



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA
INTESTINAL EN PECES DEL GÉNERO *Seriola*.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuicultura)

P r e s e n t a

Karen Andrea Corrales Adame

La Paz, Baja California Sur, noviembre de 2021.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13 horas del día 5 del mes de Noviembre del 2021, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PECES DEL GÉNERO *Seriola*."

Presentada por el alumno:

Karen Andrea Corrales Adame

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Acuicultura**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Dariel Tovar Ramírez
Co-Director




Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Co-Director



Dr. José Luis Balcázar
Co-Tutor



Dra. Paola Navarrete Wallace
Co-Tutora



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.

La Paz, Baja California Sur, a 03 de noviembre de 2021.

Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante KAREN ANDREA CORRALES ADAME del Programa de Maestría en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales con orientación en acuicultura, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio:
iThenticate
- Filtros utilizados:
Citas y Bibliografía
- Porcentajes de similitud:
7 %
Se muestra captura de pantalla

o Seriola		Citas incluidas	7%
		Bibliografía incluida	SIMILAR
Resumen de Coincidencias			
1	Internet 74 palabras Copiado el 17-Abr-2020 nutricionacuicola.uanl.mx		1%
2	Internet 50 palabras Copiado el 02-Dic-2016 dSPACE.sheol.uniovi.es		<1%
3	Internet 41 palabras Copiado el 14-Ago-2021 docplayer.es		<1%
4	Internet 28 palabras Copiado el 11-May-2020 issuu.com		<1%
5	Internet 25 palabras hdl.handle.net		<1%
6	Internet 25 palabras Copiado el 13-Nov-2020 hidrobiologica.izt.uam.mx		<1%
	Crossref 24 palabras		<1%

Firmas del comité



Co-Director Darriel Tovar Ramirez



Co-Tutor José Luis Balcázar



Co-Director Eduardo Quiroz Guzmán



Co-Tutor Paola Navarrete Wallace

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dr. José Luis Balcázar Rojas
Instituto Catalán de Investigación del Agua
Co-Tutor de Tesis

Dra. Paola Alejandra Navarrete Wallace
Universidad de Chile
Co-Tutora de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Dr. José Luis Balcázar Rojas
Dra. Paola Alejandra Navarrete Wallace

Jurado de Examen

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Dr. José Luis Balcázar Rojas

Suplente

Dra. Paola Alejandra Navarrete Wallace

Resumen

La acuicultura es un sector que ha crecido considerablemente en las últimas décadas y las especies del género *Seriola* se han hecho cada vez más presentes en el mercado gracias a su fácil adaptación y calidad en la carne. Por otro lado, se ha demostrado que la microbiota intestinal tiene un papel esencial en el crecimiento, desarrollo y salud de los peces, ya que desempeña diversas funciones en la absorción de nutrientes e inmunidad frente a patógenos. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la composición de la microbiota intestinal en peces del género *Seriola*, así como, caracterizar las diferencias y similitudes que existen entre estos. Para ello, se seleccionaron tres trabajos realizados en peces del género *Seriola*, donde la plataforma de secuenciación Illumina fuera utilizada y se haya amplificado la región hipervariable V3 del gen 16S ARN ribosomal. Se analizaron las secuencias de dos estudios realizados en *Seriola lalandi* (México y Australia), y uno en *Seriola rivoliana* (México). Cada estudio formó un grupo diferente y se les identificó como M1, A1 y M2, respectivamente. Se extrajeron las secuencias originales de cada estudio para los análisis bioinformáticos y estadísticos. Se observó que existe una gran abundancia de bacterias a nivel de orden y familia en cada uno de los estudios. El grupo de Australia (A1) presentó una abundancia relativa elevada de bacterias pertenecientes a la familia *Vibrionaceae*, mientras que los grupos de México (M1 y M2) mostraron una mayor abundancia relativa de otras familias como *Sphingomonadaceae* y *Enterobacteriaceae*. El índice Shannon demostró que M2 es diferente estadísticamente de A1 en cuanto a diversidad, mientras que en M1 y A1 no existe dicha diferencia. El índice Chao señaló que no hay diferencias estadísticas significativas con respecto a la riqueza de cada grupo. Por otro lado, el análisis de la diversidad beta indicó que los tres grupos son diferentes entre sí. Los análisis descriptivos no mostraron una microbiota común entre los 3 grupos a nivel de unidad taxonómica operativa (OTU) ni a nivel de familia. Sin embargo, se identificó a la familia *Deviosiaceae* como el *core* entre los grupos de México. Dichos resultados mostraron que, a pesar de que M1 y A1 son de la misma especie, existe mayor similitud en cuanto a la composición microbiana entre M1 y M2, los cuales tuvieron condiciones de cultivo similares. A partir de este trabajo se pudo concluir que los factores externos influyen en mayor medida que la genética de los peces a la hora de conformar la microbiota intestinal. No obstante, se recomienda realizar investigaciones más extensas para describir de mejor manera el comportamiento de la estructura microbiana de peces del género *Seriola* con la finalidad de utilizar dicho conocimiento en la búsqueda de un mejor rendimiento productivo de estos.

Palabras clave: *Seriola*, microbiota intestinal, microbiota común, México, Australia
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2430-2524>



Dr. Dariel Tovar Ramírez
Co-Director de Tesis



Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Co-Director de Tesis

Summary

Aquaculture is a sector that has grown considerably in recent decades and species of the genus *Seriola* have become increasingly present in the market due to their easy adaptation and good meat quality. On the other hand, it has been demonstrated that the intestinal microbiota has a fundamental role in the growth, development and health of fish, as it performs diverse functions in the absorption of nutrients and immunity against pathogens. The aim of the present work was to study the composition of the intestinal microbiota in fish belonging to the genus *Seriola*, as well as to characterize the differences and similarities that exist between them. For this purpose, three studies carried out exclusively in fish of the genus *Seriola* were selected, where the Illumina sequencing platform was used and the V3 hypervariable region of the 16S rRNA gene was amplified. The sequences of two studies carried out in *Seriola lalandi* (Mexico and Australia), and one in *Seriola rivoliana* (Mexico) were analyzed. Each study formed a different group and were identified as M1, A1 and M2, respectively. Raw sequences were extracted from each study for bioinformatics and statistical analyses. It was observed that there is a high abundance of bacteria at the order and family level in each of the studies. The Australian group (A1) had a high abundance of *Vibrionaceae* bacteria, while the Mexican groups (M1 and M2) had a higher presence of other families such as *Sphingomonadaceae* and *Enterobacteriaceae*. The Shannon index showed that M2 is statistically different from A1 in terms of diversity, while in M1 and A1 there is no such difference. The Chao index noted that there are no significant statistical differences regarding the richness of each group. On the other hand, the beta diversity analysis indicated that the three groups are different from each other. Descriptive analyses showed no common microbiota among the groups at the OTU and family level. However, the *Deviosiaceae* family was presented as the *core* among the Mexican groups. These results showed that, despite the fact that M1 and A1 are of the same species, there is greater similarity in terms of microbial composition between M1 and M2, which had similar culture conditions. From this work it was possible to conclude that external factors have a greater influence than the genetics of the organisms in shaping the intestinal microbiota. However, further research is recommended to better describe the microbial structure of *Seriola* fish species in order to use this knowledge in the search for a better productive performance of these.

Keywords: *Seriola*, intestinal microbiota, core microbiota, Mexico, Australia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2430-2524>



Dr. Dariel Tovar Ramírez
Co-Director de Tesis



Dr. Eduardo Quiroz Guzmán
Co-Director de Tesis

Dedicatoria

A todas las mujeres mexicanas que día a día luchan por alcanzar sus sueños. En un mundo en donde todo parece estar en contra de nosotras, debemos estar más unidas que nunca peleando desde nuestras trincheras. El papel de las mujeres y niñas en los ámbitos científicos y tecnológicos es crucial para el desarrollo del país, y, a pesar de que cada día están más presentes, queda muchísimo por hacer al respecto. Es por esto que, con la esperanza de servir como apoyo y motivación, el presente trabajo se lo dedico a ellas.

“Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.”

-Marie Curie

Agradecimientos

Agradezco primeramente al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) por la oportunidad de realizar mis estudios de Posgrado en sus instalaciones. A pesar de que en medio de la maestría se presentó la situación de pandemia y muchos de los trabajos se tuvieron que pausar y posponer, el poco tiempo que estuve en la escuela fue muy fructífero. También quiero agradecer al personal administrativo y docente que siempre estuvo al pendiente de todo con la mejor disponibilidad aún y cuando estábamos a distancia.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de esta tesis (No. de becario 1003552).

También agradezco ampliamente a mi Comité Tutorial por todo el apoyo y asesorías brindadas a lo largo de mis estudios, mis Co-Directores los Dres. Eduardo Quiroz y Dariel Tovar del CIBNOR, a la Dra. Paola Navarrete de la Universidad de Chile y al Dr. José Luis Balcázar del ICRA, los cuales estuvieron presentes desde el día 1. Gracias por su disponibilidad, que a pesar de que algunos están en otros países, siempre encontraban un espacio para atender mis dudas. Les agradezco de sobremanera que me hayan compartido sus conocimientos a lo largo de estos dos años, espero seguir aprendiendo de ustedes. Muchas gracias, sobre todo, porque, aunque los planes iniciales se tuvieron que ver modificados debido a la pandemia, siempre respetaron mis intereses y forma de trabajar, llegando a acuerdos que nos favorecieran a todos.

Quiero agradecer a mis compañeros de maestría, los cuales se volvieron mis amigos y parte esencial de mi estancia en La Paz y ahora un apoyo incondicional a la distancia. Iván Ramírez, Daniela Orozco, Yahn Vázquez y Francisco Gutiérrez (Ecu), o “Los superconocidos”, formamos una familia un tanto disfuncional, pero llena de risas, compañerismo, apoyo, pláticas profundas, aventuras y sobretodo mucho amor.

Claro también, agradecer a mis amigos de Chihuahua, aquellos que siempre han estado a mi lado, algunos desde niños, otros desde secundaria, otros de la prepa y alguno que otro de la universidad. Gracias a la vida por permitirme contar su amistad incondicional. No sé qué

hubiera hecho sin el apoyo de ellos en estos dos años, sobre todo en esa época gris, donde a la distancia siempre estuvieron conmigo y procuraron que nunca me faltaran sus palabras de aliento y compañía.

