

“Domesticación de los Microorganismos Asociados al Cultivo del Camarón *Litopenaeus vannamei* para su Uso en Acuicultura”

“Domestication of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* associated microorganisms and its use for aquaculture”

Benoit Diringer^{1,3}, Juan Quimi^{1,3}, Tayron Vera^{1,3}, Christian Mattos², Efraim Cayra², Juan Luzardo^{1,3}, Tulio Torres², Eric Mialhe¹, Motte Emmerik¹.

Resumen

La acuicultura mundial está confrontada a tres tipos de problemas principales: (1) las enfermedades bacterianas, (2) los costos de alimentación y (3) la descarga de las aguas con abundante materia orgánica. Los trabajos de investigación y sus aplicaciones recientes indican que estos tres tipos de problemas pueden ser resueltos basándose en la domesticación de microorganismos aislados, por una parte, de la microbiota nativa del tracto digestivo de la especie concernida y, por otra parte, del ambiente natural de los cultivos.

Las enfermedades bacterianas son esencialmente provocadas por bacterias Gram-negativas cuya patogenicidad está ligada a un proceso de comunicación bacteriana conocida como “*quorum sensing*”. La prevención de las enfermedades bacterianas puede estar eficazmente basada en la utilización de bacterias productoras de enzimas lactonasas (proceso de *Quorum quenching*). A fin de poder colonizar eficazmente el tracto digestivo de los animales, conviene utilizar cepas nativas bien adaptadas al tracto digestivo e introducirlas precozmente en él a través de un proceso conocido como “convencionalización” en gnotobiología. Tales microorganismos, caracterizados a nivel molecular son seleccionados también por su influencia benéfica sobre la fisiología digestiva y el sistema inmunitario asociado al tracto digestivo.

Los costos de alimentación están esencialmente relacionados con el incremento del precio de las harinas de pescado como fuente de proteínas. La reducción tanto de los costos de alimentación como de la materia orgánica descargada, puede ser lograda a través de la domesticación de microorganismos nativos del ecosistema basándose en su inocuidad y valor nutricional para los animales en cultivo. En la práctica se trata de utilizar estos microorganismos domesticados bajo la forma de perifitón que corresponden a las comunidades microbianas que se desarrollan en soportes sumergidos.

Palabras clave:

Acuicultura, Domesticación microbiana, perifitón, gnotobiología, camarón, *Litopenaeus vannamei*.

¹ Concepto Azul S.A, Cdla. Vernaza Norte, MZ 10 Villa 34, Guayaqui – Ecuador, PO Box 0902-142A

² Marinazul S.A., Calle Augusto Tamayo 180 San Isidro, Lima, Peru.

³ Inca'Biotec SAC, Calle 7 de Enero, 470, Tumbes, Tumbes, Peru. 00 51 972 701 484.

diringerb@yahoo.fr

Summary

Aquaculture growth is confronted world-wide to three main problems: (1) bacterial diseases outbreaks, (2) increasing feeding costs and (3) aquaculture's wastewaters management. Recent investigations and their field applications indicate that the domestication of microorganisms isolated from the native microbiota of cultured individuals digestive tract as well as culture's natural environment offers viable alternatives.

Bacterial outbreaks are currently induced by Gram-negative bacteria the pathogenicity of which is linked to the process of bacterial communication known as "quorum sensing". Bacterial diseases prevention can be effectively triggered using lactonase producing bacteria ("Quorum quenching" process). In order to ensure an effective colonization of the digestive tract, adapted microorganisms isolated from native microbiota of cultured species ought to be applied early through a process known as "convencionalization" in gnotobiology.

Such microorganisms, characterized at molecular level are also selected for their beneficial influence on the digestive physiology and gut's associated immune system. Feeding costs are essentially related to flours and fish meal increasing price, as protein sources. Reduction of feeding costs as well as organic matter discharge can, in the same way, be obtained through the domestication of ecosystems' native microorganisms the selection of which is based on its innocuity and nutritional value for cultured stocks. Eventually these domesticated microorganisms should be applied in the field as periphyton, wich corresponds to the microbial communities that develop on submerged substrates.

Key Words:

Aquaculture, Microbial domestication, periphyton, gnotobiology, shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

Introducción

Uno de los principales problemas del cultivo de camarón al nivel mundial lo constituyen las enfermedades infecciosas de origen viral y bacteriano intracelular de tipo rickettsia. Sin embargo, este problema es superable, a corto plazo, a través de la puesta en marcha de medidas de prevención basadas en la utilización exclusiva de larvas sanas provenientes de reproductores certificados y, a mediano plazo, por la selección genética de líneas resistentes.

Los costos de alimentación, la calidad del agua y las bacteriosis constituyen los otros retos que deben ser considerados para la sostenibilidad de la actividad y que conciernen a todos los países productores de camarón. En lo que respecta los costos de alimentación, ellos representan actualmente más del 50% de los costos totales de producción en los cultivos intensivos y semi-intensivos. La proteína contenida en los alimentos formulados para camarones es aportado esencialmente por las harinas de pescado las cuales experimentan un declinación de su producción a nivel mundial, lo

que junto con el encarecimiento de las otras materias primas conduce a un constante incremento en el precio del alimento balanceado.

En este contexto se vuelve esencial, para garantizar la sostenibilidad de la actividad, el encontrar soluciones que disminuyan la dependencia al alimento balanceado. La primera solución estaría relacionada con la sustitución parcial de las harinas de pescado por proteínas vegetales o bacterianas, mientras que la segunda, correspondería a la explotación de comunidades microbianas asociadas al cultivo del camarón para la sustitución parcial de la alimentación artificial y el incremento de la productividad. Una vía particularmente interesante corresponde a la domesticación del perifitón. El perifitón se define como el complejo de comunidades de microorganismos y organismos que se desarrollan en soportes sólidos sumergidos [1].

