

Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia

Microbiology community composition and abundance associated to biofloc in tilapia aquaculture

María del C. Monroy-Dosta¹, Ramón De Lara-Andrade¹, Jorge Castro-Mejía¹,
Germán Castro-Mejía¹ y Mauricio G. Coelho-Emerenciano²

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento El Hombre y su Ambiente, Calzada del Hueso No. 1100, Col. Villa Quietud, 04960 México DF, México. monroydosta@hotmail.com

²Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Centro de Educação Superior da Região Sul, CERES, Rua Cel. Fernandes Martins No. 270, Progresso, CEP 88.790-000, Laguna, Santa Catarina, Brasil

Abstract. The goal of this study was to identify and estimate the abundance of microorganisms associated to biofloc culture system, developed from a 'macrocosm-microcosm' system type. In first section (cylinder 1000 L), 75 juveniles tilapias were inoculated with 5.0 ± 0.95 cm mean length and 4.2 ± 1.08 g mean weight were placed. Daily, the fishes were fed with commercial diet, maintaining a C/N = 15:1 ratio, carbon (molasses and rice dust) and nitrogen (from commercial feed) supply was controlled. This culture condition was maintained during 14 weeks. Several microorganisms associated to the flocs were identified using conventional microbiological tests. To estimate the abundance of organisms associated to flocs, a stereoscopic and optical microscopes were used. Both microscopes were connected to an interphase program for images counting (Image ProPlus v.7.0). The results shown changes in abundance of different microorganisms communities associated to flocs during 14 weeks of experiment. The main groups found in flocs were: bacteria, algae, ciliates, rotifers and nematodes. The results confirm that the bioflocs contributes significantly as *in situ* natural food source, because a great number of organisms may be associated to them including heterotrophic microbial communities like genus *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nitrospira*, *Nitrobacter* and yeast *Rhodotorula* sp. The literature show that these microorganisms favoring water quality and physiological good health at organisms in culture.

Key words: Bacteria, ciliates, flocs, nematodes, rotifers

Resumen. El objetivo de este trabajo fue identificar y estimar la abundancia de microorganismos asociados a un sistema de cultivo biofloc desarrollado a partir de un sistema del tipo 'macrocosmo-microcosmo'. En la primera sección (cilindro de 1000 L), se colocaron 75 tilapias con una longitud aproximada de $5,0 \pm 0,95$ cm y un peso promedio de $4,2 \pm 1,08$ g. Los peces fueron alimentados diariamente con una dieta comercial, manteniendo una relación C/N= 15:1, mediante el aporte controlado de carbono (melaza y pulido de arroz) y nitrógeno (proveniente del alimento comercial). Esta condición fue mantenida durante 14 semanas. Se identificaron los diversos microorganismos asociados a los flóculos, utilizando pruebas microbiológicas convencionales. Se determinó la abundancia de los organismos asociados a los flóculos utilizando microscopio óptico y estereoscópico, ambos conectados con el programa de imágenes y de conteo (Image ProPlus v.7.0). Los resultados obtenidos indican cambios en la abundancia de las diversas comunidades de organismos asociados a los flóculos durante las 14 semanas del experimento. Los principales grupos encontrados fueron: bacterias, microalgas, ciliados, rotíferos y nematodos. Los resultados confirman que los flóculos contribuyen como fuente de alimento natural *in situ*, debido a que gran cantidad de organismos pueden estar asociados incluyendo comunidades microbianas heterótrofas de los géneros *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nitrospira*, *Nitrobacter* y la levadura *Rhodotorula* sp. La bibliografía menciona que estos microorganismos favorecen la calidad del agua y el bienestar fisiológico de los organismos en cultivo.

Palabras clave: Bacterias, ciliados, flóculos, nematodos, rotíferos

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas dentro del sector acuícola, se han diseñado una serie de sistemas de producción para el cultivo de diversos organismos acuáticos, orientados a disminuir la utilización del agua y del espacio, aumentando considerablemente la densidad de cultivo (Timmons *et al.* 2002, Hargreaves 2006). Un ejemplo interesante de este tipo de sistemas, es el denominado biofloc, el cual consiste en el desarrollo de flóculos microbianos formados a partir de una alta relación carbono:nitrógeno en el agua, con poco o nulo recambio y alta oxigenación (Avnimelech 2012, Emerenciano *et al.* 2013), en los cuales se utilizan dietas con bajo contenido de proteína cruda (Azim & Litle 2008) o fuentes de carbono externo tales como melaza (caña de azúcar) salvado de arroz, salvado de trigo, entre otros (Emerenciano *et al.* 2012), lo que permite el crecimiento de una comunidad microbiana, sobretodo de bacterias heterótrofas, que metabolizan los carbohidratos y toman nitrógeno inorgánico (principalmente NH_4), reduciendo sus niveles y mejorando la calidad del agua (Crab *et al.* 2009).

Por otra parte, asociados a estos flóculos se han observado microalgas, zooplancton, coloides, polímeros orgánicos, cationes y células muertas que son consumidas por las especies cultivadas como fuente de proteína, por lo que los costos de alimentación se reducen en más del 25% (Avnimelech 2006, De Schryver *et al.* 2008, Ekasari *et al.* 2010). En relación a técnicas para la caracterización de los microorganismos en sistemas Biofloc, Ray *et al.* (2010), señalan 3 métodos: microscopia, epifluorescencia y cromatografía de gases. La técnica más utilizada es la visual mediante microscopia, la cual permite determinar los principales grupos de microorganismos en los flóculos (Newall *et al.* 2006). La identificación de los componentes microbianos vinculados a los flóculos se reporta, sobre

todo a nivel de grupo, sin llegar a género debido principalmente a la falta de precisión en la identificación. De acuerdo con Emerenciano *et al.* (2012) la calidad nutricional del biofloc puede variar substancialmente de 12 a 49 y 13 a 46% de proteína cruda y lípidos, respectivamente. La misma tendencia puede ocurrir con los niveles de PUFA y HUFA (Azim & Litle 2008, Ekasari *et al.* 2010), estas variaciones pueden ser resultado de una diferente relación C:N, intensidades de luz, salinidad y sobretodo, de la conformación de la microbiota.

