



Reseña

## Efectos de *Bacillus* sp. como bacterias biofloculantes en el cultivo del camarón

### Effects of *Bacillus* sp. as Biofloculant-Producing Bacteria in Shrimp Culture

Yudelquis Aldana Calderón \*, Amílcar Arenal Cruz \*\*, Golnaz Naderkhani \*\*

\* Laboratorio de la Camaronera del Litoral Sur de Granma (Calisur), ECCAM, Cuba.

\*\*School of Veterinary Medicine, Saint Nicholas University, Morne Daniel, Roseau 00152, Dominica.

Correspondencia: [yudelquis.aldana1982@gmail.com](mailto:yudelquis.aldana1982@gmail.com)

Recibido: Octubre, 2023; Aceptado: Noviembre, 2023; Publicado: Noviembre, 2023.

## RESUMEN

**Antecedentes:** Dentro de las bacterias usadas como probiótico en acuicultura, el género *Bacillus* se encuentra entre las más estudiadas, además de la actividad biofloculante puede ofrecer otros beneficios como el reciclamiento de nitrógeno en el estanque de cultivo. **Objetivo.** Realizar una revisión sobre la aplicación de *Bacillus* en el cultivo del camarón, con énfasis en su efecto biofloculante en Sistemas Biofloc. **Desarrollo:** *Bacillus* sp. producen un amplio rango de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) y péptidos antimicrobianos contra una variedad de microorganismos y para mejorar la respuesta inmune de los animales cultivados, por lo que mejoran el crecimiento de los animales cultivados y para el control de enfermedades. El potencial biofloculante de especies de *Bacillus*, hacen de estas bacterias buenos candidatos para ser usadas como inóculo en sistemas Biofloc de *Penaeus vannamei*. **Conclusiones:** No obstante, se hace necesario el aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus* biofloculantes, así como, evaluar el efecto de los biofloculantes en el metabolismo y la respuesta inmune de *Penaeus vannamei*.

**Palabras clave:** bacteria, biofloculantes, camarón, cultivo, polímeros (*Fuente: MESH*)

## ABSTRACT

**Background:** Genus *Bacillus* is among the most widely studied bacteria used as probiotics in aquaculture. Besides its biofloculant activity, it can offer other benefits, such as nitrogen recycling in the culture pond. **Aim.** To review the application of *Bacillus* in shrimp culture, particularly due to its biofloculant effects on Biofloc systems. **Development:** *Bacillus* sp. produces a broad range of extracellular polymeric substances (EPS) and antimicrobial peptides against a variety of microorganisms, in addition to improving the immune response and growth of cultured animals and disease control. The biofloculant potential of *Bacillus* species makes

### Como citar (APA)

Aldana Calderón, Y., Arenal Cruz, A., & Naderkhani, G. (2023). Efectos de *Bacillus* sp. como bacterias biofloculantes en el cultivo del camarón. *Revista de Producción Animal*, 35(3). <https://rpa.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e4569>



©El (los) autor (es), Revista de Producción Animal 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), asumida por las colecciones de revistas científicas de acceso abierto, según lo recomendado por la Declaración de Budapest, la que puede consultarse en: Budapest Open Access Initiative's definition of Open Access.

these bacteria good candidates for use in *Penaeus vannamei* cultures in Bioflock systems. **Conclusions:** However, new bioflocculant *Bacillus* strains must be isolated and characterized, along with an evaluation of the bioflocculant effect on *Penaeus vannamei*'s metabolism and immune response.

**Keywords:** bacterium, bioflocculants, shrimp, culture, polymers (Source: MESH)

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento acelerado de la población trajo consigo el desarrollo de la acuicultura a escala mundial (Kasan *et al.*, 2017), y el camarón blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* es la especie de crustáceo más cultivada, nativo de la costa oeste del Pacífico de América Latina, e introducido desde 1996 en China y otros países de Asia (Wyban, 2019). La alta tolerancia a un amplio rango de salinidad, entre otros factores, hacen de esta especie un buen candidato para el cultivo. Sin embargo, altos niveles de las concentraciones de compuestos nitrogenados pueden afectar la salud de los animales cultivados e impactar negativamente sobre el crecimiento y la sobrevivencia (Valencia-Castañeda *et al.*, 2019).

Numerosos investigadores reportan la toxicidad del amonio sobre el camarón (Valencia-Castañeda *et al.*, 2018; Valencia-Castañeda *et al.*, 2019; Thi *et al.*, 2022), por lo que la conversión del amonio tóxico a la forma no tóxica de nitrógeno es una de las cuestiones más importantes en el manejo de calidad de agua en sistemas de cultivo intensivo (Ren *et al.*, 2019). El incremento de la comunidad microbiana puede mejorar la calidad del agua mediante remoción de compuestos de nitrógeno tóxicos, mientras que las proteínas microbianas pueden ser usadas como alimento (Reis *et al.*, 2019). Este es el fundamento de la tecnología Biofloc, ambientalmente amigable, que se basa en la producción *in situ* de microorganismos, donde los nutrientes pueden ser continuamente reciclados, y beneficiada por el mínimo o nulo recambio de agua (Gustavo *et al.*, 2017).