En el caso de las bacteriosis, principalmente causadas por vibrios naturalmente presentes en el agua de mar, su prevención no puede ser realizada a través de la utilización de antibióticos debido a los fenómenos de resistencia y a las normas internacionales restrictivas. La utilización de cepas bacterianas antagonistas a vibrios es una alternativa prioritaria. El estudio del efecto antagónico debe ser realizado bajo conceptos de gnotobiología. La Gnotobiología, del griego "*Gnosis*" que significa "conocimiento" y "*bios*" por "vida", corresponde al estudio de organismos exentos de microorganismos o asociados con microorganismos conocidos o específicos. Esta ciencia tiene como tópico revelar las interacciones colaborativas entre el epitelio digestivo, el sistema inmune de la mucosa del intestino de un huésped y su microbiota [2]. Su estudio permitirá controlar el establecimiento de una flora microbiana normal y protectora como elemento primordial para el desarrollo y la maduración del sistema digestivo e inmunitario, y posteriormente para la resistencia a las enfermedades infecciosas.

En lo que concierne a los problemas de calidad de agua, que involucran no únicamente los cultivos sino también el ecosistema que alberga la actividad, los productores deben en la práctica, resolverlos tanto para su beneficio directo como para responder a las normas ambientales que se endurecen en permanencia. Estos problemas de calidad de agua pueden ser reducidos gracias a la explotación y domesticación de las comunidades microbianas en particular el perifitón.

Este estudio se focalizó por una parte, sobre la domesticación de las comunidades microbianas asociada a sustratos artificiales o perifitón para tentar de substituir parcialmente el alimento balanceado y mejorar la productividad, y por otra parte sobre la domesticación de la flora microbiana intestinal a partir de camarones silvestres para la convencionalización de larvas de camarón domesticadas.

Materiales y métodos

- Domesticación del perifitón

El concepto del estudio consiste en construir un perifitón domesticado compuesto exclusivamente de microorganismos nativos (bacterias, diatomeas, protozoarios, nematodos), seleccionados por sus beneficios sobre el cultivo. Este aspecto es importante considerando que un perifitón natural o espontáneo puede ser compuesto por microorganismos patógenos o tóxicos (vibrios, cianobacterias...). La figura 1 ilustra el proceso de domesticación.

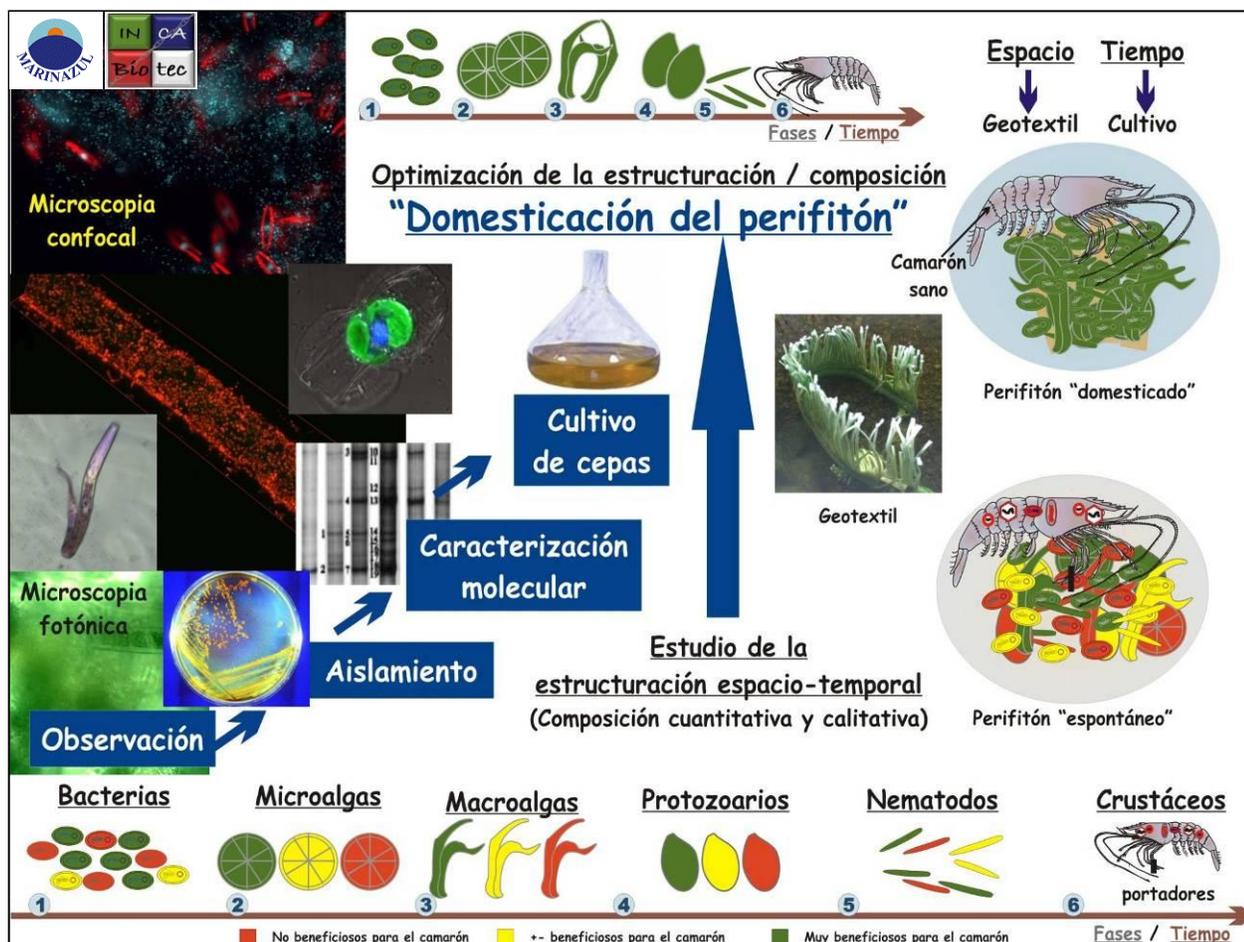


Figura 1; Concepto de la domesticación del perifitón.