Y por último, los agradecimientos más importantes, a toda mi familia. Sin el apoyo de ellos definitivamente no habría llegado hasta donde estoy ahora. Especialmente a mis padres que son el pilar de mi vida, mi mamá Eva María Adame, y mi papá Raúl Corrales. Ellos son mi ejemplo a seguir de perseverancia, disciplina, paciencia, ganas y amor, mucho amor. No existen palabras para describir el soporte tanto económico como emocional que ellos me han brindado a lo largo de mi formación, puedo decir que jamás me ha faltado algo en toda mi vida y todo es gracias a mis padres. Esto es por y para ellos.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	viii
Abreviaturas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Presencia del género <i>Seriola</i> en la acuicultura mundial	2
2.2 Microbiota intestinal	3
2.3 Microbiota intestinal y su papel en los sistemas acuícolas	6
2.4 La microbiota y su influencia en la nutrición acuícola	9
2.5 Métodos para analizar la microbiota	11
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. HIPOTESIS	14
5. OBJETIVOS	15
5.1 Objetivo general	15
5.2 Objetivos particulares.....	15
6. MATERIAL Y MÉTODOS	16
6.1 Obtención de secuencias.....	16
6.2 Análisis bioinformáticos.....	16
6.3 Análisis estadísticos	17
7. RESULTADOS	18
8. DISCUSIÓN	29
9. CONCLUSIONES	36
10. LITERATURA CITADA	37

Lista de figuras

Figura 1. Abundancia relativa a nivel de clase. La abundancia relativa de las clases del filo <i>Proteobacteria</i> se muestra por grupo de estudio caracterizado de la microbiota intestinal de M1 (<i>S. lalandi</i> -México), M2 (<i>S. rivoliiana</i> -México) y A1 (<i>S. lalandi</i> -Australia).	20
Figura 2. Abundancia relativa a nivel de orden. Se muestran los 15 órdenes más abundantes en los 3 grupos caracterizados de la microbiota intestinal de M1 (<i>S. lalandi</i> -México), M2 (<i>S. rivoliiana</i> -México) y A1 (<i>S. lalandi</i> -Australia).	21
Figura 3. Abundancia relativa a nivel de familia. Se muestra la abundancia relativa de las 15 familias con mayor presencia por grupo de estudio en la microbiota intestinal de M1 (<i>S. lalandi</i> -México), M2 (<i>S. rivoliiana</i> -México) y A1 (<i>S. lalandi</i> -Australia).	21
Figura 4. Heatmap de la abundancia por especie bacteriana (OTU). Se visualiza la abundancia de los 15 OTUs más abundantes en las muestras caracterizadas.	22
Figura 5. Indicador de diversidad alfa (Shannon). Se presenta en boxplot los índices de diversidad y abundancia con Shannon para cada grupo de estudio.	24
Figura 6. Indicador de diversidad alfa (Chao1). Se presenta en boxplot los índices de riqueza con Chao1 para cada grupo de estudio.	24
Figura 7. Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la diversidad beta. Se muestra el PCoA basado en la matriz de distancia de Clayton que separa las muestras en los 3 grupos de estudio.	25
Figura 8. Microbiota <i>core</i> a nivel de familia donde se incluyeron los tres grupos analizados (M1, M2 y A1) como conjunto.	26
Figura 9. Microbiota <i>core</i> a nivel familia del grupo M1.	27
Figura 10. Microbiota <i>core</i> a nivel familia del grupo M2.	28
Figura 11. Microbiota <i>core</i> a nivel familia del grupo A1.	28

Lista de tablas

Tabla 1. Especificaciones por grupo de estudio (1, 2, 3). Se muestran las condiciones control de cultivo de cada grupo y el acrónimo para su identificación.	19
--	----

Abreviaturas

ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal

OTU: Unidad Taxonómica Operacional

PCoA: Análisis de Coordenadas Principales

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es un sector que ha crecido considerablemente en las últimas décadas y se considera como una de las soluciones para satisfacer la demanda creciente de alimentos a nivel mundial, ya que provee al mercado de proteína de calidad y presenta los menores impactos y riesgos al ambiente (Espinosa, 2020; FAO, 2020). Entre los métodos de cultivo, los semi-intensivos e intensivos han alcanzado gran auge debido a sus avances tecnológicos ya que permite un mejor control de la producción (Rotman, 2013). En América latina, la acuicultura aumentó la producción de peces de 15 millones de toneladas registradas en 1990, hasta más de los 80 millones de toneladas para 2018, igualando casi en su totalidad a lo obtenido en las capturas (FAO, 2020). Debido a esto, se considera de interés comercial la generación de conocimiento y el desarrollo de tecnologías innovadoras que propicien el crecimiento de este sector, y a su vez los menores costos de producción (ONU 2019; FAO, 2020). En las últimas décadas, las especies del género *Seriola* se han hecho cada vez más presentes en el mercado gracias a su fácil adaptación y calidad en la carne (Kissinger *et al.*, 2016; FAO, 2018). Por otro lado, se ha demostrado que la microbiota del tracto intestinal de los organismos tiene un papel sumamente importante en el crecimiento, desarrollo y salud de los peces (Larios-Soriano *et al.*, 2018). Ésta desempeña labores que intervienen principalmente en la absorción de nutrientes e inmunidad frente a patógenos (Cahill, 1990; Sommer y Bäckhed, 2013). En la actualidad, se considera de suma relevancia el estudio y comprensión de las interacciones entre hospedador y microorganismos debido a que éstos pueden explicar en gran parte el estado de salud de un individuo (Givens, 2007; Salas-Leiva *et al.*, 2017). En este sentido, la generación de conocimiento acerca de las funciones que la microbiota intestinal tiene sobre el organismo, así como los beneficios y afectaciones que puede conllevar su conformación, ayudan a mejorar las prácticas de producción y cultivo de una especie de interés. La dieta es uno de los factores con mayor influencia sobre la composición de la microbiota intestinal (Larios-Soriano *et al.*, 2018).

No obstante, en organismos poiquiloterms como los peces, la microbiota también está estrechamente relacionada con las condiciones ambientales, por lo que dichas variables deben ser profundamente estudiadas (Dehler *et al.*, 2016; Salas-Leiva *et al.*, 2017). Por ello, el objetivo del presente trabajo es estudiar la composición de la microbiota intestinal en peces del género *Seriola*, así como también, caracterizar las diferencias y similitudes que existen entre estos.

2. ANTECEDENTES

2.1 Presencia del género *Seriola* en la acuicultura mundial

La acuicultura es el arte de producir organismos acuáticos que tiene como principal objetivo el de aportar a la demanda mundial de alimentos. A diferencia de la pesca extractiva, la mayor ventaja de esta práctica, es que se realiza mediante técnicas que permiten un mayor control de las variables que puedan afectar en la producción y venta, por lo que dan lugar a la mejora continua del rendimiento de estos cultivos (Espinosa, 2020). La producción mundial de peces alcanzó los 179 millones de toneladas en el 2018, de los cuales 156 millones se destinaron a consumo humano, lo que representa un suministro anual de 20.5 kg per cápita. Dentro de esto, la acuicultura abarcó alrededor del 45 % de la producción total y el 52 % del que fue destinado para alimentación humana, con un valor total de venta de 260 mil millones de dólares, es decir, más del 60 % de las ganancias obtenidas por la producción de organismos acuáticos (FAO, 2020). Los peces de aleta obtenidos por acuicultura con mayor presencia en el mercado global, son algunos tipos de carpas, como la herbívora, plateada y común, la tilapia del Nilo, salmón atlántico, trucha arcoíris, pez gato, entre otros (FAO, 2018; FAO 2020). Sin embargo, la lista no ha variado en la última década, por lo que es necesario diversificar la variedad de especies ofertadas.

El género *Seriola* son peces marinos pertenecientes a la familia *Carangidae* que habitan principalmente aguas con clima subtropical y templado. Los ejemplares de este género pueden alcanzar tallas superiores a 1.5 m como es el caso de la especie *Seriola dumerili*, e incluso mayor a 2 metros como *Seriola lalandi* (Froese y Pauly, 2010). Estos peces son buenos candidatos para ser explotados por el sector acuícola debido a su crecimiento rápido, fácil adaptación a condiciones de granja y a la calidad de su carne que le da un alto valor en el mercado con una gran aceptación por parte del consumidor (Kissinger *et al.*, 2016). Estos peces marinos han sido cultivados en Japón desde la década de los años 60, donde se inició la producción de *Seriola quinqueradiata*. Luego del éxito de éste, se continuó con la domesticación de otras especies como *S. lalandi*, *S. rivoliana* y *S. dumerili*. En 2011, la producción mundial de *Seriola* fue de más de 160 mil toneladas, siendo China y Japón los mayores productores. Para 2014, solamente Japón alcanzó a producir alrededor de 150 mil toneladas de peces *Seriola*, lo que muestra el

crecimiento y posicionamiento de este cultivo en el mercado. Actualmente, especies como *S. lalandi* y *S. rivoliana* son producidas en países como Nueva Zelanda, Estados Unidos, Australia y algunos países de Latinoamérica, entre otros (Mesa-Rodríguez *et al.*, 2016; Sicuro y Luzzana, 2016).

No obstante, la acuicultura se enfrenta continuamente a problemas que frenan y disminuyen su progreso. Entre las principales problemáticas están las enfermedades congénitas e infecciosas que pueden causar desde malformaciones hasta la muerte, las cuales provocan pérdidas económicas hasta del 20 % (Alvial *et al.*, 2012). Por ejemplo, en 2011, tras la epidemia causada por el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAv) en Chile, hubo pérdidas económicas alrededor de 2,000 millones de dólares (Alvial *et al.*, 2012). En el caso de los peces *Seriola*, se ha reportado que enfermedades como la encefalomielitis, pseudotuberculosis y meningoencefalitis han causado epidemias y mortalidades masivas, principalmente en *S. dumerili* (Sicuro y Luzzana, 2016). Parásitos como *Benedenia seriolae*, *Zeuxapta seriolae*, *Neobenedia spp.* entre otros, han causado muchos de los decesos en los cultivos, donde se ven afectados en su mayoría a los reproductores de *S. lalandi* y *S. rivoliana* (Williams *et al.*, 2007; Roo *et al.*, 2014). El principal cuello de botella en la producción de las especies de *Seriola* es el impacto negativo que tienen las enfermedades antes mencionadas, seguido del poco conocimiento que se tiene de sus requerimientos nutricionales (Sicuro y Luzzana, 2016). Por lo anterior, es de suma importancia implementar técnicas que permitan un mayor control y aprovechamiento de estos recursos, así como generar conocimiento acerca de la mejora en el manejo de estas especies que se están introduciendo gradualmente en el mercado global.

