



ALLIANCE™

(<https://gsa.rakadev.com>).



**Responsible
Seafood**
ADVOCATE



Health &
Welfare

Medio ambiente, dinámica de la comunidad bacteriana y brotes de enfermedad de las heces blancas en estanques de camarones

4 January 2021

By Yustian Rovi Alfiansah, Ph.D. , Sonja Peters, Ph.D. , Jens Harder, Ph.D. , Christiane Hassenrück, Ph.D. and Astrid Gärdes, Ph.D.

El pH del agua, el oxígeno disuelto y las bacterias intestinales son indicadores que ayudan a prevenir enfermedades



Los resultados de este estudio para evaluar las posibles contribuciones de las condiciones ambientales y la dinámica de la comunidad bacteriana a los brotes de enfermedad de las heces blancas en estanques comerciales para el cultivo de *L. vannamei* mostraron que el pH del agua era un indicador confiable de riesgo de brote y que el oxígeno disuelto y las composiciones del agua y las bacterias intestinales también pueden servir como indicadores para ayudar a prevenir eventos de WFD. Foto de Darryl Jory.

Varias enfermedades bacterianas han estado causando graves pérdidas económicas a las industrias camaroneras en Asia y América Latina durante varios años. Estas enfermedades bacterianas incluyen la enfermedad de las heces blancas (WFD), que junto con la enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), según se reporta, se consideran las más infecciosas y letales. La WFD ha estado ocurriendo en la acuicultura de camarón asiática desde 2009 y ha afectado gravemente la supervivencia del camarón en los estanques, y sus eventos se caracterizan por la presencia de hilos fecales blancos que flotan en el agua de los estanques. Por lo general, ocurren después de aproximadamente 50 días de cultivo, lo que provoca un retraso en el crecimiento del camarón, cosechas no rentables e incluso una mortalidad masiva.

Los cambios en el hepatopáncreas y el intestino medio del camarón afectados asociados con la WFD indican un proceso patológico en el intestino del animal. Se ha informado que el microsporidio *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), cuerpos que se asemejan a protozoos gregarinos y ciertas especies cultivables de *Vibrio*, han sido reportados como posibles agentes causantes de WFD. Y se ha reportado que el deterioro de la calidad del agua con concentraciones de oxígeno por debajo de 3.0 mg por litro y alcalinidad por debajo de 80 ppm está involucrado en causar tasas máximas de mortalidad durante los brotes de WFD. Sin embargo, el origen de la WFD en los estanques camaroneros sigue sin ser concluyente.

La composición de las bacterias intestinales tiene una fuerte influencia en la salud del camarón. La WFD puede iniciarse en camarones sanos mediante el trasplante de microbiota intestinal de camarones enfermos. La composición de la comunidad bacteriana en los intestinos del camarón puede cambiar dinámicamente siguiendo el desarrollo y la dieta del camarón. Y la columna de agua y el sedimento subyacente (hábitat del camarón), pueden afectar las bacterias intestinales y las del camarón silvestre, que difieren de las del camarón domesticado / cultivado. Sin embargo, hay poca información sobre la interacción entre los parámetros del agua de cría, las bacterias intestinales, las bacterias de heces fecales y la composición de la comunidad bacteriana en las aguas de los estanques antes, durante y después de los brotes de enfermedades.

Por lo tanto, creemos que se necesita información más extensa de la dinámica de la comunidad bacteriana, incluidas las bacterias patógenas en el agua de los estanques y en asociación con los camarones en etapas de enfermedad y sin enfermedad, para comprender y prevenir la WFD y para tratar los camarones enfermos. Además, proponemos que los cambios repentinos en la calidad del agua afectarán primero a las comunidades bacterianas en el agua del estanque (bacterias del agua / agua del estanque) y, posteriormente, a la fisiología del camarón y sus bacterias intestinales.

Este artículo, adaptado y resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.1038/s41598-020-68891-6>). [Alfiansah, Y.R.et al. 2020. Structure and co-occurrence patterns of bacterial communities associated with white feces disease outbreaks in Pacific white-leg shrimp *Penaeus vannamei* aquaculture. *Sci. Rep.* 10, 11980 (2020)] – reporta sobre un estudio para comprender las condiciones ambientales y la dinámica de las comunidades bacterianas que contribuyen a los eventos de la enfermedad de las heces blancas (WFD), donde analizamos la calidad del agua y comparamos las comunidades bacterianas en el agua, así como en los intestinos y las heces. de camarón blanco del Pacífico sano y enfermo (*Litopenaeus vannamei*) respectivamente.