El primer paso corresponde en analizar y aislar cepas de microorganismos nativos que colonizan de forma espontánea substratos instalados en las pozas de camarón. Este primer paso debe permitir de obtener un cepario exhaustivo constituido de los diferentes microorganismos presentes en el agua de cultivo.

Cada microorganismo del cepario debe ser caracterizado mediante técnicas de taxonomía molecular, y luego por su capacidad de ser cultivado.

Las operaciones de identificación por taxonomía molecular de las cepas puras aisladas fueron realizadas con los kits de amplificación de los genes de ARN ribosómicos según las instrucciones del proveedor (CONCEPTO AZUL SA. Ecuador) mientras que los cultivos fueron desarrollados en medios de cultivos adaptados a cada microorganismo.

Estos resultados asociados a pruebas microbiológicas, análisis por microscopía confocal a barrido laser (LSCM), detección de genes por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y PCR en tiempo real, bioensayos etc... permitieron seleccionar las cepas de microorganismos beneficiosos para la construcción del perifitón, para la nutrición de los langostinos, para la regeneración del agua (bacteria nitrificantes), y para la prevención de vibriosis (bacterias lactonasa positivas).

Este conjunto de resultados permitieron el establecimiento de protocolos de producción optimizados de perifitón domesticado.

- Domesticación de la flora microbiana intestinal de *L. vannamei*

En cuanto al estudio de la flora microbiana intestinal, el concepto del proceso consiste en constituir una flora microbiana intestinal compuesta únicamente de microorganismos beneficiosos en los primeros instante de la vida del animal, o sea poco tiempo después de la eclosión cuando el tracto digestivo es aun virgen. La Figura 2 ilustra el proceso de domesticación del tracto digestivo.

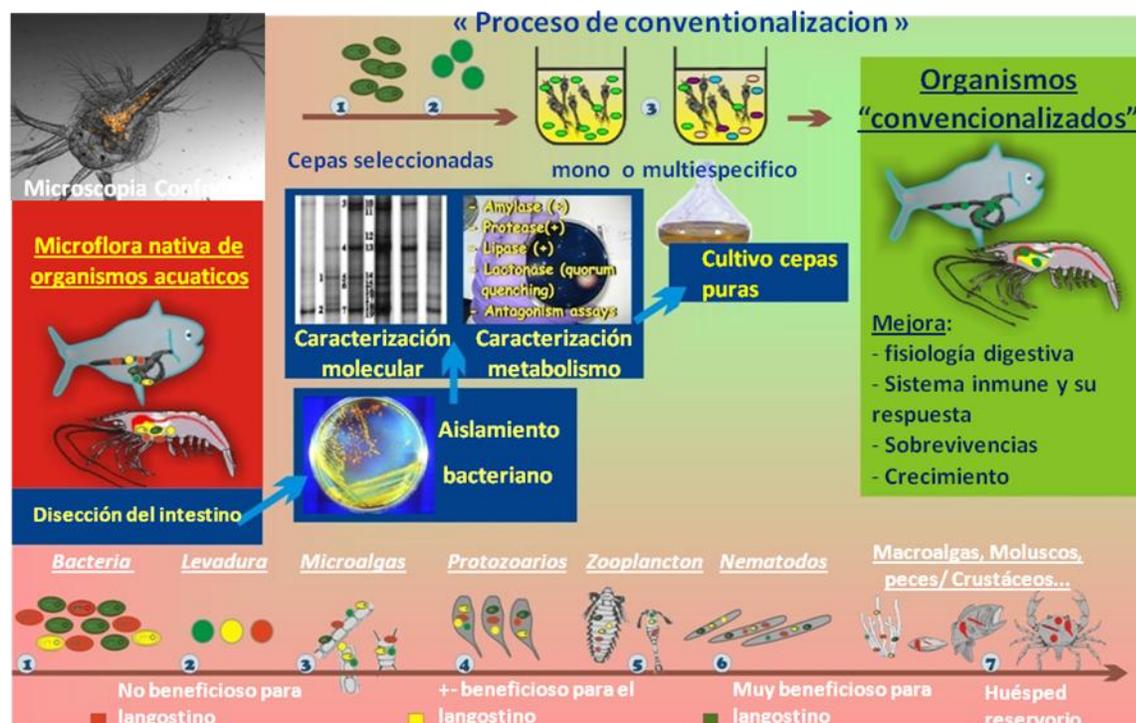


Figura 2; concepto del proceso de domesticación de la flora microbiana intestinal.

En un primer tiempo, las bacterias y levaduras fueron aisladas de la flora nativa de camarones silvestres en diferentes etapas de la vida (post larvas, juveniles y

adultos). Luego, la caracterización y identificación de los microorganismos se basó en pruebas metabólicas (actividad amilasa, proteasa), y moleculares en particular con la amplificación y la secuenciación de genes de ARN ribosomales y mitocondriales.

La selección de las mejores cepas se realizó mediante bioensayos donde las larvas fueron sometidas a procesos de convencionalización mono-y multi-específicos en las respectivas suspensiones de los microorganismos durante un ciclo larvario completo (de nauplius a Post larva).

La eficiencia de la protección de especies nativas de microorganismos en los animales convencionalizados se realizó mediante procesos de infecciones experimentales frente a cepas de vibrios patógenos.

Los resultados de los ensayos permitieron seleccionar las mejores cepas con el fin de constituir un mix microbiano que permite incrementar las producciones de larvas y la protección antibacteriana en particular en las primeras etapas de la vida del animal.

Las experimentaciones fueron realizadas en las instalaciones de Marinazul S.A. (Perú) en asociación con Concepto Azul SA – IncaBiotec SAC con el apoyo del FINCYT (proyecto 019 y 024).

Resultados

- Domesticación del Perifitón

Aislamiento e identificación bacteriana

Las comunidades bacterianas juegan un papel central en la formación del perifitón por ser los colonizadores primarios y también por su activa participación en los ciclos de nutrientes, en la transformación de la materia orgánica, en su capacidad de interferir en la cadena trófica influyendo así en las otras comunidades microbianas, en el consumo de oxígeno, en problemas de patologías graves, etc.