2.2 Microbiota intestinal

Se considera a la microbiota como el conjunto de microorganismos presentes en un espacio determinado, como el tracto intestinal en los animales, que interactúan entre sí y su ambiente (Marchesi y Ravel, 2015). Dicha microbiota está conformada por comunidades de bacterias, virus, protozoarios, hongos, entre otros. Estos colonizan la mucosa intestinal del individuo, también llamado hospedador, y están en contacto directo con la capa externa de mucus que recubre las células del tracto digestivo (Guarner y Malagelada, 2003; Marchesi y Ravel, 2015;

Perdigón y Maldonado, 2015). Esta microbiota se clasifica en dos tipos: la residente y la transitoria. La residente hace referencia a todas esas comunidades de microorganismos que interactúan y se asocian de manera permanente con la mucosa intestinal. Mientras que los microorganismos que se encuentran en el lumen intestinal, más asociados al alimento, son los transitorios, que a su vez suelen ser los más susceptibles a las condiciones ambientales y comúnmente se pueden encontrar en las heces (Escobar-Briones *et al*, 2006; Rubio, 2016).

Los microorganismos que componen la microbiota intestinal están involucrados en numerosas funciones fisiológicas del individuo, tales como la digestión, absorción de nutrientes, homeostasis, inmunidad contra patógenos, entre otros. Esto es gracias a los productos del arsenal de genes que componen la microbiota, ya que proveen al hospedador de moléculas que le permiten y facilitan estos procesos (Guarner y Malagelada, 2003; Sommer y Bäckhed, 2013). Los principales papeles que desempeña la microbiota intestinal son de función metabólica y función de barrera o defensa (Sommer y Bäckhed, 2013). La metabólica básicamente apoya en la digestión de los alimentos y ayuda en la absorción de ciertos nutrientes que no pudieron ser asimilados por el mismo organismo. En este sentido, los microorganismos presentes en la mucosa intestinal, proveen al animal de enzimas especializadas para cierto tipo de compuestos y ayudan a la síntesis de metabolitos que facilitan el transporte y absorción de nutrientes. Por otro lado, la función de barrera o defensa sirve para proteger al organismo de agentes patógenos mediante la estimulación en la producción misma del mucus protector para las células intestinales. De la misma manera, las bacterias y otros microorganismos presentes compiten por nutrientes y espacio frente a los patógenos. La microbiota también estimula el sistema inmune al secretar sustancias que ayudan al desarrollo de las células blancas e inhiben el crecimiento de otras bacterias (Sommer y Bäckhed, 2013; Wang *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2019). Diversos estudios han sugerido que la microbiota intestinal no solamente interviene en procesos de metabolismo y digestión, sino que también podría estar involucrada en funciones neurológicas e incluso de modulación génica (Ye *et al.*, 2014; Gómez-Gil *et al.*, 2017).

La formación de la microbiota en las primeras etapas de vida es sumamente importante para el correcto desarrollo del individuo. La composición microbiana se empieza a dar justo desde el

nacimiento. En animales terrestres, principalmente en mamíferos, la microbiota materna es la fuente inicial de microorganismos que colonizarán al nuevo individuo (Lin *et al.*, 2019; Sepulveda y Moeller, 2020). En el caso de los animales acuáticos, la microbiota es determinada por el contacto directo que tienen con el ambiente que los rodea, por lo que el establecimiento de la microbiota residente depende mayormente por las condiciones ambientales en las que estos se encuentran (Estrada-Godinez *et al.*, 2015; Przeslawski *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018). El establecimiento de la microbiota intestinal inicial en un individuo es muy importante, no obstante, esta composición va cambiando a lo largo del tiempo debido a que es altamente influenciada por el medio (Suárez, 2017). La composición microbiana se ve modulada tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos se encuentra la genética, edad, motilidad intestinal e incluso el género (Li *et al.*, 2016). Los factores externos, por otro lado, están dados principalmente por la dieta, seguido de condiciones medioambientales, como la temperatura y salinidad del agua, así como medicamentos, estilo de vida e higiene (Hovda *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Debido a esto, se hace mención a que cada individuo tiene su propio y único perfil microbiano en la microbiota intestinal (Sommer y Bäckhed, 2013; Suárez, 2017).

Estudios recientes indican que las variaciones de temperatura causan alteraciones en la estructura microbiana del tracto intestinal, que a su vez provoca cambios en el desempeño fisiológico del organismo (Dehler *et al.*, 2017; Sepulveda y Moeller, 2020). No obstante, la respuesta de cada animal a los diferentes factores externos no es la misma. Por ejemplo, en animales endotermos, la temperatura ambiental no juega un rol tan importante en la variación de la microbiota, como lo hace en animales ectotermos tales como los peces (Dehler *et al.*, 2017; Lin *et al.*, 2019; Sepulveda y Moeller, 2020). En un estudio realizado por Neuman y colaboradores en 2016, se observó que al aumentar la temperatura de 12° a 13° C en el cultivo de salmón atlántico (*Salmo salar*), hubo un aumento en las bacterias del género *Vibrio*, el cual es conocido por incluir especies o cepas patógenas u oportunistas. Un caso similar fue observado en estudios con *S. lalandi*, donde el aumento de hasta 2°C en la temperatura alteró la abundancia relativa de las *Gammaproteobacterias* (Soriano *et al.*, 2018; Sepulveda y Moeller, 2020).

La palabra “core” hace referencia a núcleo o centro, por lo que el *core* microbiota está definido como aquellas comunidades bacterianas que se comparten entre un grupo de individuos o hábitat específico (Risely, 2020). Una parte considerable de las bacterias que forman parte del *core* microbiota están asociadas con las características propias de la especie o de un conjunto de condiciones dadas (Kokou, *et al.*, 2019). Desde el punto de vista ecológico, estas especies son conocidas como generalistas, las cuales pueden ayudar a explicar en gran medida su funcionalidad en cierto ambiente como el gastrointestinal. El concepto de *core* microbiota considera no solamente a los microorganismos que son altamente abundantes, sino también a aquellas comunidades que se mantienen estables dentro de los individuos sin importar que haya cambios en el estilo de vida (Lemanceau *et al.*, 2017; Kokou, *et al.*, 2019).

Hoy en día, comprender las interacciones entre el hospedador y su microbiota es de suma relevancia. Diversos estudios sugieren que la microbiota intestinal puede ayudar a explicar en gran parte el estado de salud de un individuo (Givens, 2007; Salas-Leiva *et al.*, 2017). Por ello, el estudio de la microbiota intestinal ha avanzado a pasos agigantados en los últimos años gracias a la implementación de tecnologías de secuenciación de última generación, los cuales se han enfocado principalmente en la medicina y nutrición (Sepulveda y Moeller, 2020). El uso de antibióticos en los sistemas de producción alimentaria ha reducido sustancialmente la prevalencia de muchas enfermedades. Sin embargo, pueden provocar una disbiosis de la microbiota intestinal, es decir, que el establecimiento bacteriano de la microbiota no ocurra de manera apropiada y haya un desequilibrio, lo que a su vez afecta en el correcto desarrollo del individuo (Wang *et al.*, 2018; Jia *et al.*, 2021). Los experimentos realizados en animales han demostrado que prácticas simples como un cambio en las dietas o en las condiciones de cultivo, generen variaciones en el perfil microbiano del tracto intestinal, lo que mejora la resistencia a ciertas enfermedades parasitarias e incluso un mayor rendimiento de los sistemas (Yang *et al.*, 2017; Soriano *et al.*, 2018).

2.3 Microbiota intestinal y su papel en los sistemas acuícolas

Los microorganismos se encuentran en absolutamente todos los ecosistemas: suelo, aire, agua, animales, plantas, e incluso hasta en los lugares más inhóspitos, ya que la mayoría puede

sobrevivir a condiciones extremas. En todos estos lugares, los microorganismos desempeñan funciones esenciales para mantener el equilibrio de la vida en la Tierra (Rodríguez-Peña, 2017).

En conjunto, todos los microorganismos existentes integran la mayor parte de la biomasa en el planeta, por lo que su presencia es fundamental en cada rincón del mundo (Madigan *et al.*, 2018). Estos fungen como productores de oxígeno, fijadores de gases y nutrientes, descomponedores de materia orgánica, controladores biológicos. Así como también tienen gran utilidad en la medicina, la industria, producción de alimentos y tratamiento de aguas residuales y suelos contaminados, entre otros (Rodríguez-Peña, 2017; Madigan *et al.*, 2018). El agua provee un excelente hábitat para los microorganismos y su presencia en esta es de suma importancia para la supervivencia de los seres vivos que en ella habitan. No obstante, el agua marina, por su temperatura, salinidad y luz solar, generalmente contiene menos nutrientes que el agua dulce, por lo que en estos ecosistemas existe menos cantidad de microorganismos y estos poseen células más pequeñas (Joshi *et al.*, 2016; Madigan *et al.*, 2018). En la vida marina, factores como el cambio climático y la acidificación del océano, son un punto clave en la supervivencia de estos seres vivos (Przeslawski *et al.*, 2015).

Como se ha mencionado previamente, en la microbiota transitoria, la composición cambia constantemente en respuesta a las condiciones ambientales. Los microorganismos que componen la microbiota intestinal de los animales acuáticos no existen como una entidad absoluta, sino que hay una interacción constante entre el medio externo y el del animal, de manera que estos animales comparten básicamente el mismo ecosistema con las bacterias y demás microorganismos presentes en su tracto digestivo (Cahill, 1990; Gómez-Gil *et al.*, 2017).