Afortunadamente, dentro de las bacterias usadas como probiótico en acuicultura, el género *Bacillus* se encuentra entre las más estudiadas, además de la actividad floculante puede ofrecer otros beneficios como el reciclamiento de nitrógeno en el estanque de cultivo (Harun *et al.*, 2018). No obstante, se hace necesario el aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus* biofloculantes que puedan ser usadas como inóculo en sistemas Biofloc de producción de *P. vannamei*. Así como, evaluar el efecto de los biofloculantes en el metabolismo y la respuesta inmune de *Penaeus vannamei*. El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión sobre la aplicación de *Bacillus* en el cultivo del camarón, haciendo énfasis en su efecto biofloculante en Sistemas Biofloc.

## DESARROLLO

La influencia de las comunidades bacterianas en la salud de los animales acuáticos es de crucial importancia. El intestino del camarón y su ambiente acuático son ecosistemas complejos donde

conviven diversas comunidades bacterianas, en los cuales algunos microorganismos son probióticos mientras que otros son patógenos (Zheng *et al.*, 2017).

Los microorganismos que forman el biofloc juegan tres roles principales en la tecnología Biofloc, mantenimiento de la calidad del agua mediante la utilización de compuestos nitrogenados, constituyen una fuente de alimento para los animales cultivados, y confieren propiedades probióticas y compiten con patógenos. Las bacterias heterótrofas (como *Bacillus* sp.) juegan un rol fundamental en los sistemas biofloc (Hosseini y Mohammadi, 2022).

### ***Género Bacillus, sus efectos en el cultivo de camarón***

Dentro de las bacterias usadas como probiótico en acuicultura, el género *Bacillus* se encuentra entre las más estudiadas, es usado para mejorar el crecimiento de los animales cultivados y para el control de enfermedades (Kewcharoen y Srisapoom, 2019; Nimrat *et al.*, 2020). Miembros del género *Bacillus* pertenecen al phylum Firmicutes, son clasificados como Gram-positivos y bacterias formadoras de esporas con estructura en forma de bastón (Abu Tawila *et al.*, 2018). Pueden ser aerobios o anaerobios facultativos. *Bacillus* sp. produce un amplio rango de sustancias extracelulares y péptidos antimicrobianos contra una variedad de microorganismos y para mejorar la respuesta inmune de los animales cultivados (Niu *et al.*, 2014).

Especies de *Bacillus* crecen eficientemente con fuentes de carbono y de nitrógeno de bajo costo. Han adquirido importancia comercial como productores de metabolitos secundarios como antibióticos, bioinsecticidas y enzimas. Las enzimas de *Bacillus* son muy eficientes para descomponer una gran variedad de carbohidratos, lípidos y proteínas en pequeñas unidades. Teniendo en cuenta estas características, *Bacillus* pueden ser considerados buenos candidatos como probióticos en la dieta del camarón, para mejorar la digestibilidad de los ingredientes de la dieta (Omont *et al.*, 2021).

En su estudio, Ochoa-Solano y Olmos-Soto (2006) reportaron la actividad proteasa,  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa de cepas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium*. Mientras que, Alsaman *et al.* (2022) reportaron la producción de la enzima quitinasa por *Bacillus salmalaya*. Los resultados de este estudio mostraron la capacidad de estas bacterias de producir gran cantidad de quitinasa en poco tiempo, por lo que podría degradar polisacáridos complejos presentes en los residuos orgánicos y contribuir a la conservación del medio ambiente (Alsaman *et al.*, 2022)

Varios investigadores describen el efecto de cepas de *Bacillus* en el mejoramiento de la respuesta inmune de los animales cultivados. El sistema inmune de crustáceos depende de la respuesta innata, y está constituido por la respuesta inmune celular y humoral. La respuesta celular involucra a los hemocitos que participan en reacciones como fagocitosis, apoptosis, nodulación y encapsulación. Mientras que la respuesta humoral depende de factores inmune tales como peroxidasa, lectinas, péptidos antimicrobianos, entre otros (Huang *et al.*, 2020).

En su estudio, Niu *et al.* (2014) reportaron el potencial probiótico de la cepa de *Bacillus* sp. LT3 en larvas de camarón marino infectadas con *Vibrio campbellii*, donde mejoró la sobrevivencia

por la disminución de la actividad *in vivo* del patógeno y por la estimulación de la respuesta inmune, con la activación del sistema pro-fenoloxidasa. Se ha reportado el aislamiento e identificación de cepas de *Bacillus* con la habilidad para degradar N-acil-homoserina lactonas (AHLs), una de las moléculas “*quorum sensing*” involucradas en la regulación de la producción del factor de virulencia en muchas bacterias patógenas.