Las colonias aisladas fueron caracterizadas molecularmente a través de la secuenciación de regiones de su genoma (ARN ribosomal 16S). Un total de 124 cepas bacterianas cultivables fueron identificadas. Los resultados indicaron que el perifitón espontáneo está compuesto principalmente por bacterias que pueden ser patógenas para los camarones como Vibrios. (41%), Shewanellas (16%), estafilococos (10%), bacterias desconocidas (9%), Pseudomonas (5%) y otras (Figura 3). Estos resultados ilustran perfectamente la problemática de recurrir al uso de perifitón espontáneo que puede formarse con las comunidades microbianas presentes en el agua.

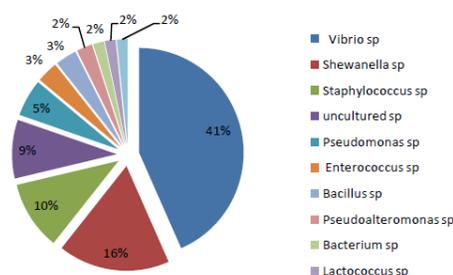


Figura 3; Proporción y identidad de bacterias cultivables aisladas de perifiton espontaneo.

Selección de cepas microbianas

La selección de bacterias benéficas dentro del cepario obtenido se realizó integrando técnicas de biología molecular, microbiología y experiencias empíricas.

En un primer tiempo se seleccionó las bacterias promotoras de la fijación de microalgas. En efecto, está comprobado que existen relaciones mutualistas (beneficios para ambos organismos) entre bacterias y macro y microalgas [3]. En efecto, trabajos anteriores demostraron que el cultivo de cepas de diatomeas con sus bacterias favorecía hasta tres veces la multiplicación y fijación de las microalgas [4]. 13 cepas promotoras de la fijación y multiplicación de diatomeas fueron seleccionadas. El efecto de la estimulación bacteriana para la fijación de diatomea aparece claramente en la figura 4.

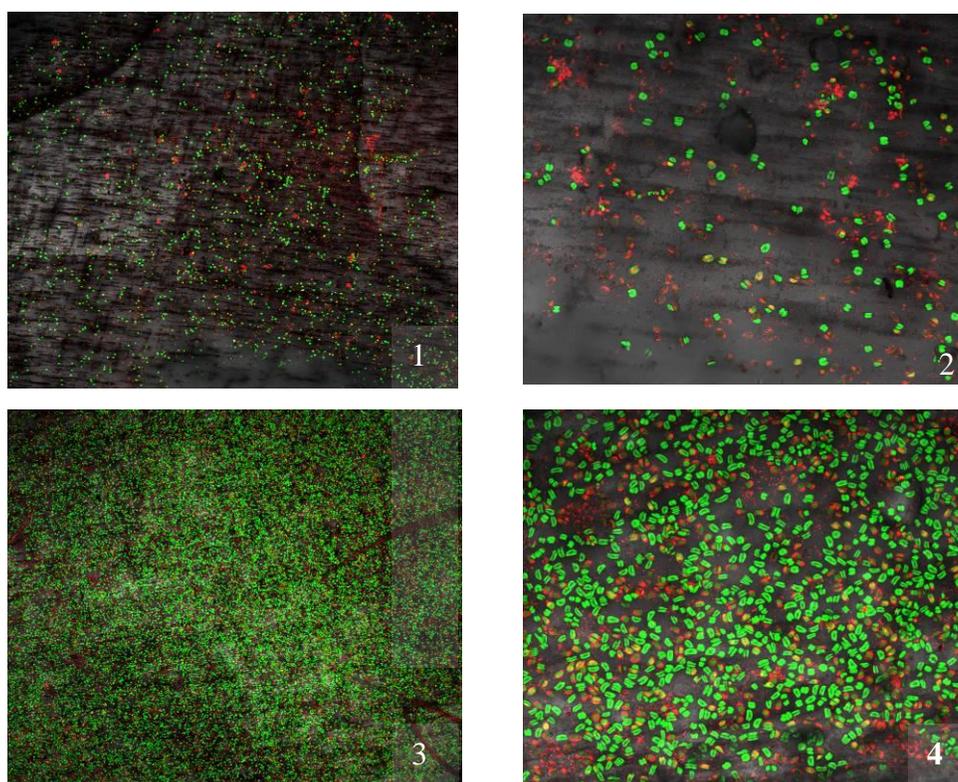


Figura 4; Comparación por LSCM del efecto del bacillus 76G sobre la fijación de la diatomea *cymbella* sp. sobre sacos plásticos después de 96h de incubación. 1) Presencia de bacterias (rojo) espontaneas y de la diatomea (verde), Gr:10X. 2) Presencia de bacterias (rojo) espontaneas y de la diatomea (verde), Gr:40X.. 3)

Observación del bacillus 76G (rojo) y de la diatomea (verde), Gr:10X. 4) Observación del bacillus 76G (rojo) y de la diatomea (verde), Gr:40X.

Aislamiento de diatomeas

Las operaciones de aislamiento fueron realizadas usando micromanipuladores acoplados a un microscopio invertido, técnicas de diluciones y siembras directas.

Un cepario de 18 cepas de microalgas, principalmente diatomeas fue constituido y caracterizado molecularmente. La utilización de la taxonomía molecular permitió identificar las cepas de diatomeas, cianobacterias al nivel de familia, con algunas cepas identificadas hasta el nivel de especie. Luego, se consideraron dos características importantes para la selección de cada microorganismo: (1) la adaptación al cultivo; la zootecnia a desarrollar y la tasa de crecimiento logrado en términos de cantidades de individuos o biomasa. (2) su composición bioquímica, en términos de aporte en nutrientes esenciales. La selección de las cepas se realizó comparando la respuesta de camarones frente a geotextiles mono colonizados con un tipo de microalgas o por un tipo de microalgas con la mezcla de bacterias seleccionadas (Figura 5).