Por lo anterior, es necesario realizar estudios que además de conocer la composición microbiana, permitan identificar los diversos grupos a lo largo del cultivo para determinar la diversidad de alimento vivo disponible para los peces y camarones, por lo que el objetivo de esta investigación fue identificar la comunidad microbiana en un cultivo biofloc y los cambios que se presentan en su composición a lo largo de un ciclo de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para llevar al cabo el experimento se diseñó un sistema del tipo 'macrocosmo-microcosmo' (Wasielisky *et al.* 2006, Emerenciano *et al.* 2011), que consistió de 2 secciones: la primera con un contenedor de fibra de vidrio circular de 1000 L de capacidad (macrocosmo), con un difusor de aire en el centro para garantizar el movimiento continuo y resuspensión de partículas; y la segunda sección formada por 5 tinas circulares de 250 L cada una (microcosmos) (Fig. 1), ambas unidades conectadas con un sistema de recirculación por medio de 2 bombas eléctricas de 1.0 HP.

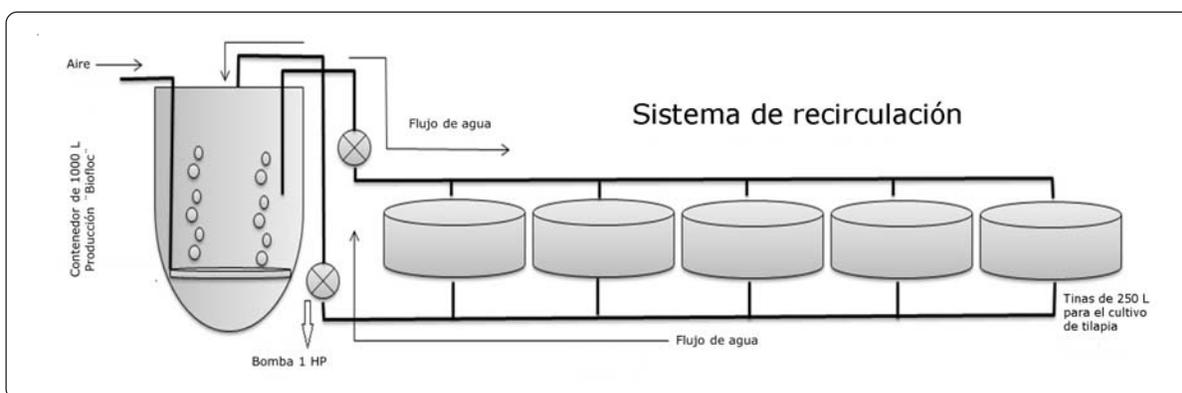


Figura 1. Sistema de recirculación utilizado en la producción de biofloc / Recirculation system used in the production of biofloc

CONFORMACIÓN DE BIOFLOC

En la primera sección (cilindro de 1000 L), se colocaron 75 tilapias con una longitud de $5,0 \pm 0,95$ cm y un peso promedio de $4,2 \pm 1,08$ g, a las cuales se les proporcionó diariamente un alimento comercial formulado para la especie (Alimentos del Pedregal®) con 45% de proteína y un tamaño de 0,6-0,8 mm (migaja 1), suministrando el 10% de su masa corporal y ajustando la cantidad cada 15 días.

Para garantizar un crecimiento bacteriano adecuado, se mantuvo una relación C/N= 15:1 (Avnimelech 2012), mediante el aporte controlado de carbono (melaza y pulido de arroz) y nitrógeno proveniente del alimento comercial. Esta condición fue mantenida durante 14 semanas.

MONITOREO DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS

AISLAMIENTO BACTERIANO

Para realizar el conteo y caracterización de las comunidades bacterianas se utilizó el método propuesto por APHA (1992). A partir de la formación de los pequeños flóculos en el sistema, cada semana se tomaron muestras de 2 g que se inocularon en 90 mL de solución salina estéril y se efectuaron diluciones 1:10, de las cuales se sembró 0,1 mL en placas de agar MSR (Man-Rogosa Sharpe), BHI (Infusión Cerebro-Corazón), TCBS (Tiosulfato-Citrato-Sales Biliares) y TSA (Tripticasa-soja), por triplicado. Las placas se incubaron a 27°C durante 24 h. Transcurrido este periodo, se efectuó el conteo de las unidades formadoras de colonias/mL y se caracterizó la morfología colonial; posteriormente a través de resiembras sucesivas las cepas fueron purificadas. La tinción de Gram se utilizó para observar la morfología celular con ayuda de un microscopio óptico (ZSX50 Olympus®). Este procedimiento se llevó a cabo durante 14 semanas.

A las cepas aisladas se les efectuaron pruebas microbiológicas convencionales para su identificación como: catalasa, oxidasa, óxido fermentación, movilidad e indol (Bergey & Holt 1994). Finalmente, se confirmó la identificación de las cepas con el sistema API20E, API20NE, APICHL, API CHL 50 y el Programa Apiweb™ Biomerieux.

DIVERSIDAD DE LAS MICROALGAS Y MICROFAUNA ASOCIADA AL BIOFLOC

Para la observación y cuantificación microscópica de los organismos asociados a los flóculos microbianos, se tomaron muestras de agua cada semana. En el caso de las

microalgas se transfirió 1 mL de muestra a una cámara Sedgewick-Rafter (Azim & Little 2008), y se observó con un microscopio ZSX50 Olympus®, con objetivo de 100X conectado a un programa de imágenes; se procedió a contabilizar 4 campos escogidos al azar de la cámara de recuento.

Para la identificación de la microfauna (ciliados, rotíferos, nematodos) se tomaron 3 muestras de 10 mL de agua que se fijaron con formalina al 5%, las cuales se observaron y contabilizaron de manera directa. Los microscopios utilizados estaban conectados al programa de imágenes y de conteo (Image® Pro Plus 7.0). La identificación taxonómica de los grupos observados se efectuó a nivel de género con ayuda de literatura especializada (Aladro-Lubel 2009).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos indican variaciones entre las diversas comunidades de organismos que se encuentran asociados al biofloc, dentro de los principales grupos observados se encuentran: microalgas, ciliados, rotíferos, nematodos, bacterias y la levadura *Rhodotorula* sp. (Fig. 2, Tabla 1).

