



Alliance

(<https://www.aquaculturealliance.org>)



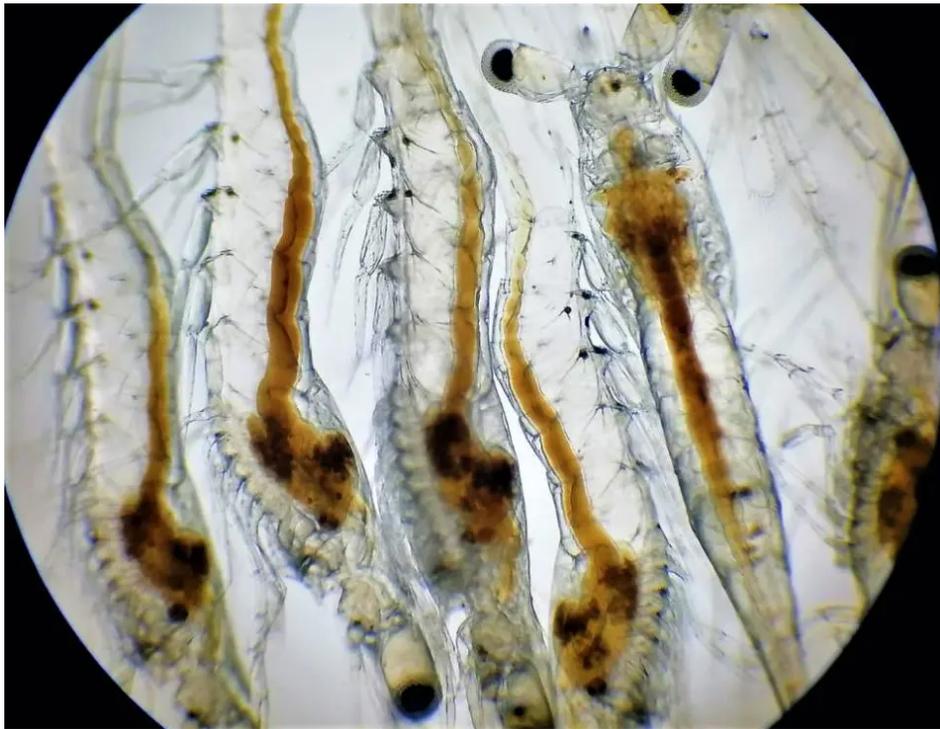
Health & Welfare

Vibrio metabólicamente activo en el tracto digestivo del camarón postlarval

Monday, 5 April 2021

By Estefanía Garibay-Valdez, Ph.D. , Luis Rafael Martínez-Córdova, Ph.D. , Marco A. López-Torres , F. Javier Almendariz-Tapia, Ph.D. , Marcel Martínez-Porchas, Ph.D. and Kadiya Calderón, Ph.D.

Los resultados muestran que la población de *Vibrio* del intestino del camarón *L. vannamei* está asociada con la etapa de desarrollo y el medio ambiente



Este estudio evaluó la presencia y abundancia de poblaciones de *Vibrio* y la composición bacteriana en los intestinos de *L. vannamei* durante el desarrollo ontogenético post-larvario y en su agua de cultivo, y la correlación de estas con parámetros ambientales. Foto de Fernando Huerta.

Las enfermedades del camarón causadas por bacterias oportunistas son un problema importante que puede causar pérdidas considerables a la industria de la acuicultura. Las principales enfermedades del camarón son causadas por patógenos bacterianos principalmente de especies de *Vibrio* que causan necrosis, crecimiento lento, anorexia y mortalidad durante el desarrollo post-larvario del camarón.

La investigación sobre las enfermedades causadas por *Vibrio* debe centrarse en las interacciones bióticas entre el medio ambiente, el huésped y las fracciones patógenas y no patógenas de las comunidades microbianas. Por ejemplo, los *Vibrio* patógenos pueden interactuar con las comunidades simbióticas y la microbiota del huésped [comunidades ecológicas de microorganismos comensales, patógenos y simbióticos que se encuentran en y sobre todos los organismos multicelulares] para invadir el intestino del huésped, manipulando su biomecánica para redefinir las comunidades intestinales.