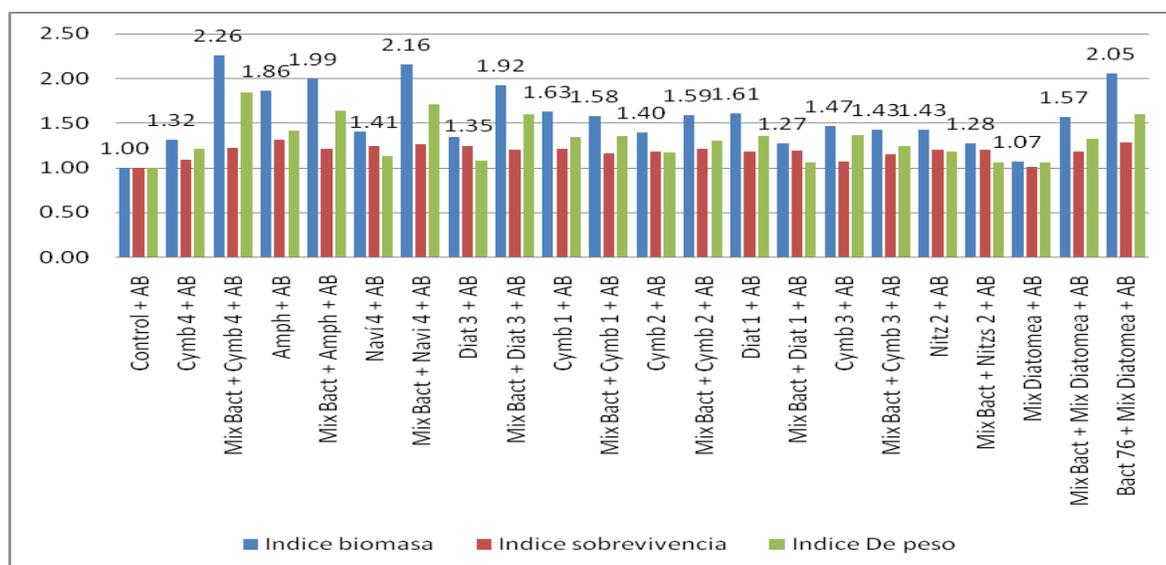


Figura 5; Evaluación en índice del efecto de la adición de sustrato colonizado por diatomeas con o sin adición del mix bacteriano promotor de fijación sobre Post Larva 12 de *L. vannamei* después de 10 días de ensayo a 12 individuos por litro. AB: adición a sociedad de alimento balanceado.

Las cepas que presentaron los mejores potenciales de uso fueron de tipo; *Cymbella sp.*, *Navicula sp.*, y *Amphiphora sp.* La colonización previa de los geotextiles con las bacterias promotoras de fijación mejoraron significativamente las biomásas cosechadas en comparación con el uso de geotextiles colonizados únicamente por las diatomeas.

Construcción de perifitón domesticado

Las diferentes etapas de selección de microorganismos permitieron seleccionar las cepas de bacterias y diatomeas bentónicas para realizar la construcción del perifitón domesticado. El proceso de “maduración” consiste en preparar cultivos masivos puros que son aplicados sobre los geotextiles. El primer paso corresponde a la colonización del sustrato por las bacterias durante 24h, luego los cultivos de microalgas son adicionados (Figura 6). Después de 3 días de incubación adicionales, los sustratos están listos para ser utilizados.