BACTERIAS Y LEVADURAS

En la tabla 2 se muestran las especies microbianas identificadas. A partir de la tercera semana, se identificaron habitantes comunes del ambiente acuático como son los géneros *Aeromonas* y *Vibrio* que después de la séptima semana no fueron detectados en el sistema. En la cuarta semana, se establecieron comunidades microbianas heterótrofas con alta capacidad de degradar materia orgánica, como bacterias de los géneros *Sphingomonas*, *Pseudomonas* y *Bacillus* y la levadura *Rhodotorula* sp. La bacteria filamentosa *Microthrix* sp. relacionada con la formación de flóculos se identificó en la quinta semana. Entre los grupos bacterianos que dominaron el sistema después de la sexta semana se encontraron bacterias encargadas de la transformación del nitrógeno en el ambiente acuático como *Nitrospira* sp. y *Nitrobacter* sp. y *Bacillus* sp.

MICROALGAS

A partir de la tercera semana se inició la colonización de microalgas en el sistema, aún cuando no se observó la formación de flóculos (Fig. 3). El primer grupo que apareció fue el de las clorofitas que permanecieron hasta la semana 14 del experimento. Sin embargo, son las diatomeas las

Tabla 1. Valor promedio (\pm DE) de los organismos encontrados en el biofloc durante 14 semanas de experimentación / Average value (\pm SD) of the organisms found in biofloc during 14 weeks of experimentation

Semana de experimentación	Microalgas	Ciliados	Rotíferos	Nematodos	Bacterias
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	43 \pm 7	13 \pm 2	28 \pm 4	0	620 \pm 65
4	115 \pm 10	23 \pm 3	35 \pm 5	25 \pm 2	4110 \pm 162
5	160 \pm 14	33 \pm 3	50 \pm 5	46 \pm 5	4650 \pm 150
6	283 \pm 24	39 \pm 3	54 \pm 1	102 \pm 10	5520 \pm 199
7	447 \pm 34	39 \pm 3	96 \pm 9	125 \pm 13	5600 \pm 273
8	513 \pm 37	38 \pm 3	91 \pm 10	90 \pm 9	5530 \pm 298
9	572 \pm 42	32 \pm 3	63 \pm 6	90 \pm 9	6910 \pm 411
10	527 \pm 46	29 \pm 2	46 \pm 6	96 \pm 10	6510 \pm 381
11	483 \pm 43	29 \pm 2	35 \pm 6	95 \pm 10	6810 \pm 372
12	517 \pm 46	29 \pm 3	41 \pm 7	89 \pm 9	6700 \pm 389
13	547 \pm 48	28 \pm 3	40 \pm 7	90 \pm 9	6970 \pm 400
14	493 \pm 43	29 \pm 3	39 \pm 7	90 \pm 9	6820 \pm 396

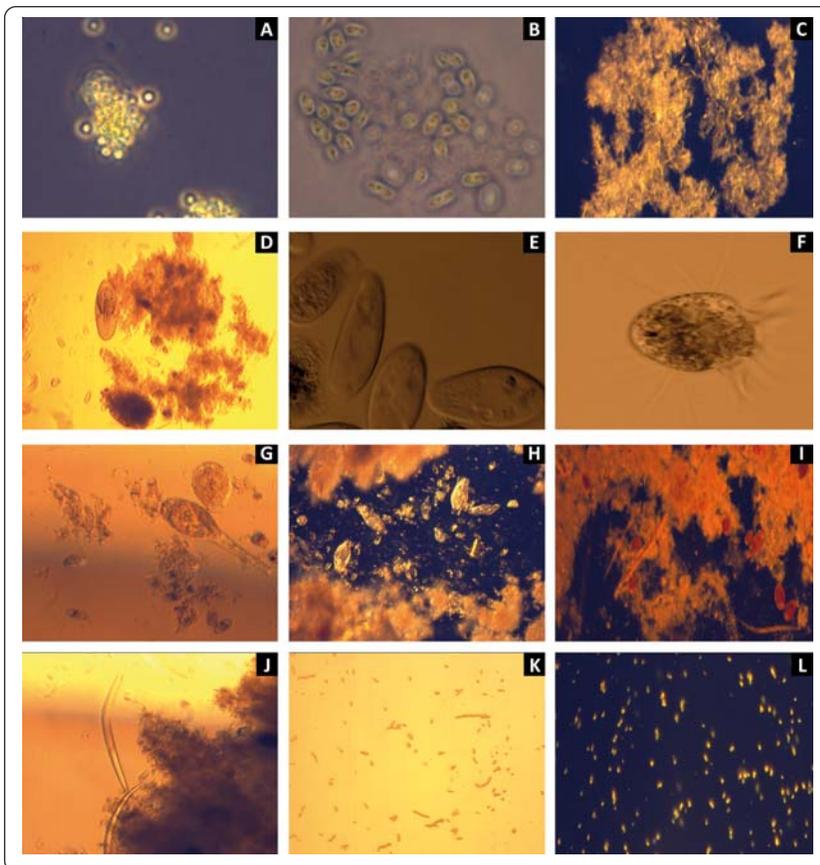


Figura 2. Composición de microorganismos observados en el biofloc. A) Algas clorofitas (40x); B) Cianobacterias (40x); C) Diatomeas (10x); D) Ciliado del género *Paramecium* (40x); E) Ciliado del género *Colpidium* (100x); F) Ciliado del género *Halteria* (100x); G) Rotíferos y ciliados (40x); H) Rotíferos del género *Philodina* (40x); I) Rotíferos y nematodos adheridos a los flóculos bacterianos (40x); J) Nematodos (40x); K) *Vibrio* sp. (40x); L) Levadura *Rhodotorula* sp. (40x) / Microorganisms composition observed at biofloc. A) Chlorophytes algae (40x); B) Cyanobacteria (40x); C) Diatoms (10x); D) Ciliate *Paramecium* genus (40x); E) Ciliate *Colpidium* genus (100x); F) Ciliate *Halteria* genus (100x); G) Rotifers and ciliates (40x); H) Rotifers *Philodina* genus (40x); I) Rotifers and nematodes attached to the bacterial flocs (40x); J) Nematodes (40x); K) *Vibrio* sp. (40x); L) Yeast *Rhodotorula* sp. (40x)