En general, comprender los procesos ecológicos implicados en las enfermedades es complicado debido a la gran diversidad de las poblaciones de *Vibrio* y porque las interacciones bióticas dentro y entre las comunidades microbianas modifican la expresión de la enfermedad en diferentes niveles.

De la misma manera, las comunidades microbianas podrían brindar protección a los huéspedes contra infecciones patógenas porque algunos microorganismos producen complejos antimicrobianos. Además, la microbiota intestinal del camarón se ha vuelto más relevante debido a nuestro conocimiento de sus interacciones biológicas. Estudiar aspectos relacionados con el comportamiento de la microbiota intestinal puede contribuir a nuestra comprensión de estas complejas comunidades.

A pesar de los esfuerzos para mejorar la producción de camarón, solo hay unos pocos estudios basados en la ecología microbiana que relacionan la aparición de grupos microbianos patógenos relevantes y las actividades metabólicas de estos grupos, causando disbiosis [una mala adaptación o desequilibrio microbiano en o dentro del cuerpo, como un microbiota alterada] en *L. vannamei*, que está relacionada con su desarrollo ontogenético.

Este artículo – adaptado y resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.1038/s41598-020-68222-9>) [Garibay-Valdez, E. et al. 2020. The implication of metabolically active *Vibrio* spp. in the digestive tract of *Litopenaeus vannamei* for its post-larval development. Sci Rep 10, 11428] – evaluó el vínculo entre la presencia / abundancia de poblaciones de *Vibrio* y la composición bacteriana en el intestino del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) durante el desarrollo ontogenético post-larval y en su agua de cultivo, y la correlación de estos con parámetros ambientales.

Configuración del estudio

Las postlarvas de *L. vannamei* (PL5) de la granja acuícola Parque Acuícola Cruz de Piedra (Guaymas, Sonora, México) fueron transportadas en tanques aireados con el mismo agua del estanque que la granja al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS). Se realizó un bioensayo con camarones sanos, cada uno con un peso de 0.5 ± 0.1 gramos, y las postlarvas se distribuyeron al azar en el sistema de recirculación acuícola (RAS) del laboratorio. El agua de mar influyente se filtró y se hizo pasar a través de una lámpara UV para su esterilización. Las unidades de cultivo RAS tenían aireación mecánica y la salinidad del agua se mantuvo en alrededor de 35 ppt con la adición de agua esterilizada para evitar la incorporación de bacterias externas y compensar la evaporación.

El bioensayo comenzó con 40 PL5 sembradas al azar en cada unidad de cultivo, y el experimento duró 80 días. A lo largo del experimento, los camarones se alimentaron dos veces al día a una tasa del 4 por ciento de biomasa húmeda / día utilizando bandejas de alimentación con el mismo alimento formulado que consistía en alimento comercial granulado de engorde. Se diseccionaron muestras de intestinos y se recolectaron muestras de agua para su análisis mediante la reacción en cadena de la polimerasa [un método ampliamente utilizado para hacer rápidamente de millones a miles de millones de copias de un ácido desoxirribonucleico específico (ADN, molécula que lleva instrucciones genéticas para el desarrollo, funcionamiento, crecimiento y reproducción de todos los organismos conocidos) muestra, lo que permite amplificar una muestra muy pequeña de ADN a una cantidad lo suficientemente grande para estudiarla en detalle].

Las poblaciones totales y metabólicamente activas de *Vibrio* en el tracto digestivo del camarón durante su desarrollo post-larvario se analizaron mediante PCR cuantitativa (qPCR; para estimar la cantidad de material de partida en una muestra) y qPCR de transcripción inversa [RT-PCR; mide la cantidad de un ARN específico (ácido nucleico esencial en varias funciones biológicas en la codificación, decodificación, regulación y expresión de genes)] dirigido a una secuencia del gen de 16 S rARN [utilizado en la reconstrucción de filogenias (la historia evolutiva y las relaciones entre o dentro de grupos de organismos), debido a las lentas tasas de evolución de esta región del gen].