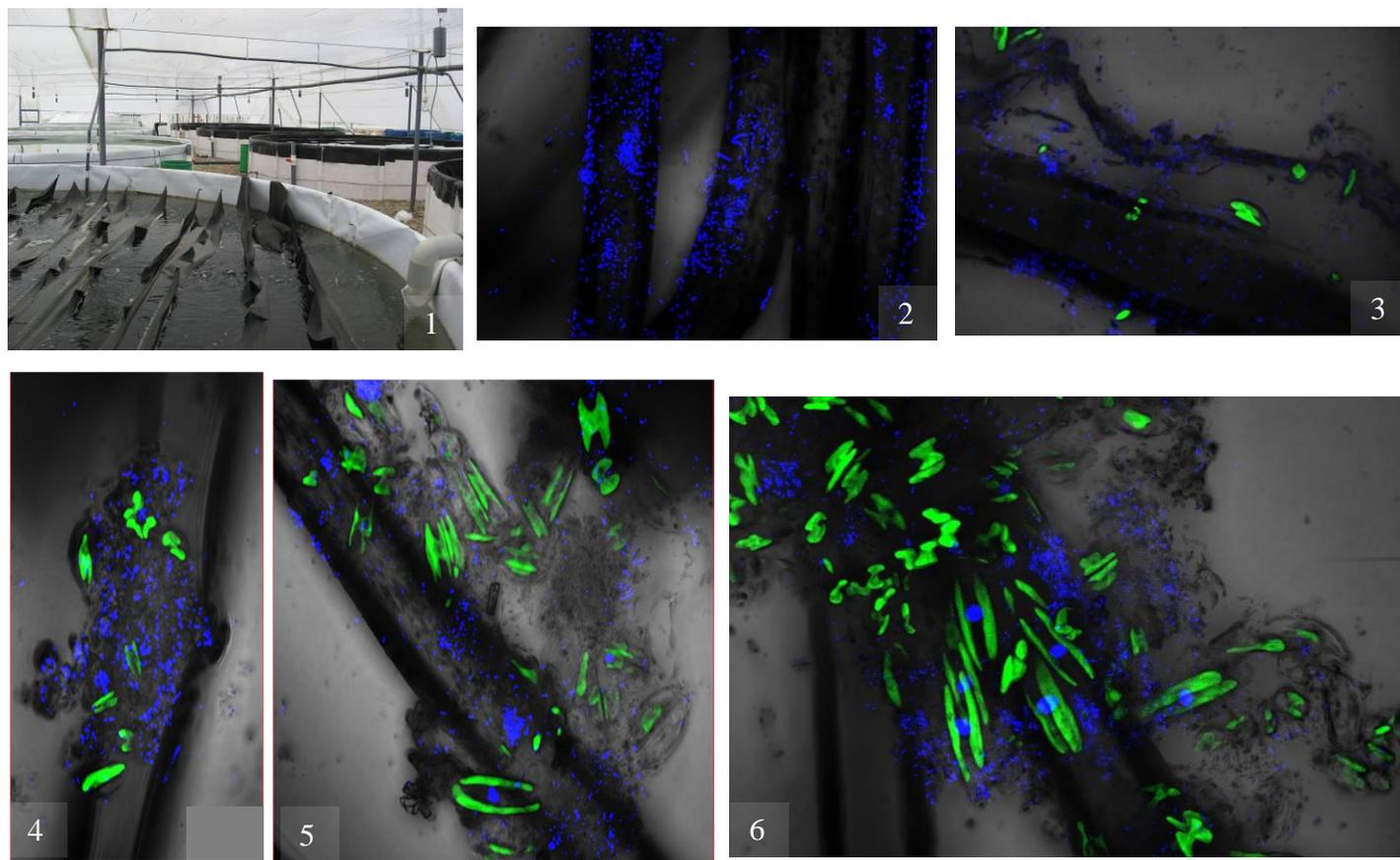


Figura 6; Proceso de construcción del perifitón domesticado monitoreado por LSCM. 1) Tanque de maduración con geotextil. 2) Colonización de las fibras por las bacterias fijadoras (azul) después de 18h de incubación Gr: 60X. 3) Colonización de las fibras por las bacterias fijadoras y diatomeas después de 1h post adición de las diatomeas Gr: 60X. 4) Colonización de las fibras por las bacterias fijadoras y diatomeas después de 6h post adición de las diatomeas Gr: 60X. 5) Colonización de las fibras por las bacterias fijadoras y diatomeas después de 12h post adición de las diatomeas Gr: 60X. 6) Colonización de las fibras por las bacterias fijadoras y diatomeas después de 24h post adición de las diatomeas Gr: 60X.

Evaluación del perifitón domesticado en condición de RW

Una primera evaluación realizada en triplicado evaluó el efecto de la adición del perifitón domesticado sin o con adición de alimento (al 50 o 100% de la dosis del control) sobre el cultivo en condición intensiva (Figura 7).

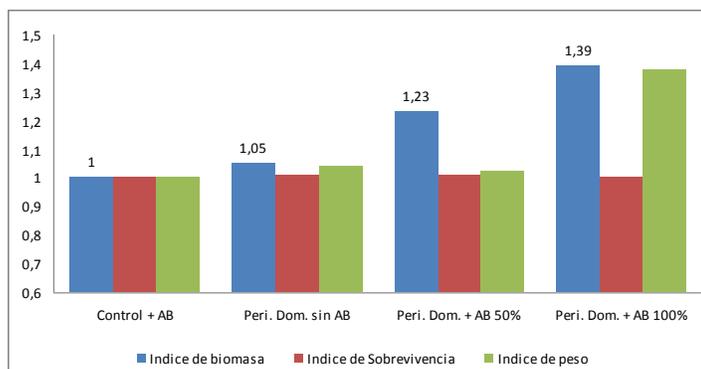


Figura 7; Evaluación en índice del efecto de la adición de perifitón domesticado a $1\text{m}^2/\text{m}^2$ con diferentes niveles de alimentación sobre Post larvas 9 de *L. vannamei* durante 11 días a $100/\text{m}^2$. AB: adición a sociedad de alimento balanceado.

En esta prueba, se observó que en estas condiciones, el uso del perifitón domesticado permite reemplazar al 100% el alimento balanceado. También, se notó que la adición de alimento al 50% o al 100% de la dosis distribuida al control permitía de aumentar la biomasa de los animales cultivados en 23% y 39% respectivamente con ganancias de biomasa principalmente en el incremento del peso.

- Domesticación de la microbiota intestinal.

Aislamiento e identificación bacteriana

Se logró constituir un cepario de 265 microorganismos asociados al aparato digestivo del camarón *L.vannamei*, diferenciados en 3 géneros de levaduras (*Saccharomyces*, *Moeszyomyces*, *Candida*), 11 géneros de bacterias cultivables de tipo Gram- y 3 géneros de tipo Gram+ (Figura 8). Estos números reflejan la grande dominancia de las bacterias de tipo Gram- con cerca del 82% de la población total de las bacterias aisladas con una predominancia del genero *Vibrio* con más del 50% de las bacterias aisladas.

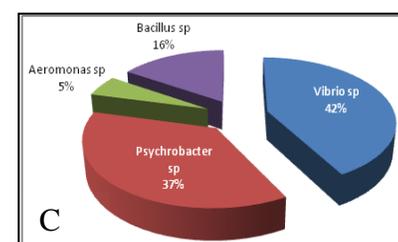
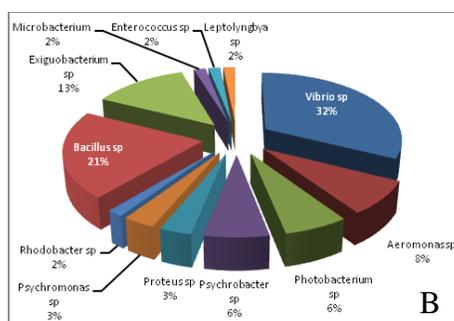
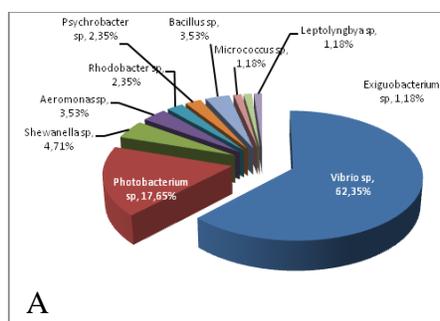


Figura 8; Proporción y identidad de bacterias cultivables aisladas de los tractos digestivos de *L. vannamei* en adultos (A), Juveniles (B) y Post larva (C).

Experimentos mono y multi específicos.