Configuración del estudio

Los estanques de camarones evaluados están ubicados en Rembang Regency, Java Central, Indonesia. Se recolectaron muestras de agua de un estanque con individuos sanos de *L. vannamei* (estanque P1, que sirvió como control) y tres estanques de camarones (P2, P3 y P4) que experimentaron un evento de WFD entre los 50 y 70 días de su ciclo de cultivo. Todos los estanques estaban revestidos con plástico de polietileno de alta densidad (HDPE) y fueron clorados dos semanas antes de la siembra de camarones. Las densidades de población iniciales fueron 40 (P2) y 90 postlarvas de 15 días libres de patógenos específicos por metro cúbico (P1, P3 y P4), con todas las postlarvas del mismo criadero local comercial.

Para el análisis de la comunidad bacteriana, se recolectaron 10 hebras fecales blancas frescas de las bandejas de alimentación de cada estanque con camarones infectados. Se recolectaron diez camarones sanos del estanque P1 usando la bandeja de alimentación y se almacenaron en frío inmediatamente. Luego, estos animales fueron disecados en el laboratorio para recolectar sus intestinos completos. Todas las muestras se conservaron y almacenaron inmediatamente a menos -20 grados-C hasta la extracción de ADN y varios análisis.

Para obtener información detallada sobre el diseño experimental, la recolección de muestras y los sitios de muestreo; cultivo e identificación bacteriana; análisis molecular de comunidades bacterianas; detección y cuantificación de genes de virulencia; y análisis de datos, consulte la publicación original.

Resultados y discusión

Para comprender mejor los brotes de WFD en el cultivo de *L. vannamei*, medimos la calidad del agua y analizamos la dinámica de la comunidad bacteriana en estanques de cultivo de camarón. Basándonos en la estimación visual del número de heces fecales blancas (FS) en los estanques, dividimos el evento de WFD en dos fases: inicio de la enfermedad (síntomas tempranos), representado por P3 y P4, con números más bajos de heces fecales blancas; y brote temprano representado por P2, con mayor número de heces fecales blancas. Debido a que se ha demostrado que las comunidades bacterianas de heces frescas de camarón y las de los intestinos completos de *L. vannamei* sanos son comparables, solo disecamos los intestinos de camarones sanos y los analizamos junto con las heces fecales frescas recogidas de camarones enfermos.

Nuestros resultados mostraron que la WFD ocurrió cuando el pH cambió de 7,71 a 7,84, y las especies bacterianas *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio* dominaron las comunidades bacterianas acuáticas. La gravedad de la enfermedad se correlacionó además con proporciones aumentadas de *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio* en las heces de los camarones. Estas bacterias patógenas oportunistas constituyeron hasta el 60 por ciento y el 80 por ciento de las secuencias en muestras de las etapas temprana y avanzada del brote de la enfermedad, respectivamente, y exhibieron un alto grado de co-ocurrencia.

Las actividades microbianas – incluida la degradación de la materia orgánica, el proceso de respiración y nitrificación y la acumulación de dióxido de carbono disuelto – darán como resultado una disminución del pH y la alcalinidad, como se observó en estanques con camarones enfermos. En contraste, la intervención externa mediante la adición regular de piedra caliza y silicato reactivo puede amortiguar los niveles de pH y alcalinidad, que observamos en el estanque con camarones sanos.

Nuestro estudio también indica que una alteración de pulso, como una disminución repentina del pH (por debajo de 8) y del oxígeno disuelto (por debajo de 6 mg por litro), y un aumento de nutrientes inorgánicos como se observó en los estanques P2-P4, pueden afectar las comunidades de camarones y bacterias en agua de estanque de camarones. La alteración de pulso causó estrés en los camarones, que a su vez puede haber inducido cambios en las comunidades bacterianas intestinales, lo que resultó en bacterias patógenas oportunistas, como *Alteromonas*, *Marinomonas*, *Photobacterium*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio*, que se volvieron dominantes en las comunidades bacterianas en hebras fecales blancas.