Tabla 2. Bacterias y levaduras identificadas en los flóculos durante 14 semanas de experimento / Bacteria and yeast identified in the flocs during 14 weeks of experiment

Microorganismos	Conteos ($\times 10^4$ cel mL ⁻¹)													
	Semana de experimentación													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Aeromonas hydrophila</i>	---	---	230	130	110	50	20	---	---	---	---	---	---	---
<i>Aeromonas salmonicida</i>	---	---	130	90	50	100	40	---	---	---	---	---	---	---
<i>Aeromonas sobria</i>	---	---	100	170	230	140	20	---	---	---	---	---	---	---
<i>Vibrio fluvialis</i>	---	---	80	90	150	230	10	---	---	---	---	---	---	---
<i>Vibrio vulnificus</i>	---	---	50	110	110	90	20	---	---	---	---	---	---	---
<i>Enterobacter sakazakii</i>	---	---	30	120	70	60	10	---	---	---	---	---	---	---
<i>Nitrospira</i> sp.	---	---	---	---	---	58	675	110	105	121	1005	98	115	103
<i>Bacillus subtilis</i>	---	---	---	450	360	340	470	650	860	800	780	650	560	670
<i>Bacillus</i> sp.	---	---	---	---	105	200	525	560	530	578	600	725	800	820
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	---	---	---	420	390	560	550	560	160	84	---	---	---	---
<i>Pseudomonas luteola</i>	---	---	---	380	420	460	580	650	750	450	560	650	780	450
<i>Pseudomonas mendocina</i>	---	---	---	270	340	450	230	170	340	300	320	350	300	300
<i>Microthrix</i> sp.	---	---	---	340	450	560	650	340	230	250	320	300	350	350
<i>Nitrobacter</i> sp.	---	---	---	20	150	190	250	380	540	500	650	250	450	450
<i>Micrococcus</i> sp.	---	---	---	---	410	520	480	350	490	450	400	380	400	400
<i>Alcaligenes</i> sp.	---	---	---	---	150	240	340	250	65	23	---	---	---	---
<i>Rhodotorula</i> sp.	---	---	---	---	34	65	780	750	1200	1080	1000	1050	1120	1090

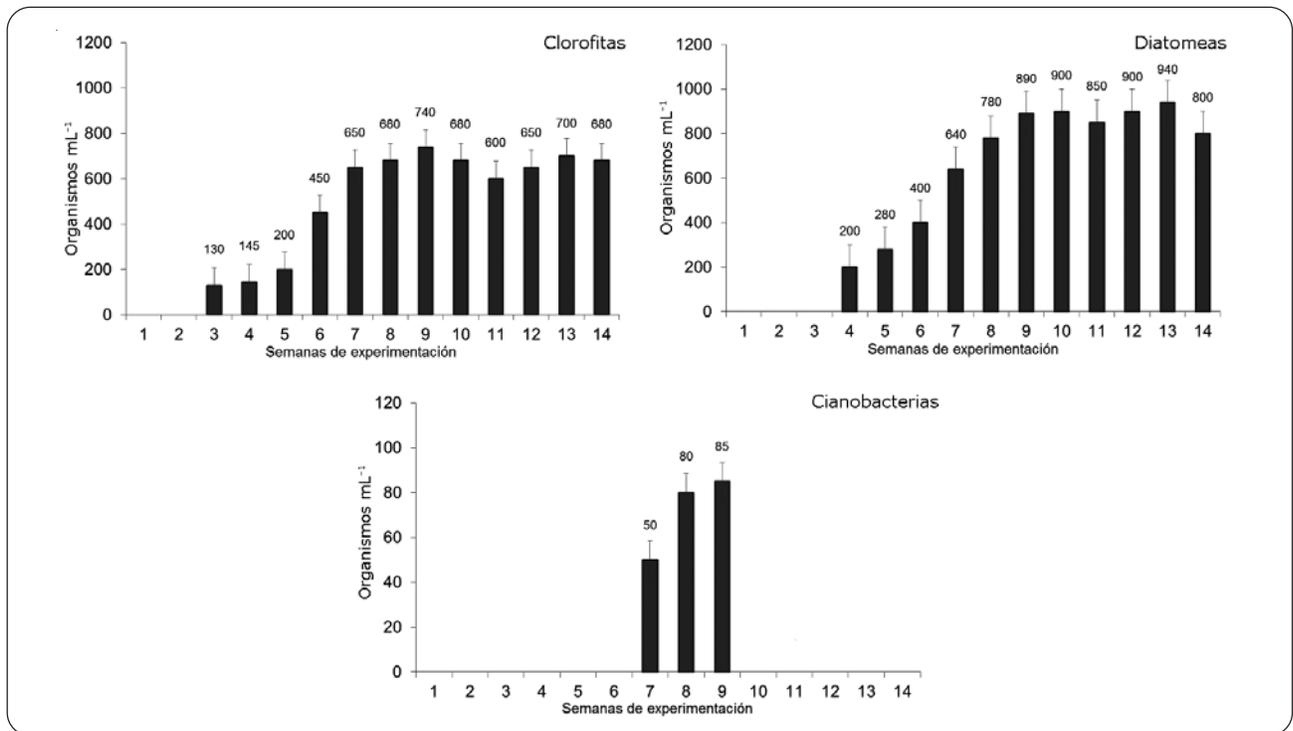


Figura 3. Abundancia de microalgas identificadas en el biofloc. Las barras corresponden a la desviación estándar / Abundance of microalgae identified in biofloc. Bars correspond to standard deviation

que mantienen conteos mayores a partir de la octava semana y hasta el final del experimento. Es importante señalar que las diatomeas siempre se observaron muy adheridas a los flóculos. Las cianobacterias sólo estuvieron presentes entre la séptima y novena semana con conteos inferiores a 80 cel mL⁻¹.