Los experimentos de colonización monoespecificos con cada cepa permitieron de evaluar la interacción microorganismo-huésped. La utilización de cepas de tipo *Exiguobacterium* sp., *Shewanella algae*, *Vibrios* sp., *Photobacterium* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Proteus* sp., *Psychrobacter* sp., *Psychromonas* sp. y de algunos tipos de *Bacillus* sp., provocaron retrasos en estadios larvarios, mortalidades, diversidades en tallas.... La adición de cepas de tipo *Exiguobacterium* sp., *Shewanella* sp., *Aeromonas* sp., *Rhodobacter* sp., no demostraron efectos. Por otro lado, los inoculos de algunas cepas microbianas mejoraron el peso individual *Bacillus* sp., *Shewanella* sp., (+30%) *Exiguobacterium* sp., *Aeromonas* sp. (+42%), o la supervivencia, 43% (*Bacillus* sp.), 57% (*Shewanella* sp.), con algunas cepas que mejoraron tanto sobrevivencia y peso individual por ejemplo *Bacillus* sp. (30% + 25%), *Shewanella* sp. (25% + 24%), *Aeromonas* sp. (30% + 18%).

Experimentaciones similares fueron repetidas en bioensayos de convencionalizacion multiespecificos y permitieron de formar mixes microbianos beneficos (Figura 9).

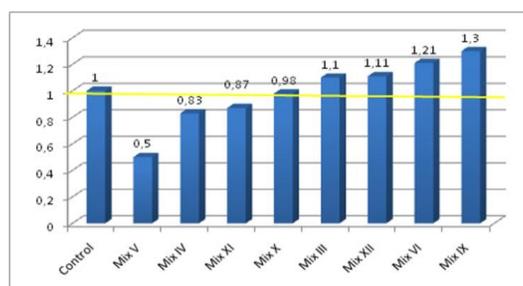


Figura 9; Efecto de la adición de diferentes cepas microbianas sobre la sobrevivencia del cultivo larvario de *L. vannamei* (Nauplius a Post Larva 5) en condiciones comerciales. Mix V: *Aeromonas* sp., *Proteus vulgaris*, *Photobacterium* sp., *Vibrio harveyi*, *V. Parahaemolyticus*, *V. campbelli*, *V. alginolyticus*. Mix IV: *Psychrobacter* sp., *Rhodobacter capsulatus*, *Shewanella* sp., *Psychromonas agarivoran*. Mix XI: *Bacillus megaterium*, *Exiguobacterium* sp. Mix X: *Bacillus* sp., *B. pumilus*, *B. amyloquefasciens*, *Exiguobacterium* sp. Mix III: *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. firmus*, *B. vallismortis*, *Microbacterium* sp., *Exiguobacterium* sp., *E. acetylicum*. Mix XII : *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. firmus*, *B. vallismortis*. Mix VI : *Vibrio alginolyticus* (3 cepas). Mix IX : *Bacillus firmus* (2 cepas).

Después de las enfermedades virales, las bacteriosis, y principalmente las vibriosis constituyen una causa importante de mortalidades en los cultivos, en particular, en los cultivos larvarios. Las vibriosis son enfermedades bacterianas resultantes de la producción masiva y coordinada de toxinas por *Vibrios*. Estas bacterias están naturalmente presentes en el ambiente. Su diversidad genética es aún desconocida pero seguramente sub evaluada si consideramos las pocas especies reportadas como

patógenas en los estudios de patología marina. Los vibrios poseen un sistema elaborado de comunicación conocido como *Quorum sensing*, el cual está basado en la producción extracelular de lactonas. Las lactonas, cuando sobrepasan ciertas concentraciones, actúan como inductores de numerosos genes relacionados con la bioluminiscencia, la formación de biopelícula (biofilm) o la producción de toxinas [5]. Sin embargo, existen bacterias antagonistas a los vibrios que han desarrollado un sistema de inhibición del *Quorum sensing* llamado el *Quorum Quenching* que consiste en degradar la lactona a través de la producción de una enzima conocida como lactonasa [6]. Algunas de las cepas aisladas durante el proyecto fueron caracterizadas como lactonasa positiva por PCR y incluidas en los mix. Para evaluar el efecto antagonista de los algunos de los mix producidos en este estudio, bioensayos de infecciones experimentales fueron realizados frente a cepas de vibrios patógenos (Figura 10).

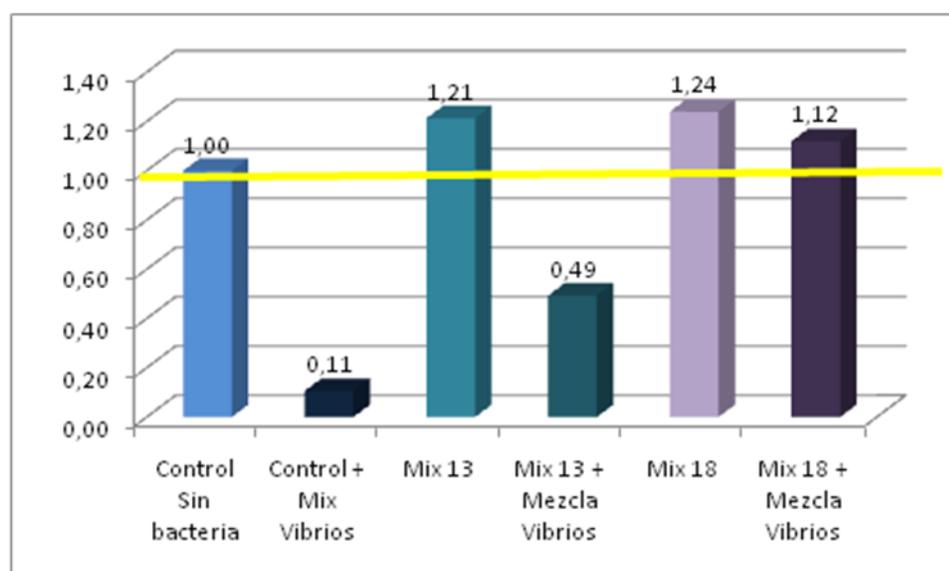


Figura 10; Efecto de la adición de mix microbianos sobre la sobrevivencia larvaria de *L. vannamei* sometidas a infección experimental con vibrios.

