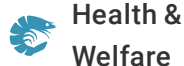




ALLIANCE™

(<https://debug.globalseafood.org>).



Health &
Welfare

Acuicultura de camarón y exclusión competitiva de patógenos

12 October 2020

By Hazel Knipe , Ben Temperton, Ph.D. , Anke Lange, Ph.D. , David Bass, Ph.D. and Charles R. Tyler, Ph.D.

Selección de probióticos y aplicaciones para mejorar la resistencia a enfermedades



Una mejor comprensión de los mecanismos de exclusión competitiva y su aplicación para mejorar la selección y aplicación de probióticos es clave para mejorar las estrategias para manejo microbiano efectivo en la acuicultura de camarón. Foto de Darryl Jory.

Los probióticos – microorganismos vivos que ofrecen beneficios para la salud de los huéspedes cuando se proporcionan en cantidades adecuadas – son alternativas antibióticas cada vez más populares para promover el crecimiento y prevenir enfermedades en la acuicultura del camarón. Si bien existe un conocimiento limitado sobre sus mecanismos de acción precisos, la evidencia es sólida de que pueden proporcionar efectos probióticos a través de la exclusión competitiva de bacterias patógenas, la mejora de la respuesta inmune del camarón y los efectos antivirales, y la contribución de nutrientes y enzimas a la digestión del camarón.

Se ha demostrado que aproximadamente 20 géneros de bacterias tienen un efecto probiótico en los camarones, aunque la mayor parte de la investigación se ha centrado en *Bacillus* y bacterias de ácido láctico (LAB), como *Lactobacillus*, debido en gran parte a su prevalencia y aplicación exitosa como probióticos en mamíferos y aves de corral. Los probióticos se pueden administrar por vía oral con el alimento (incluida la bioencapsulación con vectores alimentarios vivos como la artemia), directamente en el agua como cultivos purificados o esporas, o dentro de un medio de crecimiento fermentado.

Las especies probióticas a menudo se aíslan de los intestinos de los camarones y del agua circundante o sedimentos de su entorno. Pero también se han aislado de filtrados de desechos de frutas, cuajada, soya fermentada y encurtidos, y los intestinos de otras especies. Por ejemplo, en el caso de este último, se han aislado especies probióticas (para camarón) *Lactobacillus* del tracto digestivo de pollos y peces. Los tratamientos probióticos comerciales, que en gran parte contienen LAB y *Bacillus* spp., también han sido probados por sus efectos probióticos en camarones.

Tomando en cuenta el aumento de la resistencia a los antimicrobianos (que se prevé que resulte en 10 millones de muertes para 2050 si la tendencia actual continúa; **Meade et al.** (<https://doi.org/10.3390/antibiotics9010032>), 2020), los conocimientos potenciales obtenidos de tales investigaciones se extienden mucho más allá del campo de los probióticos en la acuicultura del camarón, porque estas especies probióticas producen sustancias antimicrobianas que aún no se han identificado, lo que las convierte en candidatas ideales para la bioprospección de nuevas terapias antimicrobianas.

Este artículo – adaptado y resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.1111/raq.12477>) (Knipe, H. et al. 2020. Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, Vol 12(3):1-29) – analiza nuestra comprensión actual de los mecanismos de exclusión competitiva y su aplicación para mejorar la selección y aplicación de probióticos, y direcciones futuras para la selección y aplicación de probióticos en el desarrollo de estrategias efectivas de manejo microbiano en la acuicultura de camarón.

Exclusión competitiva de bacterias patógenas

La exclusión competitiva es cuando las especies bacterianas coexistentes en el mismo nicho ecológico compiten por recursos limitados (nutrientes y espacio) a través de dos estrategias competitivas: explotación y competencia por interferencia. La competencia de explotación es indirecta, caracterizada

por el rápido consumo de recursos (restringiendo el suministro a los competidores e invirtiendo en el crecimiento), mientras que la competencia de interferencia ocurre cuando un organismo daña directamente a otro, por ejemplo, mediante la producción de compuestos antimicrobianos.

La competencia de explotación incluye mecanismos que aumentan la velocidad a la que se capturan y utilizan los nutrientes, en relación con los competidores. La captura de nutrientes se puede mejorar mediante la secreción de moléculas extra-celulares que descomponen macro-moléculas complejas, lo que hace que los nutrientes sean más fácilmente accesibles. Estas moléculas de excreción extra-celular incluyen enzimas y compuestos que acceden al hierro insoluble.