CILIADOS

En relación a los ciliados se observó que los géneros que aparecieron a partir de la tercera semana fueron *Paramecium*, *Colpidium* y *Stylonychia*, permaneciendo *Colpidium* hasta el final del experimento (14 semanas).

Los géneros *Vorticella*, *Epistylis* y *Halteria* sólo se mantienen de 5 a 10 semanas (Fig. 4).

ROTÍFEROS

Entre los rotíferos, el género *Philodina* fue el grupo dominante a lo largo del experimento, con conteos iniciales menores de 20 org. mL⁻¹ pero incrementándose de tal manera que para la sexta semana alcanzaron una población de casi 200 org. mL⁻¹ para después estabilizarse con conteos superiores a 115 org. mL⁻¹ (Fig. 5).

El género *Lecane* apareció a partir de la tercera semana (80 org. mL⁻¹), permaneciendo hasta la séptima (24 org. mL⁻¹), cuando el género *Keratella* se incrementa (45 org.

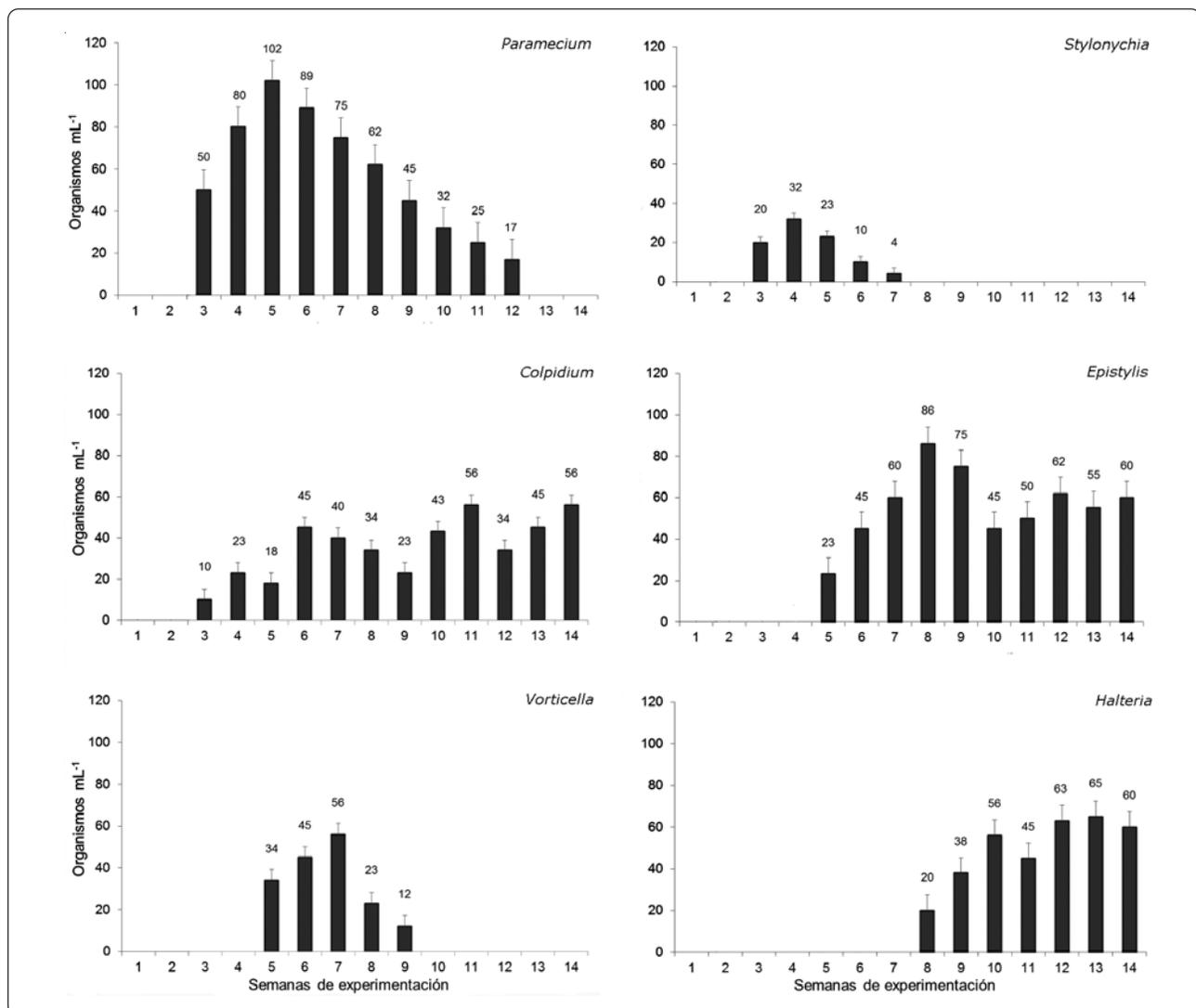


Figura 4. Grupos de ciliados observados en el biofloc. Las barras corresponden a la desviación estándar / Ciliates groups observed in biofloc. Bars correspond to standard deviation