Los resultados obtenidos confirmaron que los mixes bacterianos incrementan las sobrevivencias de los cultivos frente a cultivos no inoculados (control). En presencia de vibrios patógenos, la adición de un conjunto de bacterias lactonasa-positivas dentro del cultivo larvario (de nauplius a Post Larva 5) permitió de proteger con eficiencia los animales con sobrevivencias de 4 a 10 veces más altas que el control con Vibrios patógenos. Se puede destacar que el mix 18 con vibrio incluso presento una mejor sobrevivencia que el control sin vibrios (+12%).

Evaluación de la colonización del tracto digestivo por LSCM

Como demostrado anteriormente los beneficios de los mixes permitieron prevenir de forma eficaz las vibriosis, y de mejorar la sobrevivencia. Un aspecto primordial en el uso de probióticos reside en su capacidad a colonizar de manera permanente el tracto

digestivo del animal para actuar en continuo. En efecto, el antagonismo de los probióticos pasa tanto por la producción de moléculas que afectan los patógenos como también por la ocupación del tracto digestivo que impide su colonización por patógenos. Para evaluar el potencial de asimilación y fijación de los mix bacterianos seleccionados, pruebas de visualización de las comunidades microbianas fueron realizadas por LSCM. Para ello, fluorochromos fueron adicionados a los mix justo antes de ser inoculados en estadios tempranos (Nauplius III). Las fotos a continuación (Figura 11) permiten visualizar la presencia de las bacterias dentro de una Zoea I, 36h post inoculación.

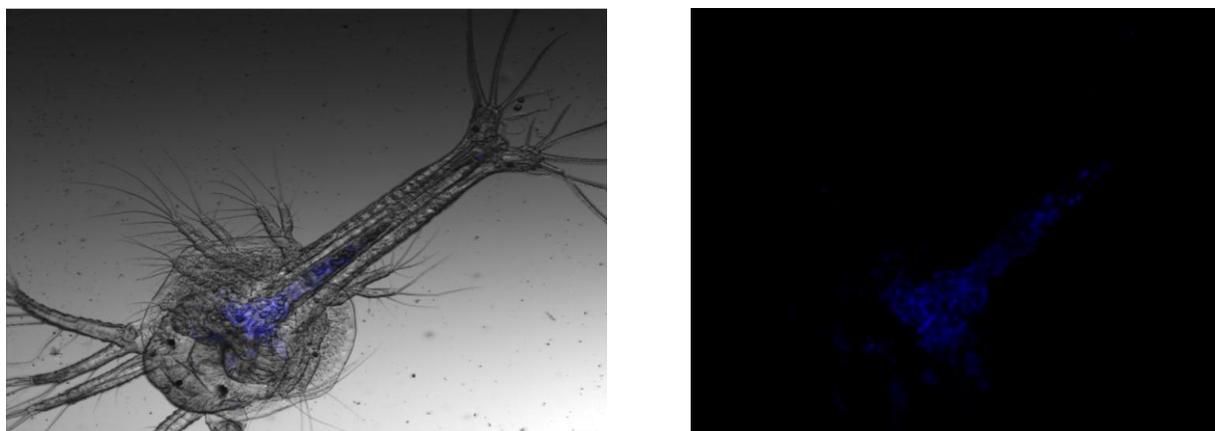


Figura 11; Visualización por LSCM de la colonización de tracto digestivos de Zoea I de *L. vannamei* con un mix bacteriano seleccionado (Azul). Gr: 10X.

Estos resultados demuestran que la flora microbiana inoculada está efectivamente ingerida y coloniza el tracto digestivo de las larvas lo que asegura una colonización controlada y reproducible del tracto digestivo de las larvas.

Conclusión

Hasta la actualidad, las actividades acuícolas se focalizaron en los aspectos zootécnicos y genéticos para aumentar los rendimientos y las utilidades. Los resultados presentados en este artículo demostraron que la domesticación de las floras microbianas permite también incrementar de forma eficiente la productividad.

A la diferencia de un perifitón natural o espontáneo, el perifitón domesticado desarrollado en este proyecto está compuesto exclusivamente de microorganismos benéficos para el cultivo de camarón. La construcción del perifitón domesticado es un proceso dominado y reproducible que nos ha permitido reducir la tasa de alimentación artificial y incrementar los rendimientos.

La domesticación de la flora microbiana intestinal nos permitió colonizar de forma reproducible el tracto digestivo de las larvas, brindando mayor sobrevivencia y resistencia a enfermedades bacterianas.

El concepto de domesticación de los microorganismos benéficos asociados al cultivo de camarones tiene que ser extrapolado a otros sistemas como los bioflocs, los filtros biológicos.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer al instituto del mar de Perú (IMARPE), a la Universidad Nacional de Tumbes y a la empresa Inversiones Silma SAC, Pacifico Azul, Domingo Rodas, por su participación en el proyecto.

Referencias

- [1] Van Dam, A. A., Beveridge, M. C. M., Azim, M. E., and Verdegem, M. C. J.,(2002).- **The potential of fish production based on periphyton**, - Reviews in Fish Biology and Fisheries, Vol. 12(1), 1-31.
- [2] Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JL, (1998). **Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology**. Microbiol Mol Biol Rev;62:1157-70.
- [3] Callow, J. A and Callow, M. E.,(2006).- **Biofilms**, - In: Fusetani, N and Clare, AS (Eds), Antifouling Compounds. Progress in Molecular and Subcellular Biology, Sub-series Marine Molecular Biotechnology. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg., 141-169.
- [4] Avendano, H., Ruben, E. and Riquelme, C.E.,(2007).- **Production of a diatom-bacteria biofilm in a photobioreactor for aquaculture applications**, - Aquacultural Engineering, Vol. 36(2), 97-104.
- [5] Miller, M. B. and Bassler B. L. (2001). "**Quorum sensing in bacteria.**" *Annu Rev Microbiol* **55**: 165-99.
- [6] Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W., Bossier, P. (2007). **Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example**. Trends in Biotechnology 25, 472-479.