Ramírez *et al.* (2022) evaluaron el potencial probiótico del consorcio microbiano que incluía tres cepas, *Bacillus cereus* sensu stricto (P64), *Vibrio diabolicus* (Ili) y *Vibrio hepatarius* (P62), usado para controlar la vibriosis. El probiótico mejoró la calidad de las larvas de camarón *P. vannamei*, que fueron expuestas previamente a *Vibrio parahaemolyticus*. Los resultados indican que el tratamiento previo de las larvas con el probiótico limitó la colonización del *Vibrio* patogénico.

Por otro lado, en estudio realizado por Luna-González *et al.* (2017), la adición de *Bacillus licheniformis*, melaza y la reducción de las tasas de alimentación no afectaron el crecimiento y la sobrevivencia del camarón. Los residuos nitrogenados se mantuvieron dentro del rango óptimo para el camarón. Cepas de *Bacillus* pueden jugar un rol importante en el proceso de nitrificación-desnitrificación. La reducción de la tasa de alimentación puede ayudar al mantenimiento de la calidad del agua y contribuir a la disminución de los costos en cultivo del camarón (Luna-González *et al.*, 2017).

### ***Clasificación de los floculantes***

Existen tres tipos de floculantes: floculantes inorgánicos como sulfato de aluminio y cloruro de aluminio; floculantes orgánicos sintéticos como los derivados de poliacrilmadida y polietilenamina; y floculantes producidos naturalmente como los floculantes microbianos. Los floculantes inorgánicos y orgánicos antes mencionados son usados frecuentemente en los procesos industriales debido a su alta actividad y bajo costo. Sin embargo, estudios han mostrado que las sustancias floculantes orgánicas e inorgánicas pueden causar daños a la salud y al medio ambiente. En este sentido, los biopolímeros producidos por microorganismos son actualmente investigados, son biodegradables y seguros para la salud y el medio ambiente (Wandong *et al.*, 2021).

Las bacterias son el principal componente del Biofloc, reportadas como microorganismos biofloculantes que producen biopolímeros, sustancias que pueden flocular sólidos suspendidos. Estos biopolímeros son conocidos como sustancias poliméricas extracelulares (SPE) producidos por microorganismos durante su crecimiento, que juegan un papel importante en el proceso de floculación (Kasan *et al.*, 2017). Cada bacteria produce diferentes SPE, los cuales difieren en su habilidad en el proceso de floculación. Por lo que, las bacterias con alta actividad de floculación son potencialmente usadas como inóculo para incrementar el proceso de biofloculación en sistemas Biofloc de producción de *P. vannamei* (Harun *et al.*, 2018).

Entre las bacterias reportadas como productoras de biofloculantes se encuentran *Bacillus* sp., *Pseudomonas alcaligenes*, *Citrobacter* sp., *Enterobacter cloacae*, *Halomonas* sp. y *Klebsiella pneumoniae*. Los biofloculantes microbianos incluyen polímeros como celulosa, proteínas, glucoproteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos (Gosai y Narolkar, 2022). El peso molecular y los grupos funcionales en las cadenas moleculares son determinantes en la actividad de floculación de los biofloculantes. Los grupos funcionales determinan el tipo de carga, su distribución y, en consecuencia, el tipo de interacción (Kushwaha *et al.*, 2020).

### ***Bacillus* sp. como bacterias biofloculantes**

Especies de *Bacillus* producen diferentes SPE, *B. subtilis* producen polisacáridos, *B. consortium* producen glicoproteínas, *B. safensis* producen proteínas funcionales, y algunas otras especies producen varias SPE. Afortunadamente, dentro de las bacterias usadas como probiótico en acuicultura, el género *Bacillus*, además de la actividad floculante puede ofrecer otros beneficios como el reciclamiento de nitrógeno en el estanque de cultivo (Harun *et al.*, 2018).

Varios autores han reportado el potencial biofloculante de bacterias del género *Bacillus*. En el estudio realizado por Abu Tawila *et al.* (2018) reportaron la producción, optimización, y caracterización del biofloculante QZ-7 sintetizado por la cepa de *Bacillus salmalaya* 139SI aislada del suelo de una granja en Malasia. La máxima actividad floculante fue 92,6%; las condiciones óptimas para la producción del biofloculante fueron, temperatura superior a 35,5 °C, pH 7±0.2, usando sacarosa y extracto de levadura como fuentes de carbono y nitrógeno, respectivamente. Los análisis químicos revelaron que el biofloculante consistió de 79.08% de carbohidratos y 15.4% de proteínas. El biofloculante QZ-7 fue térmicamente estable, y mantuvo más del 80% de actividad después de ser calentado a 80 °C durante 30 min. Además, se demostró el efecto de la cepa de *Bacillus salmalaya* 139SI en la remoción de la materia orgánica, por lo que el biofloculante QZ-7 puede ser usado promisoriamente en el tratamiento de aguas residuales.

