



ALLIANCE™

[.https://www.globalseafood.org](https://www.globalseafood.org)Health &
Welfare

Caracterización de comunidades bacterianas en el agua, intestino del camarón azul del Pacífico

11 November 2019

By Emilie Cardona , Yannick Gueguen , Kevin Magré , Bénédicte Lorgeoux , David Piquemal , Fabien Pierrat , Florian Noguier and Denis Saulnier

El ambiente de cultivo interactúa con las comunidades microbianas intestinales



El estudio caracteriza a las comunidades microbianas de muestras de agua obtenidas de diferentes camarones, incluidos el camarón azul del Pacífico (*Litopenaeus stylirostris*), diferentes entornos de cultivo y los intestinos de camarones criados en cada uno. Foto de Darryl Jory.

En los sistemas de tecnología de biofloc de camarones (BFT), la comunidad microbiana significativa resultante puede servir como un sistema de tratamiento de calidad del agua del estanque y la proteína microbiana producida puede ser utilizada por los camarones como alimento. Un problema de los sistemas BFT de camarones es la dificultad de controlar la composición de la comunidad bacteriana biofloc para obtener una calidad óptima del agua y una salud animal óptima. Por lo tanto, una prioridad de investigación es evaluar, medir y describir la compleja comunidad de biofloc microbiano y desarrollar métodos que establezcan comunidades microbianas diversas y estables.

Muchos autores suponen que, al consumir la productividad natural, los camarones ingieren las bacterias presentes en las partículas de alimentos. También sabemos que la composición de las comunidades bacterianas acuáticas en los estanques tiene una fuerte influencia en la microbiota bacteriana interna de los animales marinos de granja. Esto puede desempeñar un papel en la nutrición, la inmunidad y la resistencia a las enfermedades de los animales cultivados. Sin embargo, existe información limitada y disponible sobre las comunidades bacterianas presentes en el agua de cultivo o sobre la interacción de este ambiente microbiano con las bacterias de la microbiota del camarón. Un paso importante para la mejora y optimización de la tecnología biofloc es la caracterización y el control de su comunidad microbiana.

Este artículo, adaptado y resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0770-z>), informa sobre un estudio para caracterizar comunidades microbianas de muestras de agua obtenidas de diferentes ambientes de cultivo de camarones (camarones azules del Pacífico, *Litopenaeus stylirostris*) (tecnología de biofloc y agua de mar clara), así como de los intestinos de camarones criados en ambos ambientes, y para evaluar el impacto del ambiente de cultivo en la microbiota de camarones.

Configuración del estudio

Los juveniles de camarón azul del Pacífico (con un peso de $4,45 \pm 1,27$ gramos) fueron asignados aleatoriamente durante 35 días a dos tipos de condiciones de crecimiento, las cuales tenían una biomasa media inicial de camarones de 900 gramos por metro cuadrado: agua de mar clara (CW) y tecnología de biofloc (BFT)) El experimento se realizó en 18 tanques de poliéster de 250 litros al aire libre en el Centro Técnico Acuacole de Vairao, Polinesia Francesa (Centro Técnico de Acuicultura de Tahití), con seis réplicas para agua CW y 12 réplicas para tanques BFT.



(<https://link.chtbl.com/aquapod>).

Cada tanque se aireó continuamente y se cubrió con una red de sombra para limitar la luz solar (70 por ciento de inhibición de la luz). El agua del tanque se intercambiaba diariamente al 300 por ciento en el tratamiento CW y al 3 por ciento en el tratamiento BFT. Para equilibrar la relación carbono: nitrógeno (C: N) y fomentar el desarrollo de bacterias heterotróficas en el BFT, se agregó melaza de caña de azúcar diariamente para obtener un C: N de 20: 1. Los camarones se alimentaron dos veces al día con un alimento comercial de engorde de camarones con un 40 por ciento de proteína.

Una vez por semana, se tomaron muestras de 60 ml de agua de cultivo de BFT por tanque y se filtraron a través de un filtro de $0,22 \mu\text{m}$. El agua de cultivo de CW se muestreó de la misma manera pero solo dos veces durante el período de cría; consideramos que con la mayor renovación de agua (300 por ciento por día), las comunidades bacterianas no cambiaron durante el cultivo y asumimos que la composición y diversidad del influente original eran muy similares a las del sistema de cultivo de CW. Al final del experimento, los camarones no fueron alimentados durante 24 horas antes del muestreo. Luego se tomaron muestras aleatorias de tres animales de cada tanque y se diseccionaron y preservaron sus intestinos para varios análisis de laboratorio.