Estos mecanismos pueden considerarse rasgos cooperativos, ya que los “bienes públicos” producidos son accesibles para todos y pueden beneficiar a la población. No todos los miembros de esa población invierten necesariamente recursos en la producción de los compuestos, y las bacterias que producen materiales para permitir la captura de nutrientes son vulnerables a la competencia inter- e intraespecífica de otros, que ahorran recursos y los invierten en el crecimiento.

La eficiencia y la velocidad con la que los microorganismos utilizan los nutrientes pueden proporcionar otra ventaja competitiva. La asignación óptima de recursos puede maximizar las tasas de crecimiento. Por ejemplo, cambiar entre estrategias metabólicas dependiendo de la disponibilidad de sustrato – como desde el proceso de respiración con mayor rendimiento energético hasta la fermentación, incluso cuando la glucosa está disponible en exceso – para maximizar las tasas de crecimiento. Este fenómeno, denominado “metabolismo de desbordamiento,” se ha observado en varias especies de hongos y bacterias de rápido crecimiento.

La competencia por la explotación del espacio se puede lograr mediante la rápida colonización de nichos deshabitados o compitiendo con poblaciones que ya están establecidas. La producción de compuestos y receptores que se unen a características específicas de la superficie puede proporcionar una ventaja competitiva para la colonización de nichos desocupados, así como prevenir el desplazamiento por invasores. Además, el acoplamiento, aunque disminuye la movilidad, es fundamental para la formación de biopelículas (comunidades microbianas adheridas a la superficie).

La expansión de las células adhesivas en las biopelículas también puede ayudar a eliminar las células no adhesivas de la población. La agregación celular del mismo genotipo también puede proporcionar otra ventaja competitiva al compartir recursos y aumentar la tolerancia a los antimicrobianos. Sin embargo, existe una fuerte competencia dentro de estas biopelículas, en las que los nutrientes se limitan regionalmente. Por otro lado, para competir con la formación de biopelículas, muchas especies producen moléculas que pueden estimular activamente la dispersión de otras especies (sin matarlas). Alternativamente, algunas especies pueden interrumpir la formación de biopelículas.

La competencia por interferencia generalmente involucra la producción de antimicrobianos, y hay evidencia experimental sustancial que respalda la hipótesis de que los antibióticos se utilizan principalmente como armas. Es plausible que algunas especies hayan evolucionado para utilizar ciertos antimicrobianos únicamente como armas, mientras que otras tienen múltiples funciones.

Aunque la mayoría de los probióticos en la acuicultura del camarón se examinan y seleccionan para realizar más pruebas en función de su capacidad para antagonizar los patógenos bacterianos del camarón *in vitro*, se desprende de las investigaciones reportadas que la información sobre los mecanismos a través de los cuales se produce esta inhibición del crecimiento es limitada. Además, la inversión de energía en los mecanismos de interferencia (la producción de antimicrobianos extracelulares) por los probióticos del camarón implica que pueden ser objetivos útiles para la bioprospección de nuevas terapias antimicrobianas.

Consideraciones para la selección de probióticos de camarón

La mayoría de los probióticos utilizados en la acuicultura de camarón parecen ser estrategias de vida competitivos, porque con frecuencia se seleccionan en función de su capacidad para producir antimicrobianos extracelulares. Debido a las prácticas típicas de la acuicultura de camarón – en las que los estanques se ven perturbados por tratamientos químicos, eventos climáticos y enfermedades – estos probióticos pueden no ser siempre la opción más efectiva. En cambio, es probable que ciertas condiciones y perturbaciones ambientales favorezcan la proliferación de estrategias de vida ruderales (especies que prosperan en situaciones de perturbación de alta intensidad y estrés de baja intensidad).

Para compensar esto, puede ser necesario un tratamiento frecuente para establecer el probiótico (estrategia de vida competitivo) dentro de la comunidad microbiana en la abundancia requerida y lograr los efectos deseados. Esto, a su vez, puede afectar la estructura de la comunidad microbiana del sistema y favorecer aún más a los estrategias de vida ruderales que invierten en mecanismos de explotación. El uso inadecuado de tratamientos probióticos puede potencialmente conducir a condiciones que favorezcan la invasión patógena, por ejemplo, mediante el uso de especies que compiten con especies benéficas autóctonas o alteran la estructura o función general de la comunidad.