Otros resultados informaron los parámetros óptimos para la biofloculación por Gosai y Narolkar (2022), quienes usaron glucosa y cloruro de amonio como fuente de carbono y nitrógeno, presencia del catión cloruro férrico y pH 8. El análisis químico del biofloculante mostró el contenido proteico una concentración de 2,81 mg/ml y el contenido de carbohidratos una concentración de 1.86 mg/ml. En su estudio, aislaron *Bacillus* biofloculantes del agua de estques de cultivo de camarón y otras fuentes, donde tres aislados mostraron actividad biofloculante; el aislado BF9 mostró la actividad biofloculante más alta.

Harun *et al.* (2018) evaluaron el potencial biofloculante de diferentes bacterias usando el método de suspensión de caolín Clay, donde seis especies mostraron actividad floculante. Fueron identificadas como *Bacillus infantis*, *B. cereus*, *B. safensis*, *Halomonas venusta*, *Nitratireductor aquamarinus* y *Pseudoalteromonas*. La mayor actividad biofloculante fue mostrada por *Bacillus infantis* (93%), lo que indica la más alta producción de SPE que favorecen el proceso de floculación. En esta investigación, reportaron baja actividad biofloculante en *Pseudoalteromonas*,

mientras que Wandong *et al.* (2021) aseveran el elevado poder biofloculante de *Pseudoalteromonas* sp. NUM8. La producción óptima del biofloculante por la bacteria fue usando sacarosa y nitrato de sodio como fuente de carbono y nitrógeno, respectivamente; así como, la presencia del catión divalente (Ca) y pH 5.

Fakriah *et al.* (2019) reportaron el contenido proteico en SPE de bacterias biofloculantes aisladas de estanques de cultivo de *Penaeus vannamei*. Cada especie mostró diferentes concentraciones proteicas en SPE, desde 1.377 µg/mL hasta 1.455 µg/mL. En su estudio, *Bacillus cereus* y *Bacillus pumilus* mostraron la más alta actividad biofloculante, en comparación con otras bacterias de los géneros *Nitratireductor*, *Pseudoalteromonas* y *Halomonas*. Coincidentemente, Kasan *et al.* (2017) aislaron e identificaron bacterias productoras de biofloculantes, fundamentalmente de los géneros *Bacillus* y *Halomonas*, que constituyen candidatos para ser usadas como inóculo en la formación de Biofloc. Otros géneros fueron identificados como *Providencia* sp., *Nitratireductor* sp. y *Pseudoalteromonas* sp.

Aunque los biofloculantes microbianos incluyen polímeros como celulosa, proteínas, glucoproteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos (Gosai y Narolkar, 2022), la composición química reportada de los biofloculantes producidos por *Bacillus* fue polisacáridos y proteínas. Según Budi *et al.* (2023), el biofloculante producido por *Serratia marcescens* en su composición química consistió de varios ácidos carboxílicos y enzimas intermediarias, indicando la presencia de polisacáridos y proteínas, lo que sugiere sean los principales constituyentes de biofloculantes bacterianos. A pH 7 su contenido proteico fue de 1,3 µg/mL y el contenido total de carbohidratos fue de 0,53 mg/L.

La preparación de los estanques es una etapa crucial en la acuicultura, que influye en la sobrevivencia y el crecimiento de los animales cultivados. Las postlarvas de crustáceos, por ejemplo, son susceptibles a los cambios abruptos en la calidad de agua. En estudio realizado por Fakriah *et al.* (2022), añadieron a la bacteria *Bacillus infantis*, reportada por su alto potencial biofloculante, como inóculo en la preparación de estanque en un sistema Biofloc. La cepa *B. infantis* BF3, aislada de muestras Biofloc de estanques de cultivo de camarón, fue usada para evaluar su efecto en la calidad del agua y en las comunidades bacterianas. La aplicación del biofloculante demostró sustancialmente su efecto en el desarrollo del Biofloc, ya que durante el periodo de estudio (10 días) el volumen de Biofloc fue significativamente superior en el tratamiento en comparación con el grupo control. El tratamiento con *Bacillus infantis* en el sistema Biofloc resultó en el incremento de bacterias heterótrofas viables, y en el mantenimiento de los nutrientes inorgánicos (amonio, nitrito, oxígeno disuelto) en niveles subletales (Fakriah *et al.*, 2022).

### ***Otros microorganismos con potencial biofloculante***

Además de las bacterias, otros microorganismos como hongos y levaduras se reportan como productores de biofloculantes (Gosai y Narolkar, 2022). Los hongos son heterótrofos y compiten con las bacterias por fuentes como azúcares hexosas (fructosa y glucosa) en sistemas Biofloc. La

presencia de filamentos fúngicos puede contribuir a la formación de grandes partículas de Biofloc. Algunas especies como *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. han demostrado ser microorganismos biofloculantes con alta actividad de floculación. La interacción y la asociación de los hongos con otros microorganismos dentro del Biofloc, puede estimular el crecimiento y la sobrevivencia del camarón, así como incrementar la resistencia a enfermedades (Hosseini y Mohammadi, 2022).