Para obtener información detallada sobre la configuración experimental y la cría de animales; recolección de muestras de intestino y agua y extracción de ADN y ARN; ensayos de qPCR y RT-qPCR; y análisis estadísticos, consulte la publicación original.

Resultados y discusión

Para evaluar el crecimiento de *L. vannamei* en nuestro ensayo, se realizaron análisis biométricos, demostrando diferencias significativas en función de la etapa de desarrollo del camarón, observándose dos etapas principales. La primera incluyó animales del día 1 al 40, donde su crecimiento fue notorio, y la segunda etapa abarcó camarones que estaban creciendo pero a un ritmo mucho menor, no registrándose diferencias significativas entre los días 60 y 80. El primer grupo correspondió a camarones durante la primera etapa de desarrollo postlarval, mientras que el segundo grupo correspondió a camarones en el sexagésimo día de desarrollo, cuando los camarones se consideraron juveniles.

Estimamos la tasa de crecimiento específico (SGR; el aumento en la masa celular por unidad de tiempo) para explicar la tasa de aumento de la población de *L. vannamei* de un día de muestreo a otro, con cada intervalo perteneciente a una etapa de desarrollo. Hubo diferencias significativas en el SGR entre todos los estadios post-larvarios. Desde la primera etapa, el SGR fue de 5,60 por ciento por día, seguido de la segunda etapa con 4,24 por ciento por día. En las etapas III y IV, la SGR de camarones disminuyó a 1,36 por ciento y 0,33 por ciento por día, respectivamente, con una SGR global de 2,88 por ciento por día para todo el bioensayo. No se encontraron diferencias significativas entre las etapas de desarrollo con respecto a la calidad del agua: temperatura (24,8 a 25,4 grados-C), salinidad (35,36 a 36,25 ppt), OD (6,4 a 6,9 mg por L, y pH (8,1 a 8,4).

Los requerimientos nutricionales del camarón cambian según su desarrollo y comportamiento biológico. Reportes anteriores demostraron que el perfil enzimático intestinal difiere entre cada etapa para lograr una mejor absorción de nutrientes. Otros investigadores demostraron que la tasa de crecimiento individual del camarón está asociada a su microbiota ya que organismos de la misma edad y tiempo de cultivo pueden tener diferencias en su tasa de crecimiento, y presentan similitudes entre el ensamblaje de la comunidad intestinal según su crecimiento. En nuestro estudio, hubo una tasa de crecimiento significativamente mayor durante la fase postlarval en comparación con la fase juvenil-adulta.

Basado en los análisis de qPCR y RT-qPCR, se demostró que la abundancia de la comunidad bacteriana total (16S rADN y 16S rARN) en el intestino del camarón era estable desde el día 20 en adelante. Antes de eso, las muestras del control eran significativamente más bajas que en otros días de cultivo. A pesar de esto, algunos factores – como las enfermedades, la nutrición y el medio ambiente – pueden regular la microbiota intestinal. Nuestros resultados sugieren que ocurre un proceso de colonización durante la fase post-larvaria, alcanzando estabilidad durante la fase juvenil a adulta, reduciendo el riesgo de disbiosis. Sin embargo, nuestros resultados demostraron que la presencia de bacterias metabólicamente activas disminuyó en los días 40 y 60 de cultivo, y la cantidad de esta bacteria aumentó el día 80, sin diferencias significativas en los días 0 y 20.

La abundancia total de la comunidad bacteriana en las muestras de agua fue constante durante el bioensayo, excepto para el control (día 0) donde la abundancia fue significativamente mayor. Sin embargo, la abundancia de bacterias metabólicamente activas fue la más alta el día 80, y la abundancia fue significativamente mayor que los días 0, 20 y 60. Estudios previos han revelado que tanto los camarones como el agua de cultivo comparten la misma composición bacteriana, lo que significa que los camarones pueden tener conjuntos bacterianos similares a los de sus medios de cultivo. Además, la riqueza de especies tiende a ser mayor en las muestras de agua que en la microbiota del camarón intestinal.