Para información detallada sobre el diseño experimental; cría de camarones; monitoreo de la calidad del agua; muestreo de agua e intestino; Extracción de ADN; Amplificación por PCR de genes 16SrNA y secuenciación de próxima generación; y análisis de datos, consulte la publicación original.

Resultados y discusión

Para la diversidad y composición bacteriana en el agua de cría de BFT y CW, se obtuvieron un total de 4,141,873 secuencias para el agua de cultivo con un promedio de 108,997 lecturas por muestra ($n = 38$). Las secuencias se agruparon en unidades taxonómicas operativas (OTU; una definición operativa utilizada para clasificar grupos de individuos estrechamente relacionados) en el nivel de similitud de 0.97. La riqueza de OTU del agua varió de 435.02 ± 55.81 por muestra en el tratamiento CW a 277.59 ± 23.02 en el tratamiento BFT.

Aunque la diversidad bacteriana fue similar, la distribución de frecuencias de los filos bacterianos difirió entre los tratamientos (Tabla 1). Las proteobacterias fueron el filo más abundante en el agua de ambos tratamientos. En este estudio, su abundancia relativa osciló entre 50.4 por ciento para CW y 60.0 por ciento para BFT. Este filo está ampliamente disperso en el medio marino y juega un papel importante en el proceso del ciclo de nutrientes y la mineralización de compuestos orgánicos.

Cardona, camarón azul, Tabla 1

Filo bacteriano	CW	BFT
Proteobacteria	50.4	60.07
Bacteroidetes	30.04	21.86
Cyanobacteria	12.96	8.48
Euryarchaeota	2.77	0
Actinobacteria	2.2	2.13
Planctomycetes	0.36	1.58
Verrumicrobia	0.33	1.37
Chloroflexi	0.31	0.31
Crenarchaeota	0.17	0

Tabla 1. Abundancia relativa de los filos bacterianos identificados con mayor frecuencia (> 0.1 por ciento de la secuencia total) en agua de diferentes condiciones de cría (agua clara, CW; y biofloc, BFT).

Bacteroidetes fue el segundo filo más abundante, con una abundancia relativa que oscila entre 30.0 por ciento para CW y 21.9 por ciento para BFT. Este filo es un miembro dominante del bacterioplancton heterotrófico marino y con frecuencia se encuentra colonizando partículas macroscópicas de materia orgánica. Finalmente, las cianobacterias fueron el tercer filo más abundante, con una abundancia relativa que oscila entre 13.0 por ciento para CW y 8.5 por ciento para BFT. En total, estos tres filamentos representaban más del 90 por ciento del total de bacterias.

En agua BFT, Leucothrix (20.1 por ciento), Rhodobacteraceae (16.4 por ciento), Stramenopiles (8.0 por ciento), Oceanospirillaceae (5.5 por ciento) y Saprospiraceae (4.7 por ciento) fueron las unidades taxonómicas operativas más dominantes. En las condiciones de CW, Cryomorphaceae (24.6 por ciento), Pelagibacteraceae (10.1 por ciento), Stramenopiles (8.4 por ciento), Glaciecola (5.6 por ciento) y Colwelliaceae (4.9 por ciento) fueron los taxones más representados.

Se evidenció un alto nivel de variabilidad en las comunidades bacterianas más frecuentes en el transcurso del cultivo de BFT (Fig. 1), que podría deberse a cambios en los factores ambientales bióticos y abióticos. En el sistema BFT, varios parámetros fisicoquímicos y biológicos como la clorofila *a* (Chl *a*), el nitrógeno-nitrito y el nitrógeno amoniacal total cambiaron con el tiempo, mientras que estos parámetros fueron estables y cercanos a cero en el sistema CW (Fig.2).