Hongos filamentosos tales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Spicaria* y *Hyaloflorea* han sido reportados en su habilidad de atrapar sólidos suspendidos y garantizar la floculación debido a sus propiedades filamentosas. Los filamentos fúngicos compuestos por hifas favorecen la bioagregación y absorción de las células de microalgas, que pueden ser removidas del agua circundante (Mohd *et al.*, 2019). Las hifas y micelios fúngicos contienen polisacáridos con sitios activos que son responsables de la capacidad de bioabsorción; estos polisacáridos también le confieren carga a las células fúngicas (Kushwaha *et al.*, 2020).

En su estudio, Mohd *et al.* (2019) usaron *Aspergillus niger* como biofloculante de microalgas en un sistema acuícola. El biofloculante mostró la habilidad para adaptarse a un amplio rango de pH de 3.0 a 9.0 y a un rango de 100-150 rpm, logrando una eficiencia de floculación mayor que 90%. El agua tratada mostró baja concentración de clorofila y baja densidad celular, lo que indica que *Aspergillus niger* es un biofloculante promisorio para ser usado en la floculación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales en la acuicultura (Mohd *et al.*, 2019).

Las microalgas juegan un importante rol en sistemas Biofloc, usan los compuestos nitrogenados para proteínas y azúcares, así como proveen de oxígeno en presencia de luz. Microalgas como las diatomeas y *Chlorella* sp. son buenas fuentes de aminoácidos esenciales y ácidos grasos insaturados para el camarón. En sistemas Biofloc la inoculación con diatomeas en el agua del cultivo mejora el rendimiento y el contenido de ácidos grasos de postlarvas de *P. vannamei*. La relación entre algas y comunidades bacterianas en sistemas Biofloc puede ser de mutualismo o antagonismo. Por ejemplo, algunas bacterias pueden contribuir al crecimiento de las algas, y las sustancias extracelulares secretadas por diatomeas pueden ser usadas por las bacterias como fuente de energía. Tales interacciones pueden contribuir al control de bacterias patógenas en sistemas Biofloc (Hosseini y Mohammadi, 2022).

Las microalgas se unen a la SPE bacteriana y forman grandes flóculos que promueven la biofloculación. En este sentido, el ácido glutámico de *Bacillus subtilis* es usado para la colecta de biomasa de microalgas como *Nanochloropsis oculata* LICME 002, *Phaeodactylum tricornutum*, *C. vulgaris* LICME 001 y *Botryococcus braunii* LICME 003; y *Bacillus licheniformis* CGMCC 2876 es usado para la colecta de microalga *Desmodesmus* sp. F51 con una eficiencia de floculación de 92% (Kushwaha *et al.*, 2020).

Por otro lado, la implementación de sustratos artificiales para proveer sitios para el desarrollo de comunidades microbianas, ha mostrado beneficios en el cultivo. En este sentido, Viau *et al.* (2014) evaluaron el efecto de biopelículas en postlarvas de camarón *Farfantepenaeus*

*brasiliensis*, usando láminas de polietileno como sustratos artificiales. Para el desarrollo del medio heterotrófico los tanques fueron inoculados con diatomeas *Thalassiosira weissflogii*, alimento artificial, melaza y salvado de trigo; la relación Carbono: Nitrógeno (C/N) fue de 20:1. La sobrevivencia de las postlarvas fue más alta y los niveles de nitrito más bajos en los tratamientos donde hubo presencia de biopelículas estuvo presente. Estos resultados indican que el uso de biopelículas puede ser una buena alternativa para mejorar la sobrevivencia de las postlarvas mediante el mantenimiento de la calidad de agua.

Así mismo, Thompson y Abreu (2002) demostraron la efectividad de biopelículas compuesto principalmente por diatomeas (*Amphora*, *Campylopyxis*, *Navícula*, *Sinedra*, *Hantzschia* y *Cilindrotheca*) en el mantenimiento de la calidad del agua por la reducción de los niveles de amonio y fósforo, y como fuente de alimento para el camarón. Las biopelículas asociado a sustratos sumergidos constituyó una fuente complementaria importante de alimento para el camarón, mejorando su crecimiento.

### **Relación carbono: nitrógeno (C/N)**

En la tecnología de biofloc, los microorganismos muestran diferentes características funcionales y realizan tres funciones principales: (i) ayudar a mejorar la calidad del agua mediante la eliminación de compuestos inorgánicos de nitrógeno (bioacumulación, bioasimilación, nitrificación y desnitrificación); (ii) actuar como fuente de alimento complementario y (iii) crear propiedades probióticas; funciones clave para cualquier sistema de cultivo acuático (Khanjani *et al.*, 2022).

La adición de fuentes de carbono a los sistemas acuícolas estimula el crecimiento de microorganismos heterótrofos, donde el nitrógeno se utiliza para generar proteínas microbianas. Entre estas fuentes de carbono se encuentran, la melaza, salvado de arroz, tapioca, entre otras (Azhar *et al.*, 2016). La relación C/N es otro factor que afecta la densidad de bacterias heterótrofas y otros microorganismos en sistemas Biofloc. Esta relación es manejada para el control del nitrógeno amoniacal, por lo que tiene influencia en el crecimiento y el bienestar de los organismos cultivados en la acuicultura (Hosseini y Mohammadi, 2022).