Previamente, otros autores habían reportado que los aumentos en la comunidad de *Vibrio* o las variaciones bacterianas específicas en los intestinos o el agua de los camarones se consideran indicadores de enfermedad. Sin embargo, su presencia también podría estar asociada con su desempeño metabólicamente activo, pero esto no está determinado solo por su ocurrencia. Los investigadores han demostrado que la proporción de la población de *Vibrio* en la microbiota intestinal del camarón fue mayor durante la etapa de vivero (2,02 por ciento) que en la etapa de cosecha (0,64 por ciento), lo que demuestra que la microbiota de la etapa de cosecha es más diversa que la microbiota de vivero.

Los resultados de este estudio demuestran que la abundancia relativa total de *Vibrio* spp. en los intestinos del camarón es mayor que su actividad metabólica. Esto concuerda con otros estudios previos, donde se evaluó la activación del sistema inmunológico innato del camarón (camarón Kuruma, *Marsupenaes japonicus* y *L. vannamei*) en respuesta a infecciones por *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, demostrando que podían activar su sistema de defensa en la presencia de microorganismos potencialmente patógenos, que activan genes que tienen actividades relacionadas con los mecanismos de respuesta inmune. Por lo tanto, podría estar ocurriendo una presión biológica selectiva ejercida por el huésped sobre la actividad metabólica de estas bacterias, mientras se estimula el sistema inmunológico del camarón al funcionar como un probiótico natural necesario para el ciclo de vida del huésped.

Perspectivas

Nuestros resultados brindan una descripción general de las interacciones entre la microbiota intestinal del camarón *L. vannamei* y su entorno, enfatizando la proporción y correlación entre el *Vibrio* total y metabólicamente activo. Tanto la población total como activa de *Vibrio* indicaron que existe una colonización de esta bacteria en el intestino del camarón blanco a lo largo de su desarrollo post-larvario, pero con baja actividad metabólica. Por tanto, *Vibrio* forma parte de la microbiota intestinal del camarón, y podría estar jugando un papel dualista, involucrado en una relación simbiótica entre el organismo y la estructura de la comunidad bacteriana de la microbiota intestinal, actuando como patógeno oportunista en determinadas circunstancias.

Nuestros datos sugieren que el resto de la microbiota probablemente podría regular la actividad de *Vibrio*, posiblemente estableciendo un mecanismo de coexistencia que no afecte al huésped, proporcionando las condiciones para que prospere la comunidad microbiana. En contraste, la abundancia de la población de *Vibrio* metabólicamente activa fue mayor en el agua de cultivo, a pesar de su baja abundancia total. Finalmente, nuestros resultados demuestran que *Vibrio* puede ser un miembro común e inclusive dominante de la microbiota del camarón blanco, pero su actividad podría estar regulada por el resto de la microbiota y por el camarón.

Authors

ESTEFANÍA GARIBAY-VALDEZ, PH.D.

Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo A.C (CIAD)
Carretera a La Victoria S/N, CP. 83304, Hermosillo, Sonora, Mexico

LUIS RAFAEL MARTÍNEZ-CÓRDOVA, PH.D.

Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS)
Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio S/N, CP. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

MARCO A. LÓPEZ-TORRES

Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS)
Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio S/N, CP. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

F. JAVIER ALMENDARIZ-TAPIA, PH.D.

Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia
Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio S/N, CP. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

MARCEL MARTÍNEZ-PORCHAS, PH.D.

Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo A.C (CIAD)
Carretera a La Victoria S/N, CP. 83304, Hermosillo, Sonora, Mexico

KADIYA CALDERÓN, PH.D.

Corresponding author
Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (DICTUS)
Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio S/N, CP. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

Copyright © 2016–2021 Global Aquaculture Alliance

All rights reserved.