Por ejemplo, en un estudio realizado por Wu y colaboradores en 2012 se reportó que la microbiota gastrointestinal de la carpa china (*Ctenopharyngodon idella*) era similar a la encontrada tanto en el agua como en los sedimentos. A pesar de que los estudios acerca de la microbiota intestinal han ido en aumento en los últimos años, es mucho lo que aún se desconoce, sobre todo en el área acuícola (Llewelyn *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018). Las investigaciones en mamíferos apuntan que la dieta es el factor principal en la conformación de

ésta (Lin *et al.*, 2019). Sin embargo, la microbiota de los peces, además de estar influenciada por la alimentación, también está estrechamente relacionada con las condiciones ambientales, tales como temperatura, salinidad, luz solar, entre otros (Dehler *et al.*, 2016; Salas-Leiva *et al.*, 2017).

Estudios recientes indican que, en peces, tanto marinos como dulceacuícolas, se ha determinado que *Proteobacteria* es el filo dominante, seguido de *Firmicutes*, *Fusobacteria* y *Bacteroidetes*, y éstos comprenden hasta el 90 % de los grupos bacterianos presentes en el tracto digestivo (Givens, 2007; Wang *et al.*, 2018; Sepulveda y Moeller, 2020). En larvas de peces, los factores que intervienen en la formación de la microbiota autóctona son los microorganismos en el huevo, los presentes en el agua y el alimento vivo que se le proporcione en estas primeras etapas. Esta microbiota es la que le ayudará a la larva a completar su metamorfosis y el desarrollo del tracto gastrointestinal (Ringo, 1999; Wang *et al.*, 2018). En 2004, Rawls y colaboradores fueron los pioneros en comprobar los efectos de la microbiota intestinal en peces. Estos investigadores elaboraron un modelo de crianza libre de gérmenes con el pez cebra (*Danio rerio*), el cual sería el primer pez gnotobiótico. En dicho estudio, se demostró que la microbiota intestinal es la encargada de regular alrededor de 200 genes relacionados con el metabolismo y absorción de nutrientes, y una parte de estos también eran regulados por la microbiota de un modelo mamífero. Así mismo, diversas investigaciones han comprobado la gran influencia del agua y sus condiciones, tales como temperatura y salinidad, en las variaciones que tiene la microbiota intestinal de peces. La temperatura juega un rol muy importante en el establecimiento de los microorganismos (Sepulveda y Moeller, 2020). Un estudio reciente reportó que en el caso de salmón atlántico (*Salmo salar*), la concentración de bacterias acidolácticas variaba según la estación del año (Zarkasi *et al.*, 2014). Horlick y colaboradores (2020), caracterizaron la microbiota en la mucosa del intestino de juveniles de *S. lalandi* y su respuesta a diferentes dietas y temperaturas (22° C y 26° C). Estos encontraron que la abundancia relativa cambiaba en función de la temperatura, y sugieren que la combinación de dietas basadas en soya y el incremento de temperatura, facilita la invasión de patógenos. En un estudio similar, realizado por Soriano y colaboradores en 2018, se reportó que a 20° C se encontraba mayor abundancia y riqueza en la composición microbiana, y a 26° C estas se veían disminuidas. Esto demuestra que la estructura del perfil microbiano está estrechamente relacionada con la temperatura con que se maneja el agua (Zarkasi *et al.*, 2014; Neuman *et al.*,

2016). Por otro lado, se desconoce con exactitud cuál es el efecto de la salinidad en la modulación del microbioma intestinal. Sin embargo, se ha descrito que existen diferencias entre los microorganismos de peces dulceacuícolas y marinos, lo que podría ser explicado por las diferencias en la concentración salina (Meng *et al.*, 2018; Horlick *et al.*, 2020; Fossmark *et al.*, 2021). Estudios realizados en tilapia del Nilo y salmón atlántico, mostraron que la composición microbiana varía a diferentes concentraciones de salinidad, en donde a mayor concentración, se observó una menor abundancia total de bacterias (Zhang *et al.*, 2016; Fossmark *et al.*, 2021) De esta manera, el manejo apropiado de los factores que influyen en el establecimiento microbiano del intestino de los peces representa un punto clave en las prácticas acuícolas.

2.4 La microbiota y su influencia en la nutrición acuícola

La investigación en la nutrición acuícola se ha enfocado en encontrar las mejores alternativas de alimentos en los cultivos intensivos y semi-intensivos de organismos acuáticos. Ésta evalúa las diferentes respuestas fisiológicas y nutrimentales en las especies de interés comercial con la finalidad de ofrecer mejores productos al mercado a menores costos de producción (Gómez-Gil *et al.*, 2017; Santillán, 2020). Numerosas investigaciones se han encargado de estudiar y comparar el comportamiento animal ante diferentes dietas para determinar las opciones que mejoren el rendimiento de la especie. Por ejemplo, en 2020, Blaufuss y colaboradores observaron un aumento significativo en las tallas de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) cuando se les alimentaba con una dieta basada en plantas con 40 % de proteína de soya.

A pesar de los diferentes factores externos e internos que intervienen en la formación del microbioma del intestino, la ingesta ha sido reconocida como el factor principal que determina la diversidad y estructura de la comunidad microbiana en el tracto digestivo de los peces (Osuna, 2016; Gómez-Gil *et al.*, 2017). Distintos estudios han reportado que la composición de la dieta y el origen de los ingredientes con los que se elaboran los alimentos balanceados, influyen en la microbiota de peces como la trucha y el pargo (Desai *et al.*, 2012; Perdigón y Maldonado, 2015; Osuna, 2016). Desai y colaboradores, demostraron en el 2012 que en trucha arcoíris, las dietas con alto contenido vegetal tienden a aumentar la relación entre los filos *Firmicutes* y *Proteobacteria*, comparado contra una dieta que tiene como base la harina de pescado. Por

otro lado, en los peces carnívoros como el pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*), se ha evidenciado que cuando éstos cambian su alimentación desde una dieta con proteínas de origen animal a una con proteínas de origen vegetal, se observa una disminución en la proporción de *Proteobacterias* y un aumento en *Fusobacterias* (Osuna, 2016).

La importancia de conocer los efectos que tienen las variaciones de las dietas en la microbiota intestinal, radica precisamente en que los microorganismos que la colonizan tienen un impacto significativo sobre el desarrollo y salud del animal. La alimentación es tan importante en estos aspectos que se ha demostrado que cuando los peces se encuentran en estado de inanición, aumenta la cantidad de bacterias pertenecientes al filo *Bacteroidetes* y junto con ella los genes y bacterias que contienen genes que codifican para resistencia a antibióticos (Xia *et al.*, 2014). Sin embargo, es poco lo que se conoce de la microbiota en peces bajo condiciones estándar de cultivo. En un estudio realizado por Salas-Leiva y colaboradores en 2020, se caracterizó la microbiota intestinal de juveniles de *Seriola rivoliana* bajo un esquema de dieta y cultivo estándar. Estos autores encontraron que, bajo estas condiciones, *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* fueron los filos más abundantes, de los cuales, los primeros 2 han sido asociados directamente con la ingesta. Este tipo de investigaciones sirve para conocer el estado común de la estructura microbiana, y a su vez, poder realizar modificaciones en la misma con el fin de encontrar alternativas que mejoren el rendimiento de los cultivos. Por ejemplo, numerosos autores han demostrado que la adición de ciertos probióticos en la dieta, al mismo tiempo que aumenta la riqueza de los microorganismos en la microbiota intestinal, también incrementa la actividad enzimática digestiva, la respuesta inmune e incluso la tasa de crecimiento en peces (Hasan *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Jang *et al.*, 2020). Un ejemplo de esto último, es la publicación de Gonçalves y Gallardo-Escárte en 2016, donde se observó que al agregar pre y probióticos en la dieta de trucha arcoíris, se elevaba la abundancia de microorganismos pertenecientes a los filos *Firmicutes* y *Fusobacteria*, dentro de los cuales se encuentran grupos de bacterias que pueden resultar favorables para el pez. Desde otro punto de vista, Dam y colaboradores (2020) observaron que en *S. lalandi*, la riqueza y diversidad bacteriana disminuía cuando la dieta incluía ingredientes tales como harina de sangre y harina de gluten de maíz. En ese mismo sentido, se ha reportado que en *S. lalandi*, la riqueza y diversidad de bacterias

aumenta cuando se le suministran dietas con alto contenido de lípidos, sobre todo cuando esta especie se encuentra a temperaturas por debajo de las condiciones óptimas de cultivo. A su vez, estos resultados también se ven relacionados con un aumento en la capacidad metabólica del pez (Larios-Soriano *et al.*, 2018). Por esto, la generación de conocimiento acerca de las funciones que la microbiota intestinal tiene sobre el organismo y los efectos que conlleva su conformación, ayudarán a mejorar las prácticas de producción y cultivo de una especie de interés.

2.5 Métodos para analizar la microbiota

Debido a que la mayoría de los microorganismos existentes en la naturaleza no se pueden cultivar por medio de las técnicas tradicionales de la microbiología, en los últimos años se han desarrollado métodos moleculares que permiten analizar el ADN de éstos a partir de muestras ambientales. La identificación de todos los microorganismos presentes en una comunidad dada a través de su genoma es a lo que se le conoce como metagenómica (Bonilla-Rosso *et al.*, 2008; Suárez, 2017). A pesar de que aún resulta imposible conocer y analizar a todos y cada uno de los microorganismos presentes, esta técnica ha permitido expandir el conocimiento que se tiene acerca del papel que juegan en su ambiente conocidos y, a su vez, entender su función en el mundo (Bonilla-Rosso *et al.*, 2008; Ni *et al.*, 2013).

Existen diferentes métodos para caracterizar la microbiota de un ambiente específico. Para evaluar el censo microbiano se han explorado técnicas como el uso de marcadores moleculares o la amplificación de genes específicos como el del 16S ARNr o 18S ARNr (Marchesi y Ravel, 2015). Actualmente, una de las que ha tenido mayor relevancia en las investigaciones más recientes es la secuenciación masiva o secuenciación de próxima generación (NGS por sus siglas en inglés), ya que genera una gran cantidad de información a la par de que reduce los costos y tiempos de análisis (Hernández *et al.*, 2020). Esta técnica consiste en la extracción de ADN de la comunidad microbiana de la muestra que se desea caracterizar, para luego amplificar y secuenciar regiones conservadas del gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal. Dicho gen ha sido considerado como la diana universal para la identificación de bacterias debido a que, por sus características, permite distinguir desde familias y en algunos casos hasta

especies. A la fecha se conocen diferentes herramientas y plataformas de secuenciación, pero dentro de las más populares están Roche e Illumina (Ames *et al.*, 2017; Suárez, 2017; Hernández *et al.*, 2020).

