture effluents to farm whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: a first approach. *Aquaculture Research*. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02730.x.
- Mikkelsen, L.H., Gotfredsen, A.K., Agerbaek, M.L., Nielsen, P.H., Keiding, K., 1996. Effects of colloidal stability on clarification and dewatering of activated sludge. *Water Science and Technology*. 34:449–457.
- Montoya, R., Velasco, M. 2001. El rol de las bacterias sobre estrategias nutricionales y manejo de sistemas de acuicultura. *Aquan. de Latin*. 1:18-20.
- Moriarty, D.J.W. 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*. 151:333-349.
- Moss, S.M. 2002. Dietary importance of microbes and detritus in Penaeid shrimp aquaculture. Pages 1-18. En: Lee CS, O'Bryen P (eds.). *Microbial Approaches to Aquatic Nutrition Within 52 Environmentally Sound Aquaculture Production Systems*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Porchas-Cornejo, M.A., Martínez-Córdova, L.R., Ramos-Trujillo, L., Hernandez-Lopez, J., Martínez-Porchas, M., Mendoza-Cano, F. 2010. Effect of promoted natural feed on the production, nutritional, and immunological parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) semi-intensively farmed. *Aquaculture Nutrition*. 17:e622-e628.
- Quadros-Seiffert, W., Martínez-Córdova, L. 2008. Productividad Natural. Capítulo I. En: Molina-Poveda, Villarreal-Colmenares (eds). *Estrategias de alimentación en la etapa de engorda del camarón*. CYTED. La Paz, B.C.S., Mexico. 5-30 pp.
- Ramesh, M.R., Shankar, K.M., Mohan, C.V., Varghese, T.J. 1999. Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. *Aquacultural Engineering*. 19:119-131.
- Salehizadeh, H., Van Loosdrecht, M.C.M., 2004. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnology Advances*. 22:261–279.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*. 32:379–401.
- Sherr, B.F., Sherr, E.B. 1984. Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flow in aquatic ecosystems. En: Klug MJ, Reddy CA (eds.). *Current Perspectives in Microbial Ecology*, Na. Soc. Microbiol. 412-423.

- Sherr, B.F., Sherr, E.B. 2000. Marine Microbes: an Overview, En: Kirchman D (ed.) Microbial Ecology of the Oceans. Wiley-Liss, New York, 13-46.
- Tacon, G.J., Metian, M. 2009. Fishing for Feed or Fishing for Food: Increasing Global Competition for Small Pelagic Forage Fish AMBIO. 38: 294-302.
- Thompson, F.L., Abreu, P.C., Cavalli, R. 1999. The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. Aquaculture. 174:139-153.
- Thompson, F.L., Abreu, P.C., Wasielesky, W.Jr. 2002. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. Aquaculture. 203:263-278.
- Wasielesky, W. Jr, Atwood, H., Atokes, A., Browdy, C.L. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 258:396- 403.
- Whal, M. 1989. Marine epibiosis I. Fouling and antifouling; some basic aspects. Marine Ecology Progress Series. 58:175-189.
- Wilén, B.M., Balmer, P., 1999. The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. Water Research. 33:391–400.
- Wilén, B.M., Nielsen, J.L., Keiding, K., Nielsen, P.H., 2000. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs. Colloid Surfaces. 18:145-156.
- Wyban, J.A., Sweeney, J.N. 1991. Intensive shrimp production technology. Oceanic Institute. Shrimp manual. Honolulu, Hawaii, USA.