Por lo tanto, es necesario dilucidar los mecanismos subyacentes a la eficiencia del crecimiento y las estrategias competitivas empleadas por especies potencialmente probióticas y patógenas, así como comprender sus condiciones ambientales óptimas, para desarrollar las estrategias de manejo microbiano más efectivas para prevenir y tratar enfermedades. Por ejemplo, adaptar los tratamientos para que contengan especies o cepas que puedan excluir de manera competitiva patógenos específicos utilizando múltiples mecanismos aumentará la probabilidad de una exclusión exitosa de patógenos, particularmente si el patógeno se vuelve resistente a un mecanismo, o si hay un nuevo (u oportunista) invasión patógena.

Patin et al. (<https://www.nature.com/articles/ismej2015128>). (2016) diseñaron un flujo de trabajo que tiene como objetivo determinar si se emplea competencia de interferencia o explotación mediante el uso de una serie de ensayos de inhibición simples. La aplicación de este flujo de trabajo proporciona una manera simple y rentable de evaluar la estrategia competitiva probablemente empleada por especies probióticas in vivo, aunque los estudios futuros deben considerar hasta qué punto los modelos in vitro (mecanismos de antagonismo) son representaciones precisas de sus interacciones con patógenos. y otros competidores, in vivo. Hacer esta distinción es importante cuando se considera el tipo (es decir, las características deseadas) de probiótico que se aplicará a condiciones específicas; por ejemplo, para mejorar la resistencia a enfermedades antes de una invasión patógena o en respuesta a una perturbación ambiental, como una enfermedad.

Teóricamente, los estrategias de vida competitivos serían más adecuados para el tratamiento profiláctico, ya que se seleccionan para entornos no perturbados, mientras que los estrategias de vida ruderales se aplicarían mejor para reducir la gravedad de la enfermedad, ya que se seleccionan para entornos perturbados. Esto también destaca la importancia de aplicar la teoría ecológica para desarrollar probióticos efectivos para la prevención de enfermedades en la acuicultura de camarón.

La identificación probiótica potencial basada en el uso de métodos limitados, como extractos libres de células o ensayos de difusión exclusivamente, es selectiva de las estrategias de competencia basadas en interferencias debido a las propiedades antimicrobianas (y difusibles) de los metabolitos extracelulares. Es posible que las condiciones de cultivo de los probióticos potenciales no estimulen la producción de compuestos inhibidores ni aumenten la actividad del compuesto.

Las limitaciones de los métodos de selección de probióticos basados en cultivos, combinados con el enfoque actual en la capacidad de las especies probióticas para inhibir el crecimiento de especies de *Vibrio*, pueden pasar por alto la capacidad de muchas especies probióticas putativas para la acuicultura de camarón. Si bien las especies patógenas de *Vibrio* son indudablemente un objetivo importante para que los probióticos potenciales antagonicen, la filtración basada en la inhibición del crecimiento in vitro de un número limitado de patógenos específicos (es decir, *Vibrio*) puede polarizar inadvertidamente el tipo (es decir, estrategia competitiva) de probióticos de camarón disponibles.

Por lo tanto, una mayor atención a la caracterización de los mecanismos subyacentes por los cuales los probióticos inhiben el crecimiento de estos patógenos in vitro, combinada con nuestra creciente comprensión de sus efectos in vivo, nos permitirá evaluar y desarrollar mejor nuestros métodos de detección y selección. El tratamiento con probióticos puede alterar la estructura de la comunidad microbiana en el intestino del camarón y conferir resistencia a patógenos como *V. parahaemolyticus*.

Los probióticos apuntados específicamente a *Vibrio* spp. pueden aumentar el riesgo de enfermedad en caso de una invasión de otra especie que el probiótico no pueda inhibir, al reducir la probabilidad de que otros miembros de esa comunidad proporcionen rasgos antagónicos. La estimulación de la respuesta inmune del camarón por dichos probióticos debería, teóricamente, mitigar algunos de estos efectos. Sin embargo, queda por probar que un probiótico con tales efectos pueda mejorar la resistencia a múltiples patógenos.

La tendencia actual es identificar nuevos probióticos, y sugerimos que se debe poner énfasis en el desarrollo de métodos complementarios, independientes del cultivo, de identificación y caracterización de probióticos potenciales. Con la creciente asequibilidad de los enfoques de secuenciación, la secuenciación del genoma completo de especies probióticas beneficiaría nuestra comprensión de los posibles mecanismos de los efectos probióticos y nos permitiría tomar decisiones más informadas sobre la idoneidad de tales especies.