Para la identificación de las bacterias pertenecientes a la microbiota que se pretende examinar, se utilizan una serie de análisis bioinformáticos. Esto se realiza con el uso de softwares y paquetes que funcionan con lenguajes de programación, como QIIME o Mothur (Knight *et al.*, 2018; Hernández *et al.*, 2020). En ciertas técnicas, estos programas proceden a limpiar, alinear y ensamblar las secuencias obtenidas de la secuenciación masiva, para finalmente obtener clusters llamados OTUs (Operational Taxonomic Units) que agrupan aquellas secuencias con cierto porcentaje de similitud. Estos OTUs contienen la información taxonómica asignada a dichas agrupaciones, y que, a partir de la comparación con bases de datos, permiten la clasificación e identificación a nivel de filo, familia, género e incluso hasta especie de las bacterias encontradas (Marchesi y Ravel, 2015; Suárez, 2017; Knight *et al.*, 2018). Por último, para poder determinar y medir la biodiversidad en el microbioma, se utilizan indicadores de diversidad alfa y beta. Para la diversidad alfa, se evalúa la diversidad, abundancia y riqueza de cada una de las muestras, y dentro de los índices más utilizados están Simpson, Shannon y Chao1. Para analizar la diversidad beta, que evalúa la disimilitud entre muestras, la técnica más habitual es el análisis de coordenadas principales (PCoA), (Suárez, 2017; Hernández *et al.*, 2020).

Esto ayuda a esclarecer el estado de la microbiota para poder determinar los beneficios y las funciones que tienen la microbiota intestinal o cualquier otro tipo de microbiota en un ambiente específico.

3. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día, la medicina, la nutrición e incluso la producción de alimentos, están enfocadas en el estudio del efecto y composición de la microbiota en organismos y el medio ambiente. Se ha demostrado que la microbiota intestinal tiene un papel fundamental en el desarrollo, crecimiento y salud de los animales, ya que realiza labores que intervienen principalmente en la digestibilidad y absorción de nutrientes, así como la inmunidad frente a patógenos. Por otro lado, la acuicultura es un sector que ha crecido notablemente en las últimas décadas y se considera como una de las soluciones para satisfacer la demanda creciente de alimentos a nivel mundial. De la misma manera, la microbiota presente en el tracto intestinal de los peces juega un papel de suma importancia en el establecimiento de cultivos exitosos. Actualmente, la información que se tiene acerca de la microbiota en peces marinos es muy limitada y dispersa. La elaboración de informes sobre el estado del arte en esta materia abre una oportunidad y permite conocer la importancia y las implicaciones que tiene el estudio de la microbiota gastrointestinal en los peces y su producción. Dichos estudios deben estar enfocados en la mejora del rendimiento de los cultivos acuícolas, ya que se considera que esta podría representar una solución a muchos de los problemas que enfrenta este sector.

4. HIPOTESIS

En peces del género *Seriola* criados bajo condiciones de cultivo estándar será posible identificar una microbiota común que esté dado por las características propias del género.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Identificar la microbiota común de peces del género *Seriola* cultivados bajo condiciones de cultivo estándar

5.2 Objetivos particulares

1. Definir el estado del arte en los estudios de la microbiota gastrointestinal de peces marinos para identificar los factores que influyen en su composición y estructura.
2. Describir la composición de la microbiota intestinal de peces del género *Seriola* a partir de secuencias obtenidas de las bases de datos disponibles en los repositorios digitales abiertos.
3. Determinar e identificar las variaciones en la estructura de la microbiota intestinal, así como también la microbiota común de peces *Seriola* spp. criados en diferentes centros de cultivo bajo condiciones de estándar.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de secuencias

Para el análisis de la microbiota intestinal, se buscaron dentro de la literatura disponible, estudios realizados en peces del género *Seriola*. Esta búsqueda se elaboró con la finalidad de seleccionar las secuencias originales de los artículos publicados y realizar los análisis con los controles de dichas investigaciones. Para el criterio de selección de los artículos, se tomaron en cuenta tres factores: (i) Que fueran estudios realizados en peces del género *Seriola* y que incluyeran secuencias control, es decir, peces criados bajo un esquema de cultivo estándar, (ii) que la plataforma Illumina fuera la utilizada para la secuenciación, y (iii) que se haya amplificado la región hipervariable V3 del gen 16S ARNr. A partir de esta búsqueda, se elaboraron los análisis correspondientes a las secuencias obtenidas. Finalmente, se seleccionaron tres artículos, de los cuales dos fueron desarrollados en *S. lalandi* y uno en *S. rivoliana*. Dicha selección permitió formar tres grupos de estudio.

6.2 Análisis bioinformáticos

Las secuencias Fastq recuperadas de los estudios revisados se procesaron con el software Mothur (The University of Michigan; Ann Arbor, MI, USA) según lo recomendado por Kozich *et al.* (2013). Brevemente, mediante el pipeline MiSeq SOP (https://mothur.org/wiki/MiSeq_SOP), se ejecutó Mothur (Shloss *et al.*, 2009), donde se estableció una carpeta de trabajo y posteriormente se combinó el conjunto de lecturas mediante el comando `make.contigs` para extraer las secuencias y los datos de puntuación de calidad del Fastq. Se creó el complemento inverso de la lectura para después unirlos en contigs. En este comando se eliminaron las bases con una calidad phred inferior a Q25, después se eliminaron las bases ambiguas y toda lectura mayor a 430 nucleótidos. Posteriormente se agruparon las secuencias permitiendo hasta 2 nucleótidos de diferencias entre ellas. Las secuencias quiméricas se eliminaron usando el algoritmo VSEARCH. Las lecturas restantes fueron alineadas con la base de datos SILVA v138 del Grupo de Bioinformática y Genómica Microbiana del Instituto Max Planck de Microbiología Marina, Alemania (Yilmaz *et al.*, 2014). Las secuencias se agruparon en OTUs (Unidades Operacionales Taxonómicas) con un porcentaje de similitud del 97 % y se juntaron en filotipos de acuerdo a su clasificación taxonómica para obtener las especies bacterianas. Para los

indicadores de diversidad alfa se utilizaron los índices Shannon y Chao1 donde se tomaron en cuenta los OTUs generados. Para calcular la diversidad beta se utilizó la medida de disimilitud de Clayton y se generaron las gráficas de análisis de coordenadas principales (PCoA) en el paquete estadístico Excel.

6.3 Análisis estadísticos

Las gráficas de composición y abundancia por filo, orden y familia fueron generadas en el paquete estadístico Excel. A partir de los documentos generados en Mothur, se obtuvieron las gráficas de los índices Shannon y Chao1 en el software R. Por otro lado, los OTUs detectados fueron identificados mediante la secuencia de nucleótidos en el repositorio digital EZbiocloud (www.ezbiocloud.net) por lo que cada OTU representó una especie bacteriana distinta. Posteriormente, el heatmap con la distribución y abundancia de cada OTU en las muestras se obtuvo en el programa ClustVis (www.biit.cs.ut.ee/clustvis). Por último, se generaron las figuras de la microbiota *core* en la plataforma MicrobiomeAnalyst (www.microbiomeanalyst.ca/). En este trabajo se consideró el *core* como aquellas taxas que presentaron una abundancia relativa mayor al 0.01 % y una prevalencia en cada grupo superior a 75 %.

Con respecto a la composición de la comunidad bacteriana y el análisis de la estructura, se aplicaron pruebas de normalidad (prueba Shapiro) y homocedasticidad (prueba Levene) para verificar el origen de los datos y el agrupamiento resultante de los índices de diversidad alfa. Con aquellos que presentaron distribución normal y homocedasticidad se realizó un análisis de la varianza de 1 vía (ANOVA) y la prueba de Tukey para verificar las diferencias entre grupos, y para los datos que no tuvieron distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para esto, se tomó en cuenta un valor estimado de alfa de 0.05. Dichas pruebas fueron ejecutadas en el software R. Finalmente, se realizó la prueba de análisis de varianza molecular (AMOVA) para los datos de diversidad Beta. El AMOVA se implementó con el software Mothur para determinar si el agrupamiento dentro del PCoA fue estadísticamente significativo con un valor de alfa de 0.05.

7. RESULTADOS

El primer grupo de estudio se obtuvo del trabajo realizado en *S. lalandi* por Larios-Soriano *et al.* (2021) en México publicado en la revista *Aquaculture Research*. El segundo grupo fue obtenido del artículo publicado en la revista *Fishes* por Dam *et al.* en 2020, elaborado en *S. lalandi* y desarrollado en Australia. Por último, el grupo 3 se obtuvo del estudio elaborado por Salas-Leiva *et al.* (2020), en *S. rivoliana* y ejecutado en México, publicado en la revista *Molecular Biology Reports*. Se rescataron y analizaron 25 archivos de secuencias obtenidas de 25 muestras de intestino en juveniles de peces *Seriola*. De dichas muestras, 4 son del grupo de *S. lalandi* de México, 12 al grupo de *S. lalandi* de Australia y los 9 restantes corresponden al grupo de *S. rivoliana*. La especificación por grupo se muestra en la Tabla 1. Se obtuvo un total de 2,053,053 lecturas de todas las librerías de las muestras. Al aplicar filtros de calidad se eliminaron aquellas lecturas con errores, quiméricas y que no cumplieran con los estándares, correspondiente al 25 % de ellas y finalmente se analizaron 1,542,216. Posteriormente, con un porcentaje de similitud del 97 %, se asignaron 253 OTUs. En la mayoría de los casos, se pudieron identificar hasta nivel de familia. Se identificaron alrededor de 7 filos presentes en los peces de los tres grupos. Las bacterias del filo *Proteobacteria* fueron las dominantes en todas las muestras, seguido de las *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Debido a que las *Proteobacteria* representaron más del 90 % de los filos en los peces de todos los grupos, se presenta una gráfica de abundancia relativa donde se muestran las clases pertenecientes a este filo. Como se puede observar en la Fig. 1, *Alphaproteobacteria* y *Gammaproteobacteria* fueron las más abundantes en general, mientras que las *Betaproteobacteria* tuvieron menor representación y las *Deltaproteobacteria* se presentaron con un porcentaje menor al 1 % en los peces de los 3 grupos. Sin embargo, en el grupo de *S. lalandi* de Australia (A1), las *Betaproteobacteria* fueron más abundantes que las *Alphaproteobacteria*, a diferencia de los grupos mexicanos de *S. lalandi* y *S. rivoliana* (M1 y M2, respectivamente), donde es evidente la dominancia de esta última clase sobre las demás. Por último, el grupo M2 presentó una mayor diversidad a nivel de clases. Durante la caracterización, se lograron identificar alrededor de 30 órdenes, de los que resaltan las *Rhizobiales* en los peces de los grupos M1 y M2, mientras que las *Vibrionales* son las dominantes en el grupo A1. No obstante, las bacterias pertenecientes al orden *Sphingomonadales* aparecen como uno de los órdenes con mayor abundancia en los peces del grupo M1 (Figura 2).