Observamos un cambio gradual de dominio de bacterias presuntamente benéficas a posible dominio de patógenos de bacterias de cadena fecal, que coincidió con la progresión de la enfermedad desde los estanques con síntomas tempranos hasta el estanque en el brote temprano. Esto sugiere que los cambios en las comunidades bacterianas intestinales pueden estar estrechamente asociados con la gravedad de la enfermedad del camarón. Esta hipótesis está respaldada por estudios previos, que informaron que los cambios en las bacterias intestinales del camarón ocurrieron en paralelo con los cambios en la gravedad de la enfermedad, lo que refleja la transición de un estado saludable a un estado enfermo.

Entre los taxones patógenos potenciales, que dominaron las comunidades de bacterias de cadena fecal en nuestro estudio, *Photobacterium*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio* correspondieron a aquellos previamente observados como asociados con los eventos de WFD. Sin embargo, algunos géneros como *Aeromonas*, *Candidatus Bacilloplasma*, *Phascolarctobacterium* y *Staphylococcus*, que se informó que estaban presentes en estudios anteriores, estuvieron ausentes en nuestras muestras durante el evento de WFD. Sin embargo, es importante considerar que la ubicación geográfica, el manejo de las granjas camaroneras y los diferentes enfoques metodológicos pueden influir en la detección de taxones bacterianos.

Con base en los resultados de nuestros análisis, proponemos que un pH más bajo altera las tasas de crecimiento de las bacterias heterótrofas, lo que resulta en un predominio de bacterias oportunistas y potencialmente patógenas como *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio* en el agua del estanque. Dado que las heces de los camarones se desintegran fácilmente en el agua del estanque (hasta un 27 por ciento en 12 horas) debido al movimiento del agua y la aireación mecánica, sugerimos que las bacterias fecales enriquecen el agua del estanque, contribuyendo así al predominio de *Alteromonas* de vida libre o asociadas a partículas, como observamos en P2.

La desintegración de las heces facilitará la dispersión bacteriana, así como el enriquecimiento de proteínas y nutrientes inorgánicos de las heces. El enriquecimiento del agua del estanque por bacterias patógenas oportunistas parecía correlacionarse además con la gravedad de la enfermedad y el número de camarones infectados. Esto se refleja en las concentraciones significativamente más altas de ciertos genes en las muestras de agua de estanques de la fase temprana del brote, en comparación con los estanques con síntomas tempranos.

Además, si se libera una mayor cantidad de bacterias patógenas en el agua del estanque y se incorporan al material particulado, se acelerará la propagación de la enfermedad entre los camarones, ya que los camarones sanos pueden consumir partículas cargadas de patógenos e intoxicarse. Por lo tanto, en este escenario, las bacterias de las heces fecales no solo contribuyen a la abundancia, estructura y función bacteriana del agua de cría, sino que también refuerzan una retroalimentación perjudicial sobre la salud del camarón.

En nuestros resultados, la detección de OTUs [definición operativa utilizada para clasificar grupos de individuos estrechamente relacionados] de *Vibrio* tanto en camarones sanos como infectados y en co-ocurrencia inversamente correlacionada sugiere la presencia de diferentes cepas de *Vibrio* con interacciones contrastantes. Si bien algunas OTUs de *Vibrio* pueden representar patógenos oportunistas, otras incluso pueden ser beneficiosas en proporciones bajas. Alternativamente, la coexistencia con otras bacterias como *Acinetobacter* puede prevenir la activación de genes del factor de virulencia, a pesar de la presencia de *Vibrio* potencialmente patógeno en los intestinos de camarones sanos.

Teniendo en cuenta las diferencias de las comunidades de bacterias intestinales de camarones sanos y agua de estanque en un evento sin enfermedad de las de las muestras de WFD, así como los patrones de coexistencia en muestras de camarones sanos y enfermos, destacamos que la disbiosis [un desequilibrio microbiano o mala adaptación en o dentro del cuerpo] en las bacterias intestinales y un cambio de bacterias halófilas dominadas a bacterias patógenas dominadas en las aguas de los estanques contribuyen al origen del brote de WFD estudiado.