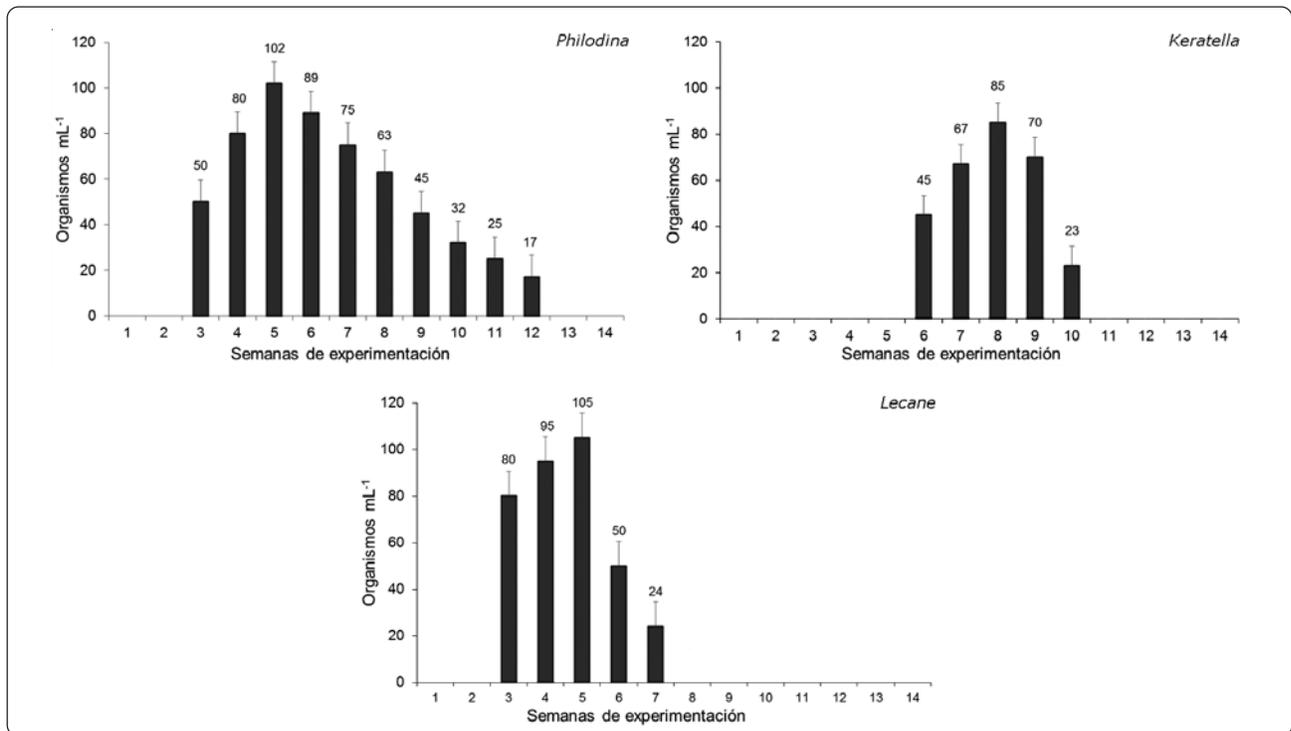


Figura 5. Abundancia de rotíferos identificados en el biofloc. Las barras corresponden a la desviación estándar / Abundance of rotifers identified in biofloc. Bars correspond to standard deviation

mL⁻¹), pero este último sólo se registró durante 5 semanas, con una concentración final de 23 org. mL⁻¹.

NEMATODOS

En la cuarta semana del experimento se observó la presencia de nematodos con una densidad de 25 org. mL⁻¹, justo cuando los flóculos alcanzaron aproximadamente 1 mm de diámetro. El pico máximo fue observado en la séptima semana (125 org. mL⁻¹), para estabilizarse en el sistema en las semanas posteriores (Fig. 6).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio indican variaciones entre las diversas comunidades de organismos que se encuentran asociadas al biofloc. En relación a la composición bacteriana adherida a los flóculos, los primeros géneros identificados fueron *Aeromonas* y *Vibrio* que son habitantes comunes de ambientes acuáticos y proliferan sobre todo si hay sobrecarga de materia orgánica (Austin *et al.* 1995, Fuentes & Pérez 1998). La problemática con estos géneros es que frecuentemente se muestran virulentos y causan

enfermedades en diversos organismos acuáticos (Álvarez & Austin 2000). Sin embargo, el incremento de microorganismos heterótrofos como *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas mendocina*, *Bacillus* sp. *Micrococcus* sp. y la levadura *Rhodotorula* sp., posiblemente impidieron la proliferación de los géneros *Aeromonas* y *Vibrio* de tal manera que no se encontraron después de la octava semana. Este comportamiento de disminución e inclusive desaparición, también lo señalan Wu *et al.* (2012), quienes mencionan que uno de los beneficios en el uso del biofloc es la capacidad de exclusión competitiva que tienen ciertas poblaciones bacterianas heterótrofas sobre bacterias patógenas.

La presencia de las bacterias degradadoras de nitrógeno como *Nitrospira* sp., *Nitrobacter* sp. y *Bacillus* sp., es benéfico, porque estos géneros están asociados a un mejor mantenimiento de la calidad del agua de cultivo Hargreaves (2006). Avnimelech *et al.* (1999, 2009) y Crab *et al.* (2012), señalan que estos grupos son dominantes en este tipo de sistemas, logrando un biocontrol efectivo sobre microorganismos patógenos.

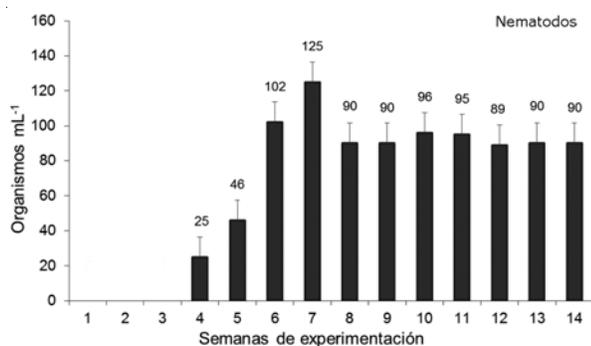


Figura 6. Dinámica del crecimiento de nematodos asociados al biofloc. Las barras corresponden a la desviación estándar / Growth dynamics of nematodes associated with biofloc. Bars correspond to standard deviation

En relación al género *Bacillus*, se tiene información que posee propiedades probióticas, ya que secretan una gran variedad de exoenzimas y polímeros que generan un ambiente hostil a bacterias, sobretodo patógenas (Hong *et al.* 2005, Ziaei-Nejad *et al.* 2006, Monroy *et al.* 2010). Entre los polímeros secretados, destaca el poli-β-hidroxibutirato (PHB), que es un exo-polisacárido con efecto probiótico similar a los ácidos orgánicos (Sinha *et al.* 2008) y puede representar hasta un 80% de la materia seca de células bacterianas y un 16% de la materia seca del biofloc (De Schryver *et al.* 2012). Este exo-polisacárido es sintetizado en mayor cantidad cuando la bacteria presenta condición de estrés fisiológico o nutricional (Sinha *et al.* 2008). Al lograr la exclusión de microorganismos dañinos, se logra un mayor bienestar a los organismos cultivados. Al parecer este comportamiento sucedió en el presente experimento, en donde el género *Bacillus* apareció en la cuarta semana y su efecto se manifestó en la octava semana cuando las bacterias patógenas fueron excluidas.