Tabla 1. Especificaciones por grupo de estudio (1, 2, 3). Se muestran las condiciones control de cultivo de cada grupo y el acrónimo para su identificación.

Especie	GE	No. Acceso	Plataforma	RA	Etapas de vida	#Sec	T	Dieta	Muestra	Referencia
<i>Seriola lalandi</i> (México)	M1	PRJNA7332 24	Illumina	V3	Juveniles	4	24° C	AC (Skretting)	Intestino	Larios-Soriano <i>et al.</i> , 2021
<i>Seriola lalandi</i> (Australia)	A1	PRJNA6085 40	Illumina	V3 y V4	Juveniles	12	20° C	AC (Ridley AquaFeed)	Intestino	Dam <i>et al.</i> , 2020
<i>Seriola rivoliana</i> (México)	M2	MT857964: MT858327	Illumina	V3	Juveniles	9	24° C	AC (OTOHIME)	Intestino	Salas-Leiva <i>et al.</i> , 2020

GE = Grupo de Estudio

RA = Región amplificada del gen 16S ARNr

#Sec = Número de secuencias

T = Temperatura

AC=Alimento comercial

Respecto a las familias, se obtuvieron un total aproximado de 40 propiamente identificadas. En la Fig. 3 se observan las 15 familias más abundantes dentro de las muestras analizadas. El grupo M2 presentó una distribución homogénea de las familias, siendo *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Pseudoalteromonadaceae* las más abundantes. En comparación con los grupos M1 y A1 donde se presentan una dominancia evidente de las familias *Sphingomonadaceae* y *Vibrionaceae* respectivamente.

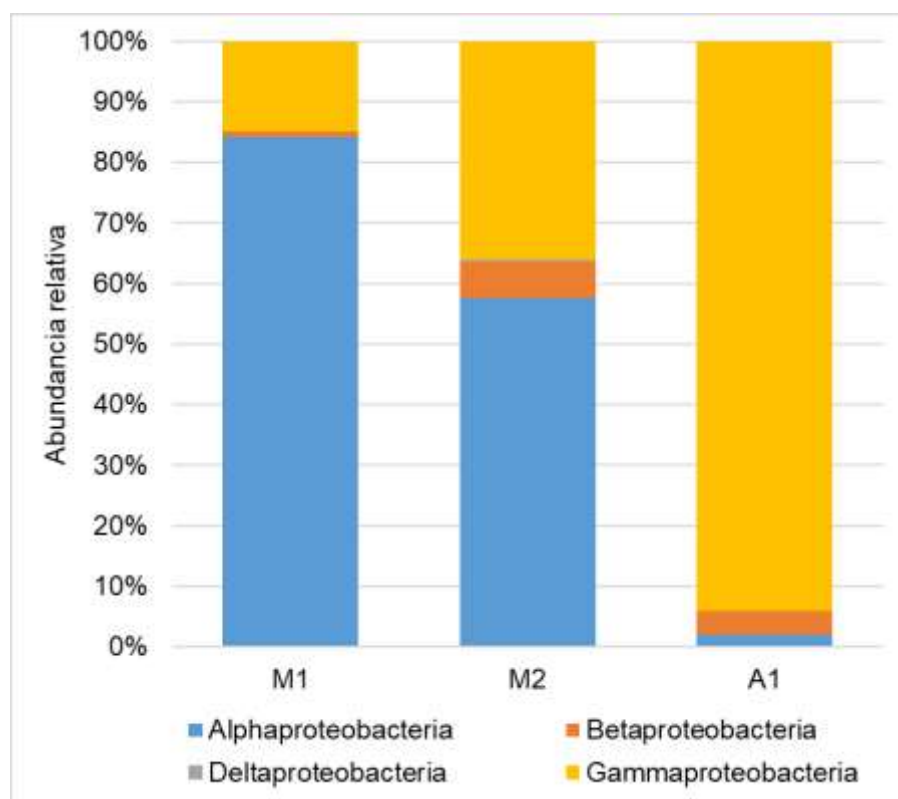


Figura 1. Abundancia relativa a nivel de clase. La abundancia relativa de las clases del filo *Proteobacteria* se muestra por grupo de estudio caracterizado de la microbiota intestinal de M1 (*S. lalandi*-México), M2 (*S. rivoliiana*-México) y A1 (*S. lalandi*-Australia).

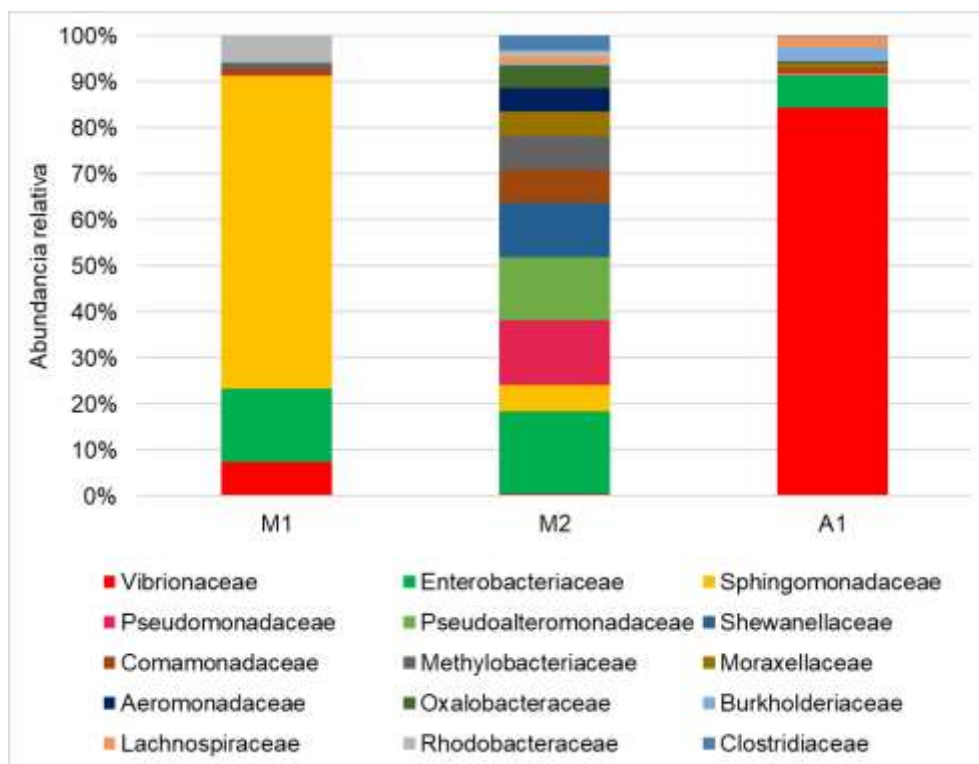


Figura 2. Abundancia relativa a nivel de orden. Se muestran los 15 órdenes más abundantes en los 3 grupos caracterizados de la microbiota intestinal de M1 (*S. lalandi*-México), M2 (*S. rivoliana*-México) y A1 (*S. lalandi*-Australia).

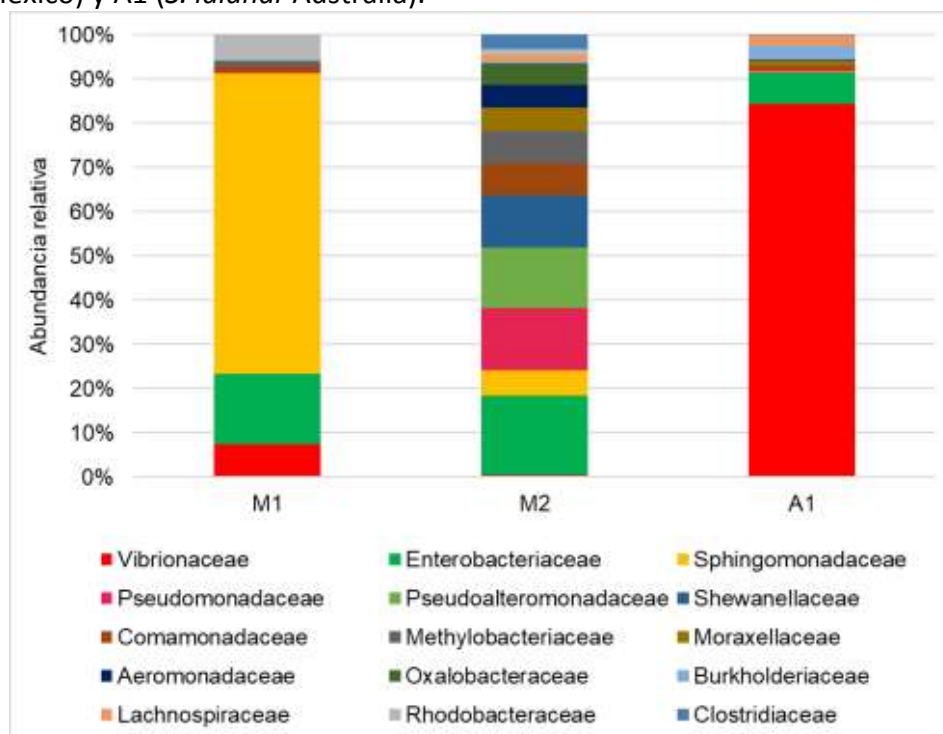


Figura 3. Abundancia relativa a nivel de familia. Se muestra la abundancia relativa de las 15 familias con mayor presencia por grupo de estudio en la microbiota intestinal de M1 (*S. lalandi*-México), M2 (*S. rivoliana*-México) y A1 (*S. lalandi*-Australia).