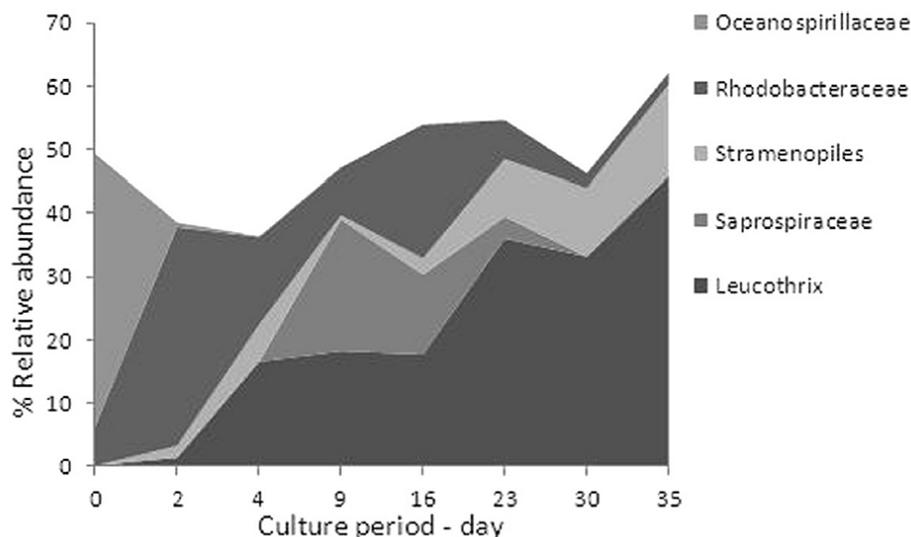


Fig. 1: Cambios en la abundancia relativa de los cinco taxones bacterianos principales en el tratamiento con BFT durante el estudio.

Fig. 2: Evolución de las concentraciones de $\text{NO}_2 - \text{N}$, $\text{NH}_4 + -\text{N}$ y clorofila a durante el estudio.

En nuestro estudio, la familia Rhodobacteraceae podría haber limitado la supervivencia de las bacterias patógenas en el BFT en comparación con el ambiente CW. Otra sugerencia para explicar la menor abundancia de *Vibrio* en BFT es que los bioflocs mostraron actividad de control biológico contra *Vibrio harveyi*, cuya virulencia puede regularse mediante el proceso de comunicación de célula a célula llamada detección de quórum.

Observamos que el entorno CW albergaba comunidades de géneros bacterianos que eran distintos de los encontrados en el entorno BFT. De hecho, los resultados de porcentajes de similitud revelaron que los perfiles de las muestras de agua de cada tratamiento eran distintos, con un 89 por ciento de disimilitud. El análisis de porcentaje de similitud mostró que los géneros *Photobacterium*, *Leucothrix* y *Vibrio* fueron los tres taxones principales en la raíz de la diferencia (16.5, 12.1 y 4.1 por ciento, respectivamente) entre muestras de agua de los dos tratamientos.

Podemos explicar la diferencia en las comunidades bacterianas entre los ambientes BFT y CW por los altos niveles de materia orgánica y las concentraciones de nutrientes presentes en biofloc. El tratamiento con biofloc se caracterizó por bacterias pertenecientes a taxones como Gammaproteobacteria Thiotrichaceae Leucothrix, Alphaproteobacteria Rhodobacteraceae y Bacteroidetes Saprospiraceae, que pueden usar compuestos de materia orgánica y nitrógeno para crecer y requieren un sustrato para crecer. Estas dos condiciones se encuentran en el sistema BFT, que es particularmente rico en materia orgánica y partículas suspendidas en la columna de agua.

Se obtuvieron un total de 963,352 secuencias para muestras de intestino, con un promedio de 118,843 lecturas por muestra de CW (n = 3) y 151,702 lecturas por muestra de BFT (n = 4). La riqueza OTU de las muestras de intestino varió de 239.00 ± 31.11 por muestra en el tratamiento CW a 196.25 ± 9.00 en el tratamiento BFT. En la Tabla 2 se presenta la abundancia relativa de bacterias de orden principal en las muestras de intestino de ambos tipos de condiciones de crecimiento.

Cardona, camarón azul, Tabla 2

Taxones	CW	BFT
Gammaproteobacteria Vibrionales	69.18	58.6
Alphaproteobacteria Rhodobacterales	12.99	2.02
Chloroplast Stramenopiles	10.53	0.14
Bacteroidia Bacteroidales	0.01	6.74
Flavobacteriia Flavobacteriales	1.87	5.53
Gammaproteobacteria Alteromonadales	1.57	1.11
Mollicutes	1.29	5.95

Tabla 2. Abundancia relativa de los órdenes bacterianos identificados con mayor frecuencia (> 1 por ciento de las secuencias totales) en los intestinos de camarones de dos tipos diferentes de condiciones de cultivo (agua clara, CW; y biofloc, BFT).

Los camarones no habían comido ningún alimento comercial durante 24 horas antes del muestreo, y las bibliotecas BFT y CW de las muestras de intestino estaban dominadas principalmente por un orden afiliado a Gammaproteobacteria Vibrionales. Este orden está mejor representado en los intestinos de camarones criados en CW (69.2 por ciento de las secuencias totales) que en los camarones criados en BFT (58.6 por ciento de las secuencias totales). Este grupo de bacterias ha sido reportado previamente en una alta abundancia relativa en los intestinos de otras especies de camarones como *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon* y *Fenneropenaeus chinensis*.