En el caso de las microalgas, se observó que aunque las clorofitas iniciaron la colonización del biofloc, fue el grupo de las diatomeas el que dominó después de la octava semana, mientras que las cianobacterias sólo fueron observadas de la sexta a la novena semana. Contrariamente, otros autores señalan que las clorofitas son las dominantes sobre las diatomeas en este tipo de sistemas (Ray *et al.* 2010). Estas diferencias pueden deberse a la cantidad y calidad de nutrientes contenidos en el medio y al consumo selectivo que tienen ciertas especies de ciliados y rotíferos que controlan a las poblaciones microalgales (Kuang *et al.* 2004). Maicá *et al.* (2012), observaron que en un sistema biofloc utilizado en cultivo de juveniles de *Litopenaeus vannamei*, se

presentaron mayores cantidades de clorofitas a salinidad de 2 g L⁻¹ y de diatomeas a 25 g L⁻¹. Así, Riquelme & Avendaño-Herrera (2003), mencionan la importancia de la relación microalga-bacteria como determinante de los grupos que se desarrollan en los ambientes acuáticos, de tal manera que el aumento de bacterias heterótrofas transformadoras de carbono, posibilitan un incremento de diatomeas en el sistema y restringe a otros grupos como las cianobacterias, tal como sucedió en esta investigación.

Los ciliados son considerados un rico alimento natural de peces y camarones (Castro *et al.* 2004). En este estudio los ciliados estuvieron representados por 6 géneros: *Paramecium*, *Stylonychia*, *Vorticella*, *Colpidium*, *Epistylis* y *Halteria*, en comparación con el trabajo de Loureiro *et al.* (2012), donde identificaron solamente 3 géneros: *Unorema*, *Litonotus* y *Euplotes* en el cultivo de camarón con sistema biofloc. Los autores señalan que los elementos que producen los flóculos tales como la fuente de carbono, el alimento balanceado, así como los peces acondicionados para el sistema, pueden tener una influencia directa sobre los grupos de organismos que se desarrollan. Ballester *et al.* (2010) observaron concentraciones mínimas y máximas de ciliados de 39 y 169 org. mL⁻¹, respectivamente, en cultivos de postlarvas de *Farfantepenaeus paulensis* en sistemas de biofloc durante 45 días. Maicá *et al.* (2012) observaron concentraciones promedio de ciliados de 164, 64 y 29 org. mL⁻¹ en aguas de salinidad 2, 4 y 25 g L⁻¹, respectivamente. En el presente estudio (14 semanas) realizado en agua dulce, se observaron valores mínimos y máximos de 10 y 102 org. mL⁻¹, respectivamente, observando que la salinidad y el tiempo de cultivo pueden afectar la concentración de ciliados en el agua.

Con respecto a los rotíferos, se observaron los primeros organismos a partir de la tercera semana, identificando los géneros *Lecane*, *Keratella* y *Philodina*, siendo éste último el que predominó después de la séptima semana. Loureiro *et al.* (2012), indican que los rotíferos frecuentemente están asociados al biofloc. Esto se debe a que los rotíferos pueden fragmentar los flóculos y consumir las bacterias adheridas, además que el mucílago producido por sus excreciones también ayuda a la formación de nuevos flóculos (Pérez 2010). Ballester *et al.* (2010), observaron concentraciones mínimas y máximas de rotíferos de 4,6 y 151 org. mL⁻¹, respectivamente, en agua marina (35 g L⁻¹). En el presente estudio, las concentraciones observadas fueron de 5 y 196 org. mL⁻¹, bastante similar a un ambiente marino.

Otro grupo importante dentro del biofloc son los nematodos, sobre todo por presentar altos contenidos de proteína cruda y ácidos grasos esenciales en su composición (De Lara 2005). Éstos se observaron a partir de la cuarta semana con valores promedio de 25 org. mL⁻¹, obteniendo un pico máximo a la séptima semana (125 org. mL⁻¹) para estabilizarse en el sistema en las semanas posteriores. Ray *et al.* (2010), mencionan que los nematodos son uno de los grupos más importantes en los sistemas biofloc y que su abundancia está determinada por la presencia de diversos ciliados (*e.g.*, *Paramecium* y *Colpidium*) que le sirven de alimento. Además, la tasa de consumo de los peces que se encuentran incluidos en el sistema puede igualmente intervenir en su concentración. Focken *et al.* (2006) y Loureiro *et al.* (2010) reportan la presencia de nematodos en el contenido estomacal de peces cultivados en el sistema biofloc y sugieren que son una rica fuente de alimento vivo *in situ* y disponible las 24 h.

Los resultados de esta investigación aportan avances en el conocimiento sobre la composición de diferentes bacterias y levaduras que se encuentran asociados al biofloc y que influyen en el mejoramiento de la calidad del agua y el bienestar de los organismos en cultivo, al identificarse grupos bacterianos señalados con anterioridad como probióticos. Además, la descripción de los cambios en las comunidades de microalgas, ciliados, rotíferos y nematodos a lo largo del periodo de experimentación, permite reconocer la contribución del biofloc como fuente de alimento natural *in situ*, que es tan importante en la dieta de peces como de crustáceos de importancia comercial sobretodo en estadios larvarios.