Además, la metagenómica [el estudio de material genético recuperado directamente de muestras ambientales], la transcriptómica [ciencia cuantitativa que abarca la asignación de una lista de cadenas ("lecturas") al objeto ("transcripciones" en el genoma)] y la metatranscriptómica [la ciencia que estudia la expresión génica de microbios en entornos naturales], complementados con la proteómica, permitirían una investigación, evaluación y desarrollo más exhaustivos de tratamientos probióticos en la acuicultura del camarón.

Conclusiones y perspectivas de futuro

Los probióticos en la acuicultura de camarón a menudo se examinan y seleccionan para pruebas in vivo en función de su capacidad para excluir de manera competitiva patógenos in vitro. Pocos estudios han intentado identificar los mecanismos subyacentes implicados en la inhibición del crecimiento bacteriano; sin embargo, ilustran colectivamente la importancia de comprender las interacciones entre el probionte subyacente (agregación de moléculas orgánicas, rodeadas por una membrana, que se fusiona abióticamente en semejanzas de materia viva) y patógenos, determinando las características específicas de la cepa y no extrapolando de cepas relacionadas o incluso especies. Considerar esto es particularmente importante al evaluar la seguridad e idoneidad de una especie probiótica para su uso en animales destinados al consumo humano, y se debe considerar la posibilidad de investigar el impacto potencial del tratamiento con probióticos sobre la virulencia de patógenos.

La aplicación de enfoques de secuenciación complementarios, como la secuenciación del genoma completo de especies probióticas, ayudará en esta evaluación. Los ensayos de antagonismo empleados para detectar probióticos en la acuicultura de camarón utilizan un número limitado de

patógenos (es decir, *Vibrio*) y seleccionan preferentemente mecanismos basados en interferencias, que pueden pasar por alto el potencial probiótico de muchas especies y posiblemente aumentar el riesgo de invasión de patógenos. Para abordar esto, el trabajo futuro debe centrarse en expandir los métodos de detección de probióticos (incluido el desarrollo de enfoques independientes del cultivo) para incluir más especies que utilizan mecanismos basados en la explotación y patógenos con distintos mecanismos de patogénesis.

Adaptar los tratamientos para que contengan especies o cepas que puedan excluir de manera competitiva a patógenos específicos utilizando múltiples mecanismos aumentará la probabilidad de una exclusión patógena exitosa; particularmente si el patógeno se vuelve resistente, o hay una nueva (u oportunista) invasión patógena. El impacto del tratamiento con probióticos en la microbiota intestinal del camarón y la resistencia a las enfermedades también debe considerarse a fondo para evitar reducir la abundancia de otras especies ecológicamente importantes. Se debe prestar especial atención a la identificación y prueba de probióticos que podrían prevenir el comienzo de la enfermedad con efectos limitados sobre la estructura y función de la comunidad microbiana.

Además, la eficiencia del tratamiento puede mejorarse considerando la estrategia de vida competitiva de las especies probióticas. Los estudios futuros deberían examinar esto validando las estrategias competitivas utilizadas in vivo, y diseñando ensayos de desafío de patógenos que comparen los efectos de la administración de probióticos, antes y al inicio de la enfermedad u otras inestabilidades ambientales similares, sobre el microbioma intestinal del camarón y la resistencia a las enfermedades.

Referencias disponibles en la publicación original.

Authors



HAZEL KNIPE

Corresponding author and Ph.D. candidate
Biosciences, College of Life & Environmental Sciences
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK; and
Centre for Sustainable Aquaculture Futures
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK

hk364@exeter.ac.uk (<mailto:hk364@exeter.ac.uk>).



BEN TEMPERTON, PH.D.

Biosciences, College of Life & Environmental Sciences
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK; and
Centre for Sustainable Aquaculture Futures
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK



ANKE LANGE, PH.D.

Biosciences, College of Life & Environmental Sciences
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK



DAVID BASS, PH.D.

Centre for Sustainable Aquaculture Futures
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK; and
Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science
Barrack Road, Weymouth, DT4 8UB UK



CHARLES R. TYLER, PH.D.

Biosciences, College of Life & Environmental Sciences
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK; and
Centre for Sustainable Aquaculture Futures
University of Exeter
Exeter, EX4 4QD UK