El manejo de la relación C/N en un sistema de cultivo puede promover una comunidad bacteriana dominada por bacterias heterótrofas, las que utilizan carbohidratos orgánicos para generar energía y crecer, para síntesis de proteínas y nuevas células. Una relación óptima C:N es clave para controlar el nitrógeno inorgánico, puede mejorar la producción y el reciclamiento de nutrientes (Avnimelech, 1999). El análisis metagenómico reveló que *Vibrio* constituía el 90% de la población de biofloc, mientras que también se detectaron *Pseudalteromonas*, *Photobacterium*, *Shewanella*, *Alteromonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Marinifilum* and *Pseudomonas* (Tepaamorndech *et al.*, 2020). La densidad de *Vibrio*, patógenos oportunistas, disminuye con un aumento en las relaciones C/N, confirmando así la densidad de bacterias heterótrofas en tratamientos con alta relación C/N. Esto explica que las tasas de supervivencia mejoran al aumentar las tasas de C/N (Panigrahi *et al.*, 2019).



Recientemente, en un cultivo de biofloc con *P. vannamei* aislaron seis especies de bacterias marinas conocidas como *Halomonas venusta*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Nitratireductor aquimarinus* y *Pseudoalteromonas* sp. Las cuales eran productoras de biofloculantes. La mayor actividad floculante la presentó *Bacillus cereus* con un 93% (Minaz y Kubilay, 2021). Hay una tendencia del empleo de *Bacillus* spp., entre ellas *Bacillus infantis* y *Bacillus eclensis*, como biofloculantes para la mejora de la calidad del biofloc (Che Hashim *et al.*, 2022).

## CONCLUSIONES

Bacterias del género *Bacillus* son usadas por sus efectos benéficos en el cultivo del camarón. Aunque el potencial biofloculante de varias especies de *Bacillus* ha sido demostrado, es necesario aislar nuevas cepas y realizar futuras investigaciones para caracterizar sus biofloculantes, así como, evaluar el efecto en el metabolismo y el sistema inmune de *Penaeus vannamei*. Sería conveniente realizar otros estudios de optimización de las condiciones de cultivo para la producción de biofloculantes, usando nuevas fuentes de carbono y nitrógeno.

## REFERENCIAS

- Abu Tawila, Z. M., Ismail, S., Dadrasnia, A., & Maikudi Usman, M. (2018). Production and Characterization of a Bioflocculant Produced by *Bacillus salmalaya* 139SI-7 and Its Applications in Wastewater Treatment. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules23102689>
- Alsaman, A. J., Arabia, S., Farid, A., Mohaini, M. Al, Arabia, S., & Muzammal, M. (2022). Chitinase Activity by Chitin Degrading Strain ( *Bacillus Salmalaya* ) in Shrimp Chitinase Activity by Chitin Degrading Strain ( *Bacillus Salmalaya* ) in Shrimp Waste. 2(June), 10-17. <https://doi.org/10.31782/IJCRR.2022.141107>
- Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3-4), 227-235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
- Azhar, M. H., Supriyono, E., Nirmala, K., & Ekasari, J. (2016). Organic carbon source and C/N ratio affect inorganic nitrogen profile in the biofloc-based culture media of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 21(1), 23. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.21.1.23-28>
- Budi, S., Fauzul, M., Rozaimah, S., Abdullah, S., Razi, A., & Abu, H. (2023). Coagulation – flocculation of aquaculture effluent using biobased flocculant: From artificial to real wastewater optimization by response surface methodology. *Journal of Water Process Engineering*, 53(June), 103869. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.103869>
- Cardona, E., Gueguen, Y., Magré, K., Lorgeoux, B., Piquemal, D., Pierrat, F., Noguier, F., & Saulnier, D. (2016). Bacterial community characterization of water and intestine of the

- shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 16(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0770-z>
- Che Hashim, N. F., Manan, H., Okomoda, V. T., Ikhwanuddin, M., Khor, W., Abdullah, S. R. S., & Kasan, N. A. (2022). Inoculation of biofloculant producing bacteria for enhanced biofloc formation and pond preparation: Effect on water quality and bacterial community. *Aquaculture Research*, 53(4), 1602-1607. <https://doi.org/10.1111/are.15678>
- De Lourdes Cobo, M., Sonnenholzner, S., Wille, M., & Sorgeloos, P. (2014). Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. *Aquaculture Research*, 45(3), 470-475. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03248.x>
- Fakriah, N., Hashim, C., Ghazali, N. A., & Amin, N. M. (2019). Characterization of Marine Biofloculant-producing Bacteria Isolated From Biofloc of Pacific Whiteleg Shrimp , *Litopenaeus vannamei* Culture Ponds Characterization of Marine Biofloculant-producing Bacteria Isolated From Biofloc of Pacific Whiteleg Shrimp. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 246 012007. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/246/1/012007>
- Fakriah, N., Hashim, C., Manan, H., Tosin, V., Ikhwanuddin, M., Khor, W., Rozaimah, S., & Abdullah, S. (2022). *Formation and pond preparation : Effect on water quality and bacterial Inoculation of biofloculant- - producing bacteria for enhanced biofloc formation and pond preparation : Effect on water quality and bacterial community. November 2021.* <https://doi.org/10.1111/are.15678>
- Gosai, H. G., & Narolkar, S. (2022). Isolation , Characterization and Optimization of Biofloculant Producing Bacteria from the Aquaculture Ponds. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 9(1). [www.jetir.org\(ISSN-2349-5162\)](http://www.jetir.org(ISSN-2349-5162))
- Gustavo, M., Emerenciano, C., Martínez-, M., Martínez-Córdova, L. R., & Martínez-Porchas, M. (2017). Biofloc Biofloc Technology Technology ( BFT ): ( BFT ): A A Tool Tool for for Water Water Quality Quality Management in Aquaculture Management in Aquaculture Maurício. *Aquaculture*, 5, 91-103. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/66416>
- Harun, A. A. ., Hashim, N. F. ., Mohammad, N. A. ., Ikhwanuddin, M., Ismail, N., Ibrahim, Z., & Kasan, N. (2018). The potential of biofloculant- producing bacteria as inoculum for biofloc based systems (pp. 917-922). *Journal of Environmental Biology, Special issue.* [https://doi.org/http://doi.org/10.22438/jeb/39/5\(SI\)/9](https://doi.org/http://doi.org/10.22438/jeb/39/5(SI)/9)
- Hosseini, M., & Mohammadi, A. (2022). Microorganisms in biofloc aquaculture system. *Aquaculture Reports*, 26(May), 101300. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101300>
- Huang, Z., Aweya, J. J., Zhu, C., Tran, N. T., Hong, Y., Li, S., Yao, D., & Zhang, Y. (2020). Modulation of Crustacean Innate Immune Response by Amino Acids and Their Metabolites: Inferences From Other Species. *Frontiers in Immunology*, 11(November), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574721>

- Kasan, N. A., Ghazali, N. A., Ikhwanuddin, M., & Ibrahim, Z. (2017). Isolation of potential bacteria as inoculum for biofloc formation in pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* culture ponds. In *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20(6), 306-313. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.306.313>
- Kewcharoen, W., & Srisapoome, P. (2019). Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish & Shellfish Immunology*, 94, 175-189. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.013>
- Khanjani, M. H., Mohammadi, A., & Emerenciano, M. G. C. (2022). Microorganisms in biofloc aquaculture system. *Aquaculture Reports*, 26, 101300. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101300>
- Kushwaha, P., Kumari, S., Singh, K., & Kumar, K. S. (2020). Bioflocculation : a potential means of harvesting microalgae. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 7(10): 2593-2609. [www.jetir.org\(ISSN-2349-5162\)](http://www.jetir.org(ISSN-2349-5162))
- Luna-González, A., Ávila-Leal, J., Fierro-Coronado, J. A., Álvarez-Ruiz, P., Esparza-Leal, H., Escamilla-Montes, R., Flores-Miranda, M. Del C., Montiel-Montoya, J., & López-Álvarez, E. S. (2017). Effects of bacilli, molasses, and reducing feeding rate on biofloc formation, growth, and gene expression in *Litopenaeus vannamei* cultured with zero water exchange. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 45(5), 900-907. <https://doi.org/10.3856/vol45-issue5-fulltext-4>
- Minaz, M., & Kubilay, A. (2021). Operating parameters affecting biofloc technology: carbon source, carbon/nitrogen ratio, feeding regime, stocking density, salinity, aeration, and microbial community manipulation. *Aquaculture International*, 29. 1121-1140. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00681-x>
- Mohd, N., Hanis, F., Yunos, M., Hartini, H., Jusoh, W., Mohammad, A., Shiung, S., & Jusoh, A. (2019). Subtopic : Advances in water and wastewater treatment harvesting of *Chlorella* sp . microalgae using *Aspergillus niger* as bio- fl oculant for aquaculture wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 249(August), 109373. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109373>
- Nimrat, S., Khaopong, W., Sangsong, J., Boonthai, T., & Vuthiphandchai, V. (2020). Improvement of growth performance, water quality and disease resistance against *Vibrio harveyi* of postlarval whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by administration of mixed microencapsulated *Bacillus* probiotics. *Aquaculture Nutrition*, 26(5), 1407-1418. <https://doi.org/10.1111/anu.13028>
- Niu, Y., Defoirdt, T., Baruah, K., Van De Wiele, T., Dong, S., & Bossier, P. (2014). *Bacillus* sp. LT3 improves the survival of gnotobiotic brine shrimp (*Artemia franciscana*) larvae challenged with *Vibrio campbellii* by enhancing the innate immune response and by