Hacemos hincapié en que el reajuste inmediato de los parámetros de calidad del agua, específicamente el ajuste del pH por encima de 8, permitirá que el agua del estanque vuelva a su composición anterior a la perturbación y termine el brote, seguido de la recuperación de la WFD, como lo indica la ausencia de síntomas y genes de virulencia detectables en el agua del estanque y sin mortalidad de camarones. Esto implica una capacidad de recuperación de las comunidades bacterianas en el agua de los estanques camaroneros después de breves perturbaciones, como también se puede observar en otros entornos. Sin embargo, señalamos que la exposición prolongada al deterioro del agua y proporciones elevadas de patógenos puede aumentar la gravedad de la enfermedad y conducir a una mortalidad masiva de camarones cultivados como se observó anteriormente.

Nuestros hallazgos sobre la aplicación de probióticos comerciales para curar la WFD en camarones revelaron que las bacterias probióticas como *Lactobacillus* estaban ausentes en el agua del estanque, las bacterias intestinales y las bacterias de heces fecales, lo que sugiere que tal aplicación no fue

efectiva. *Lactobacillus* ya no fue detectable después de que se diluyeron en el agua del estanque de camarones. En lugar de esparcir los probióticos en el agua del estanque, proponemos agregarlos a los gránulos de alimento, que serán consumidos por los camarones. De esta manera, la colonización de bacterias probióticas en el intestino del camarón puede ocurrir de manera más efectiva.

Perspectivas

Los resultados de nuestra investigación mostraron que factores ambientales estresantes – específicamente una disminución en el pH y el oxígeno disuelto – indujeron un cambio sustancial de la comunidad bacteriana en el agua del estanque y afectaron la fisiología del camarón, lo que a su vez resultó en cambios en la comunidad bacteriana intestinal y, posteriormente, en la aparición de WFD. Además, observamos varios taxones de bacterias oportunistas, como *Arcobacter*, *Alteromonas*, *Marinomonas*, *Photobacterium* y *Pseudoalteromonas*, que pueden contribuir o incluso causar la WFD.

Para evitar pérdidas de camarón, el manejo del cultivo de camarón debe enfocarse en mantener la calidad del agua y el sedimento del estanque (es decir, pH, oxígeno disuelto, turbidez, nutrientes inorgánicos y partículas en suspensión), así como promover una composición estable de la comunidad bacteriana intestinal, donde las bacterias beneficiosas, incluso en pequeñas proporciones, pueden inhibir la patogenicidad de *Vibrio*.

En conclusión, el pH del agua del estanque fue un indicador confiable del riesgo de brotes de WFD; y el oxígeno disuelto y las composiciones de agua y bacterias intestinales también pueden servir como indicadores para una mejor prevención de los eventos de WFD.

Authors



YUSTIAN ROVI ALFIANSAH, PH.D.

Corresponding author
Leibniz Centre for Tropical Marine Research (ZMT)
28359, Bremen, Germany; and
Research Center for Oceanography (RCO-LIPI)
Jakarta, 14430, Indonesia; and
Center for Aquaculture Research (ZAF)
Alfred Wegener Institute (AWI)
27570, Bremerhaven, Germany

yustian_rovi@yahoo.co.id (mailto:yustian_rovi@yahoo.co.id).



SONJA PETERS, PH.D.

Leibniz Centre for Tropical Marine Research (ZMT)
28359, Bremen, Germany



JENS HARDER, PH.D.

Department of Molecular Ecology
Max Planck Institute for Marine Microbiology (MPI-MM)
28359, Bremen, Germany



CHRISTIANE HASSENRÜCK, PH.D.

Leibniz Centre for Tropical Marine Research (ZMT)
28359, Bremen, Germany



ASTRID GÄRDES, PH.D.

Leibniz Centre for Tropical Marine Research (ZMT)
28359, Bremen, Germany; and
Division Biosciences/Polar Biological Oceanography
Alfred Wegener Institute (AWI)
27570, Bremerhaven, Germany; and
Hochschule (HS) Bremerhaven
27568, Bremerhaven, Germany

Copyright © 2023 Global Seafood Alliance

All rights reserved.