En el heatmap (Fig.4) se pueden visualizar los OTUs resultantes de los análisis bioinformáticos que presentaron mayor abundancia en cada una de las muestras de los tres grupos estudiados, donde el color rojo representa mayor frecuencia mientras que el color azul simboliza escasa o nula presencia. Para la elaboración de este heatmap, los valores de las lecturas detectadas en las muestras fueron transformadas a \log_{10} . Todos los OTUs mostrados en el mapa pertenecen al filo *Proteobacteria* y la mayoría de ellos son de la clase *Gammaproteobacteria*, a excepción de cuatro de ellos que corresponden a las *Alpha* y *Betaproteobacteria*. Se identificaron un total de nueve familias y 12 géneros diferentes. En este mapa se observa de manera clara la diferencia entre grupos, sobre todo entre M1 y M2 contra A1, ya que los OTUs presentes en el grupo A1 no se comparten con los OTUs que se detectaron en los grupos M1 y M2.

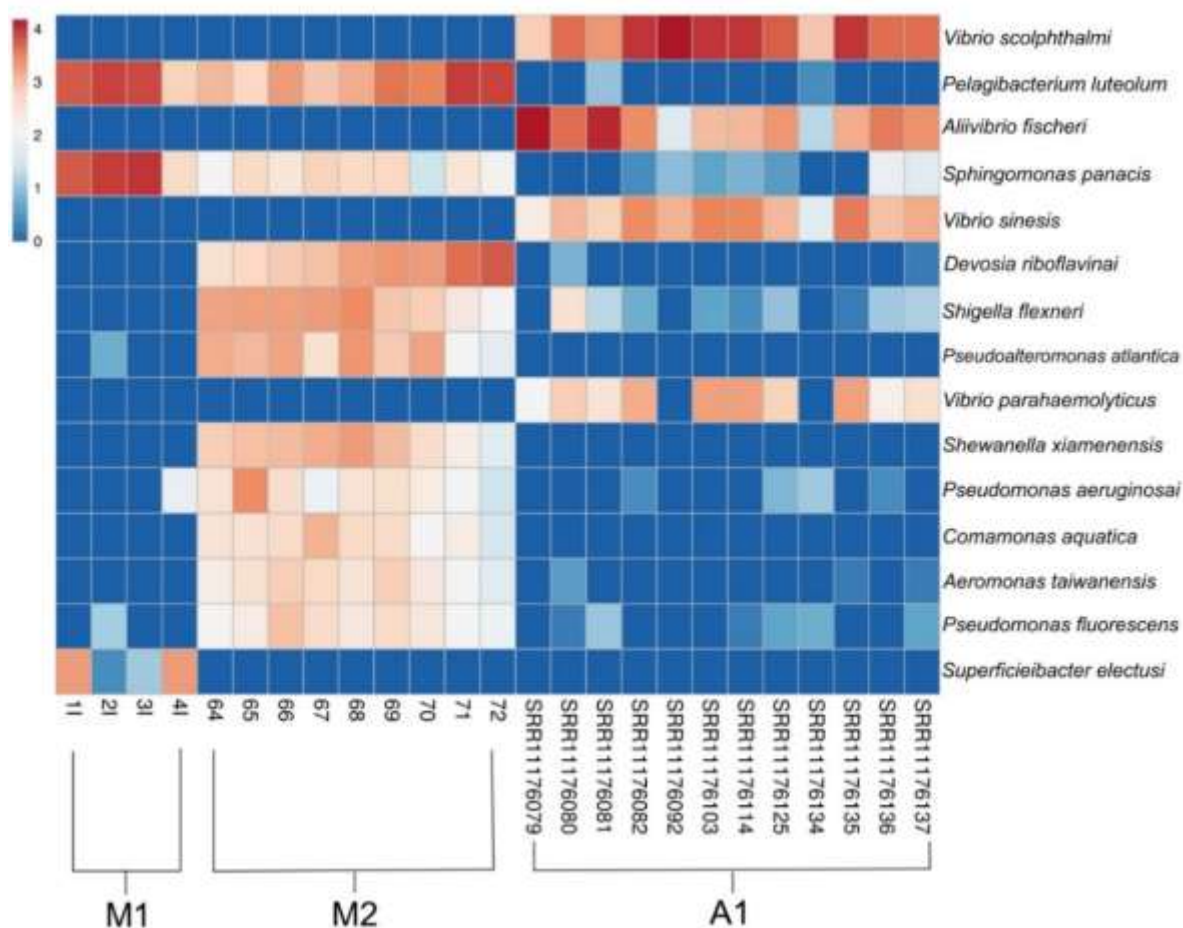


Figura 4. Heatmap de la abundancia por especie bacteriana (OTU). Se visualiza la abundancia de los 15 OTUs más abundantes en las muestras caracterizadas.

En relación a los indicadores de diversidad alfa, estos se calcularon con los índices Shannon, el cual se basa en la abundancia, por lo que mientras mayor riqueza y uniformidad en la abundancia de las especies, mayor valor en el índice, y Chao, el cual mide la riqueza basado en el número de OTUs (especies bacterianas) encontradas con respecto al valor esperado. Dado que estos resultados presentaron distribución normal, al aplicarse la prueba ANOVA, esta arrojó un p -value de 0.016, lo cual indica que hay diferencia estadística en al menos uno de los grupos. Con la prueba de Tukey, se determinó que entre solo el grupo M2 presentó un índice Shannon mayor al del grupo A1 (p -value=0.023), lo cual demuestra que fue más rico y la abundancia de sus OTUs se distribuyó de manera más uniforme. También se observó que entre los grupos M1 y A1 no existe diferencia significativa (p -value=0.945), al igual que entre los grupos M1 y M2 (p -value=0.062). En la Fig. 5 se observa el índice de Shannon para cada grupo. En dicha figura muestra que el grupo M2 presentó la mayor abundancia y diversidad en sus muestras en comparación a los grupos M1 y A1. Esto indica que en dicho grupo existe una mayor diversidad de especies y que cada una de ellas tiene una abundancia relativa notable.

Así mismo, la Fig. 6 presenta de manera gráfica el índice Chao por grupo analizado. Ya que este conjunto de datos no tuvo una distribución normal, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual arrojó que no existe diferencia estadística entre ninguno de los tres grupos analizados (p -value=0.461). Lo último señala que, a pesar de que gráficamente en el grupo M2 parece que se encuentra la mayor parte de la riqueza de especies de bacterias encontradas según lo secuenciado, no se puede afirmar que realmente la tenga. Sin embargo, el índice sigue siendo bajo para los grupos M1 y A1, al igual que en el índice anterior.

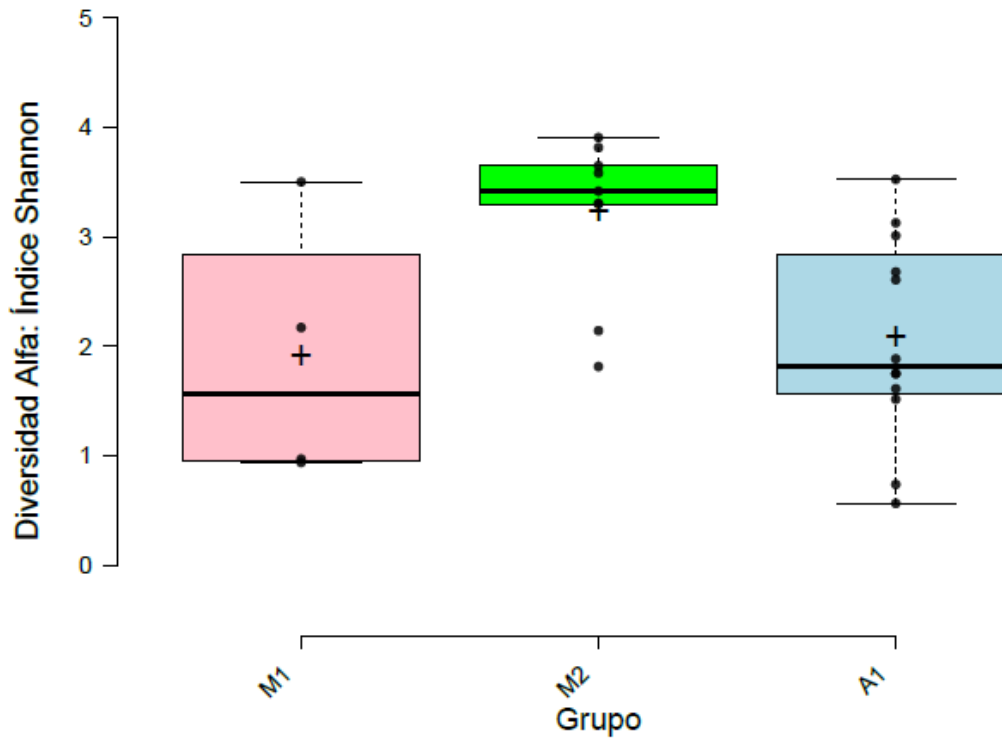


Figura 5. Indicador de diversidad alfa (Shannon). Se presenta en boxplot los índices de diversidad y abundancia con Shannon para cada grupo de estudio.