La familia Pseudoalteromonadaceae representó 8.2 y 0.8 por ciento en los intestinos de camarones de los tratamientos CW y BFT, respectivamente. La familia Vibrionaceae representó 57.6 y 54.5 por ciento en el intestino del camarón de los tratamientos CW y BFT, respectivamente. *Photobacterium* representó del 82 al 89 por ciento de Vibrionaceae en la secuencia total de todos los intestinos de camarones, mientras que *Vibrio* representó el resto.

Las OTU bacterianas en el agua de cultivo y el intestino del camarón se investigaron con respecto al tratamiento y se muestran cuantitativamente en el diagrama de Venn en la Fig. 3. Los análisis revelaron que se compartieron 198 OTU entre todos los tipos de muestra, lo que corresponde al 10.7 por ciento del total de OTU. El diagrama enfatiza claramente que las muestras de agua tienen un gran conjunto de OTU que no se encuentran en los intestinos [251 (24.5 por ciento) y 186 (28.2 por ciento) en agua de BFT y CW, respectivamente, con 184 OTU (33.6 por ciento) en común], que contrasta con el bajo número de OTU que se encuentran exclusivamente en el intestino [12 (1.1 por ciento) y 16 (2.3 por ciento) de BFT y CW, respectivamente, 3 OTU (1.5 por ciento) en común]. Este resultado confirmó que la flora encontrada en el agua es sustancialmente más diversa que la de los intestinos de camarones.

Fig. 3: Diagrama de Venn que muestra las OTU únicas y compartidas (3 por ciento del nivel de distancia) en las diferentes bibliotecas: intestinos BFT y CW, agua BFT y CW.

Investigaciones previas han propuesto que la microbiota intestinal del camarón se origina en su ambiente de cultivo. En nuestro estudio, los perfiles de las comunidades bacterianas intestinales de cada tratamiento fueron distintos (solo un 27 por ciento de similitud). Además, los resultados mostraron que la composición de las comunidades bacterianas en los intestinos del camarón azul del Pacífico del tratamiento CW fue relativamente similar a la del ambiente de cultivo y reveló una similitud del 35 por ciento entre el agua CW y las muestras de intestino. Los resultados también sugieren que la composición bacteriana del agua BFT influyó en la del intestino, pero las bacterias intestinales BFT tenían diferencias específicas con las del intestino CW.

Perspectivas

Nuestro estudio exploró la diversidad de comunidades bacterianas mediante la aplicación de secuenciación de ARN 16S de próxima generación a diferentes entornos de cultivo (BFT y CW) e intestinos de camarones azules del Pacífico criados en ambos entornos. Los resultados demostraron, primero, que el agua albergaba una notable diversidad de comunidades bacterianas y que cuatro de las cinco comunidades bacterianas más importantes eran diferentes entre los métodos de cultivo. Segundo, este estudio mostró que el ambiente de cultivo interactúa con las comunidades microbianas intestinales.

Los resultados de nuestra investigación proporcionan información descriptiva sobre una comunidad bacteriana asociada con el cultivo en biofloc del camarón azul del Pacífico, y su influencia en la microbiota intestinal de los animales, que se puede aplicar en más investigaciones sobre inmunidad, resistencia a enfermedades y nutrición del camarón cultivado.

Authors



EMILIE CARDONA

Ifremer, UMR 241 EIO, UPF-ILM-IRD
Labex Corail, B.P. 7004, 98719
Taravao, Tahiti, French Polynesia



YANNICK GUEGUEN

Ifremer, UMR 241 EIO, UPF-ILM-IRD
Labex Corail, B.P. 7004, 98719
Taravao, Tahiti, French Polynesia



KEVIN MAGRÉ

Ifremer, UMR 241 EIO, UPF-ILM-IRD
Labex Corail, B.P. 7004, 98719
Taravao, Tahiti, French Polynesia

**BÉNÉDICTE LORGEUX**

Ifremer, UMR 241 EIO, UPF-ILM-IRD
Labex Corail, B.P. 7004, 98719
Taravao, Tahiti, French Polynesia

**DAVID PIQUEMAL**

ACOBION, 1682 rue de la Valsière
Cap Delta - CS77394, 34184
Montpellier Cedex 4, France

**FABIEN PIERRAT**

ACOBION, 1682 rue de la Valsière
Cap Delta - CS77394, 34184
Montpellier Cedex 4, France

**FLORIAN NOGUIER**

ACOBION, 1682 rue de la Valsière
Cap Delta - CS77394, 34184
Montpellier Cedex 4, France

**DENIS SAULNIER**

Corresponding author
Ifremer, UMR 241 EIO, UPF-ILM-IRD
Labex Corail, B.P. 7004, 98719
Taravao, Tahiti, French Polynesia

denis.saulnier@ifremer.fr (<mailto:denis.saulnier@ifremer.fr>)

Copyright © 2024 Global Seafood Alliance

All rights reserved.