LITERATURA CITADA

- Aladro-Lubel M. 2009.** Manual de protozoarios, 123 pp. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México, México.
- Álvarez J & B Austin. 2000.** Especies de *Vibrio* y *Aeromonas* aisladas del intestino de camarones marinos sanos, silvestres y cultivados en Venezuela. *Veterinaria Tropical* 25(1): 5-27.
- APHA. 1992.** Standard methods for examination of water and waste-water, 1011 pp. American Public Health Association, Washington.
- Austin B, LF Stuckey, PAW Robertson, I Effendi & DRW Griffith. 1995.** A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *Journal of Fish Diseases* 18(1): 93-96.
- Avnimelech Y. 1999.** Carbon nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176(3-4): 227-235.
- Avnimelech Y. 2006.** Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34(3): 172-178.
- Avnimelech Y. 2009.** Biofloc technology: a practical guide book, 181 pp. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Avnimelech Y. 2012.** Biofloc technology -a practical guide book, 272 pp. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Azim ME & DC Little. 2008.** The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283(1-4): 29-35.
- Ballester ELC, PC Abreu, RO Cavalli, M Emerenciano, L Abreu & W Wasielesky. 2010.** Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquaculture Nutrition* 16: 163-172.
- Bergey D & JG Holt. 1994.** Bergey's manual of determinative bacteriology, 787 pp. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Castro MG, BT Castro & MJ Castro. 2004.** Protozoarios en: alimento vivo para organismos acuáticos, 129 pp. AGT Editor, México.
- Crab R, M Kochva, W Verstraete & Y Avnimelech. 2009.** Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquaculture Engineering* 40: 105-112.
- Crab R, T Defoirdt, B Peter & W Verstraete. 2012.** Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture* 356-357: 351-356.
- De Lara AR. 2005.** *Panagrellus redivivus* (Nematoda) cultivado en medio de avena enriquecido con *Spirulina* sp. para probar el crecimiento de la población y calidad nutritiva. Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 72 pp.
- De Schryver P, R Crab, T Defoirdt, N Boon & W Verstraete. 2008.** The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277: 125-137.
- De Schryver P, N Boon, W Verstraete & P Bossier. 2012.** The biology and biotechnology behind bioflocs. In: Avnimelech Y (ed). Biofloc technology - a practical guide book, pp. 199-215. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Ekasari J, R Crab & W Verstraete. 2010.** Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *Hayati Journal of Bioscience* 17: 125-130.
- Emerenciano M, ELC Ballester, RO Cavalli & W Wasielesky. 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* 19: 891-901.

- Emerenciano M, ELC Ballester, RO Cavalli & W Wasielesky. 2012.** Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research* 43: 447-457.
- Emerenciano M, G Gaxiola & G Cuzon. 2012.** Biofloc technology applied to shrimp broodstock. In: Avnimelech Y (ed). *Biofloc technology -a practical guide book*, pp. 217-230. The World Aquaculture Society, Baton Rouge.
- Emerenciano M, G Cuzon, M Arevalo & G Gaxiola. 2013.** Biofloc technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs. *Aquaculture Research* January 2013, <doi: 10.1111/are.12117>
- Focken U, C Schlechtriem, WM Von, OA García, CA Puello & K Becke. 2006.** *Panagrellus redivivus* mass produced on solid media as live food for *Litopenaeus vannamei* larvae. *Aquaculture Research* 37: 1429-1436.
- Fuentes RJM & HJA Pérez. 1998.** Isolation of *Aeromonas hydrophila* in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Veterinaria Mexico* 29: 117-119.
- Hargreaves JA. 2006.** Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquaculture Engineering* 34: 344-363.
- Hong HA, LH Duc & SM Cutting. 2005.** The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 813-835.
- Kuang Q, Y Bi, Y Xia & Z Hu. 2004.** Phytoplankton community and algal growth potential in Taipinghu reservoir, Anhui Province, China. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 9: 119-124.
- Loureiro KC, WJ Wilson & PC Abreu. 2012.** Utilização de protozoários, rotíferos e nematódeos como alimento vivo para camarões cultivados no sistema BFT. *Atlântica, Rio Grande* 34(1): 5-12.
- Maicá PF, MR Borba & W Wasielesky. 2012.** Effect of low salinity on microbial floc composition and performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles reared in a zero-water-exchange super-intensive system. *Aquaculture Research* 43: 361-370.
- Monroy DMC, BT Castro, PFJ Fernández & RL Mayorga. 2010.** Inhibition of *Aeromonas hydrophila* by probiotic strains isolated from the digestive tract of *Pterophyllum scalare*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 9(1): 37-42.
- Newall P, N Bate & LA Metzeling. 2006.** Comparison of diatom and macroinvertebrate classification of sites in the Kiewa River system. *Hydrobiologia* 572(1): 131-149.
- Pérez AJD. 2010.** Aplicación y evaluación de un reactor de contactores biológicos rotativos (RBC o biodiscos), a escala de laboratorio como tratamiento de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la Pradera. Tesis de Maestría Ingeniería Urbana, Facultad de Ingenierías, Universidad de Medellín, Medellín, 259 pp.
- Ray AJ, BL Lewis, CL Browdy & JW Leffler. 2010.** Suspended solids removal to improve shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production and an evaluation of a plant-based feed in minimal-exchange, superintensive culture systems. *Aquaculture* 299(1-4): 89-98.
- Riquelme C & H Avedaño. 2003.** Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y su potencial uso en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 725-736.
- Sinha AK, K Baruah & P Bossier. 2008.** Horizon scanning: the potential use of biofloc as an anti-infective strategy in aquaculture -an overview. *Aquaculture Health International* 13: 8-10.
- Timmons MB, JM Ebeling, FW Wheaton, ST Sommerfelt & BJ Vinci. 2002.** Microbial biofloc and protein levels in green tiger shrimp. *Recirculating aquaculture systems*, 748 pp. Caruga Aqua Ventures, New York.
- Wasielesky W, H Atwood, A Stokes & CL Browdy. 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.
- Wu L, C Peng, Y Peng, L Li, S Wang & Y Ma. 2012.** Effect of wastewater COD/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift. *Journal Environment Science* 24(2): 234-241.
- Ziaei-Nejad S, RM Habibi, TG Azari, DL Lovett, AR Mirvaghefi & M Shakouri. 2006.** The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzymes activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252: 516-524.

Recibido el 9 de abril de 2013 y aceptado el 3 de octubre de 2013

Editor: Claudia Bustos