- decreasing the activity of shrimp-associated vibrios. *Veterinary Microbiology*, 173(3-4), 279-288. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.08.007>
- Ochoa-Solano, L., & Olmos-Soto, J. (2006). The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.10.004>
- Omont, A., Elizondo-González, R., Escobedo-Fregoso, C., Tovar-Ramírez, D., Hinojosa-Baltazar, P., & Peña-Rodríguez, A. (2021). Bacterial communities and digestive enzymatic activities of *Litopenaeus vannamei* shrimp fed pre-digested seaweeds as a functional ingredient. *Journal of Applied Phycology*, 33(2), 1239-1251. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02381-8>
- Panigrahi, A., Sundaram, M., Chakrapani, S., Rajasekar, S., Syama Dayal, J., & Chavali, G. (2019). Effect of carbon and nitrogen ratio (C: N) manipulation on the production performance and immunity of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in a biofloc based rearing system. *Aquaculture Research*, 50(1), 29-41. <https://doi.org/10.1111/are.13857>
- Ramírez, M., Domínguez, C., Salazar, L., Debut, A., Vizuite, K., Sonnenholzner, S., Alexis, F., & Rodríguez, J. (2022). The probiotics *Vibrio diabolicus* (Ili), *Vibrio hepatarius* (P62), and *Bacillus cereus* sensu stricto ( P64 ) colonize internal and external surfaces of *Penaeus vannamei* shrimp larvae and protect it against *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 549(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737826>
- Reis, W. G., Wasielesky Jr, W., Abreu, P. C., Brandão, H., & Krummenauer, D. (2019). Rearing of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in BFT system with different photoperiods: Effects on the microbial community, water quality and zootechnical performance. *Aquaculture*, 508, 19-29. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.067>
- Ren, W., Li, L., Dong, S., Tian, X., & Xue, Y. (2019). Effects of C/N ratio and light on ammonia nitrogen uptake in *Litopenaeus vannamei* culture tanks. In *Aquaculture*, 498. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.043>
- Tang, Y., Tao, P., Tan, J., Mu, H., Peng, L., Yang, D., Tong, S., & Chen, L. (2014). Identification of bacterial community composition in freshwater aquaculture system farming of *Litopenaeus vannamei* reveals distinct temperature-driven patterns. In *International Journal of Molecular Sciences*, 15(8), 13663-13680. <https://doi.org/10.3390/ijms150813663>
- Tepaamorndech, S., Nookaew, I., Higdon, S. M., Santiyanont, P., Phromson, M., Chantarasakha, K., Mhuantong, W., Plengvidhya, V., & Visessanguan, W. (2020). Metagenomics in bioflocs and their effects on gut microbiome and immune responses in Pacific white shrimp. *Fish & shellfish immunology*, 106, 733-741. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02381-8>

- Thi, P., Tu, C., Hai, V. H., Thi, N., Lien, K., & Xuan, D. (2022). Evaluation of short-term toxicity of ammonia and nitrite on the survival of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* juveniles. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 74(2), 1-10. <https://doi.org/10.46989/001c.36831>
- Thompson, F. L., & Abreu, P. C. (2002). Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture. *Aquaculture*, 203, 263-278. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00642-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00642-1)
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espéricueta, M. G., Vanegas-Pérez, R. C., Chávez-Sánchez, M. C., & Páez-Osuna, F. (2019). Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 70(May), 103193. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.05.002>
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espéricueta, M. G., Vanegas-Pérez, R. C., Pérez-Ramírez, J. A., Chávez-Sánchez, M. C., & Páez-Osuna, F. (2018). Acute Toxicity of Ammonia, Nitrite and Nitrate to Shrimp *Litopenaeus vannamei* Postlarvae in Low-Salinity Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101(2), 229-234. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>
- Viau, V. E., Rodríguez, E., & Abreu, P. C. (2014). Biofilm feeding by postlarvae of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture Research*, 44, 783-794. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03087.x>
- Wandong, F. U., Miaofei, L., Dongxu, Z., & Yufang, Z. (2021). *Studies on Biofloculant Production by Pseudoalteromonas sp. NUM8, a Marine Bacteria Isolated from the Circulating Seawater*. 20(5), 1276-1284. <https://doi.org/10.1007/s11802-021-4747-7>
- Widanarni, Yuniasari, D. E. B. Y., Sukenda, & Ekasari, J. (2010). Nursery Culture Performance of *Litopenaeus vannamei* with Probiotics Addition and Different C/N Ratio Under Laboratory Condition. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(3), 115-119. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.3.115>
- Zheng, Y., Yu, M., Liu, J., Qiao, Y., Wang, L., Li, Z., Zhang, X. H., & Yu, M. (2017). Bacterial community associated with healthy and diseased Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and rearing water across different growth stages. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01362>
- Wyban, J. (2019). Selective breeding of *Penaeus vannamei*: impact on world aquaculture and lessons for future. *Journal of Coastal Research*, 86(SI), 1-5. <https://doi.org/10.2112/SI86-001.1>

## **CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES**

Concepción y diseño de la investigación: YAC, AAC, GN; análisis e interpretación de los datos: YAC, AAC, GN; redacción del artículo: YAC, AAC, GN.

## **CONFLICTO DE INTERESES**

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.