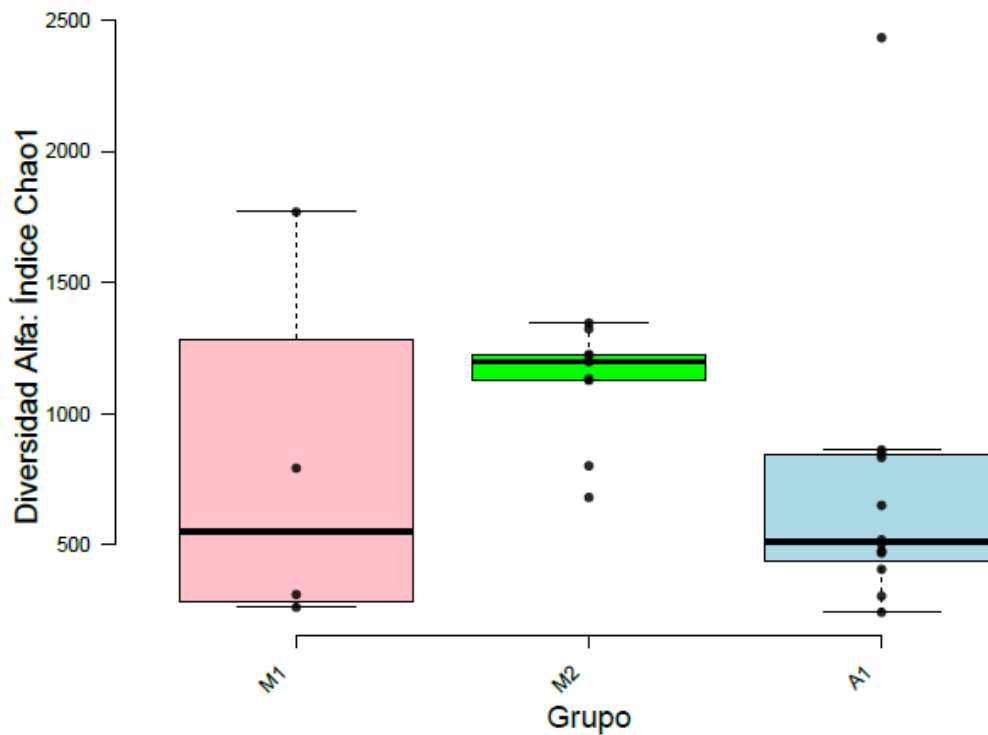


Figura 6. Indicador de diversidad alfa (Chao1). Se presenta en boxplot los índices de riqueza con Chao1 para cada grupo de estudio.

En cuanto a la diversidad beta, el PCoA (Fig. 7) arrojó que el 57 % de la variación observada es explicada por dos ejes. La coordenada principal 1, la cual explica el 41.3 % de la variación, muestra de manera gráfica la diferencia entre grupos. Debido a lo anterior, el AMOVA confirmó que sí hay diferencia estadística significativa entre los tres grupos analizados con un p -value de 0.0001. Estos resultados nos indican que, a pesar de que en los grupos no haya diferencia significativa en la diversidad alfa, la estructura de las comunidades bacterianas asociada a la microbiota intestinal es diferente entre los peces de cada grupo analizado.

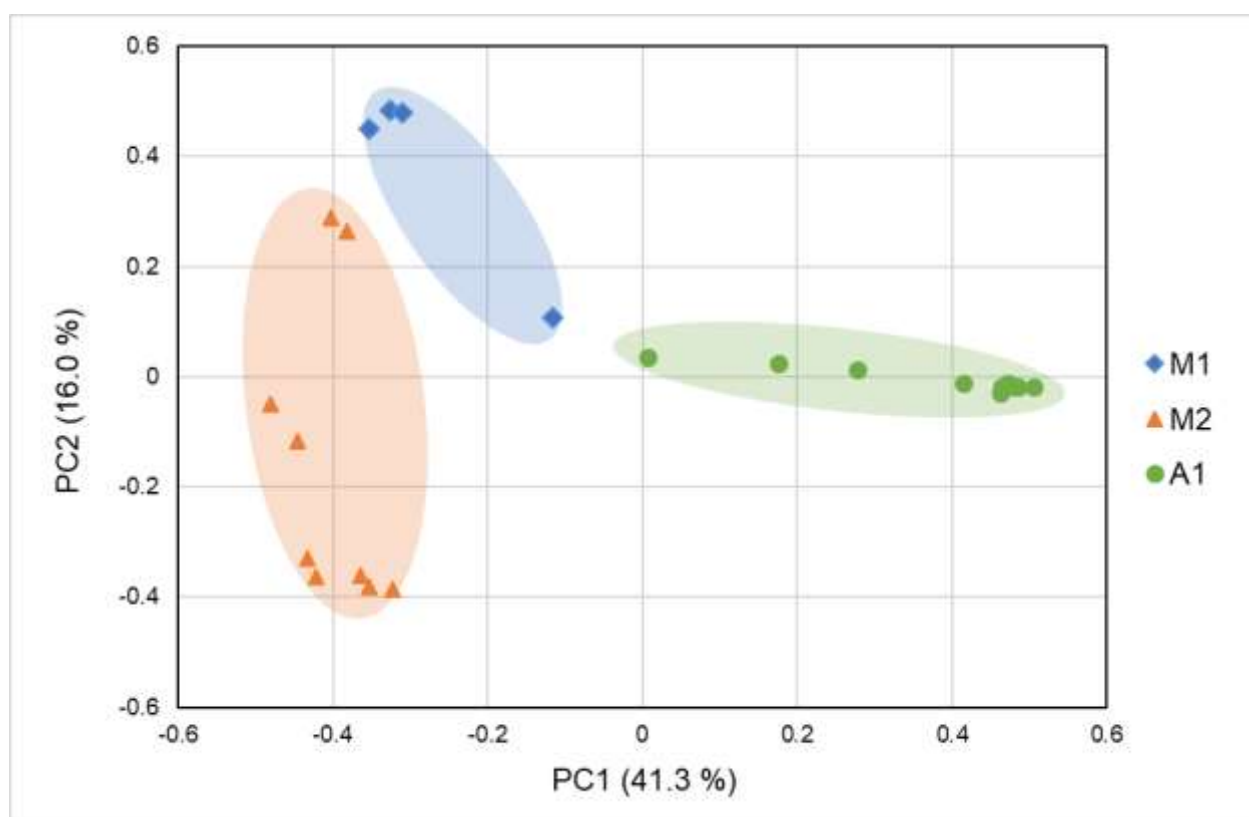


Figura 7. Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la diversidad beta. Se muestra el PCoA basado en la matriz de distancia de Clayton que separa las muestras en los 3 grupos de estudio.

Por último, en la figura de la microbiota *core* (Fig. 8) se muestran las familias con mayor abundancia relativa (>0.01 %) dentro de los tres grupos y su nivel de prevalencia cuando se toman como conjunto para visualizar aquellas que se comparten. Como se puede observar, no existe ninguna familia que presentara una prevalencia mayor a 75 % dentro de los grupos, por lo que no se encontró una microbiota común entre las muestras analizadas.

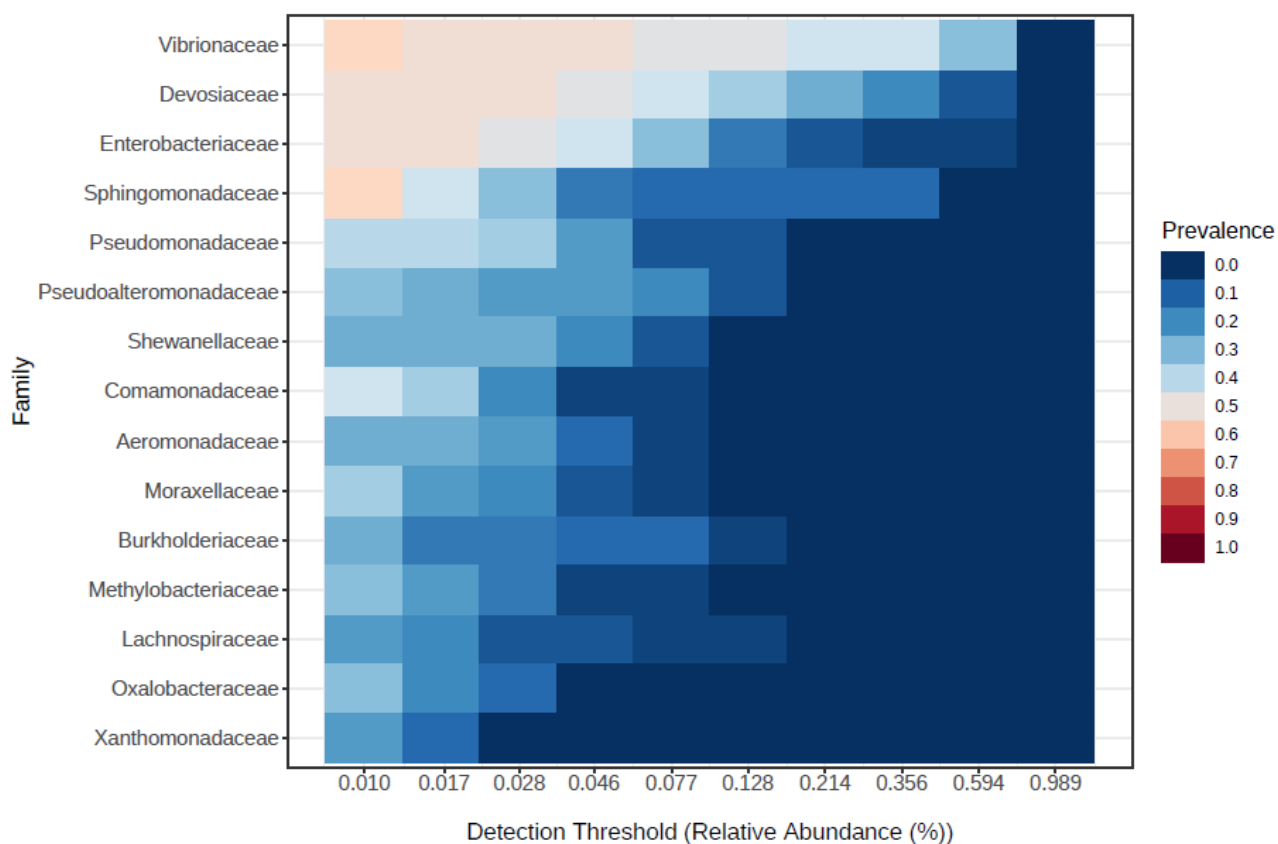


Figura 8. Microbiota *core* a nivel de familia donde se incluyeron los tres grupos analizados (M1, M2 y A1) como conjunto.

Por otro lado, la familia *Devosiaceae* tiene una presencia notable en los grupos M1 (>90 %) y M2 (>90 %) (Fig. 9 y Fig. 10 respectivamente) con una prevalencia de hasta el 100 % y una abundancia relativa mayor a 0.05 % en ambos casos, por lo que se puede afirmar que entre estos dos sí existe una microbiota común. A diferencia de estos, en el grupo A1 (Fig. 11) la familia ya antes mencionada, no tiene presencia alguna dentro de las más abundantes. En ese sentido, las bacterias pertenecientes a la familia *Vibrionaceae* tienen una alta dominancia por sobre las demás en este grupo, mientras que dicha familia que no se encuentra de manera significativa en los grupos M1 y M2

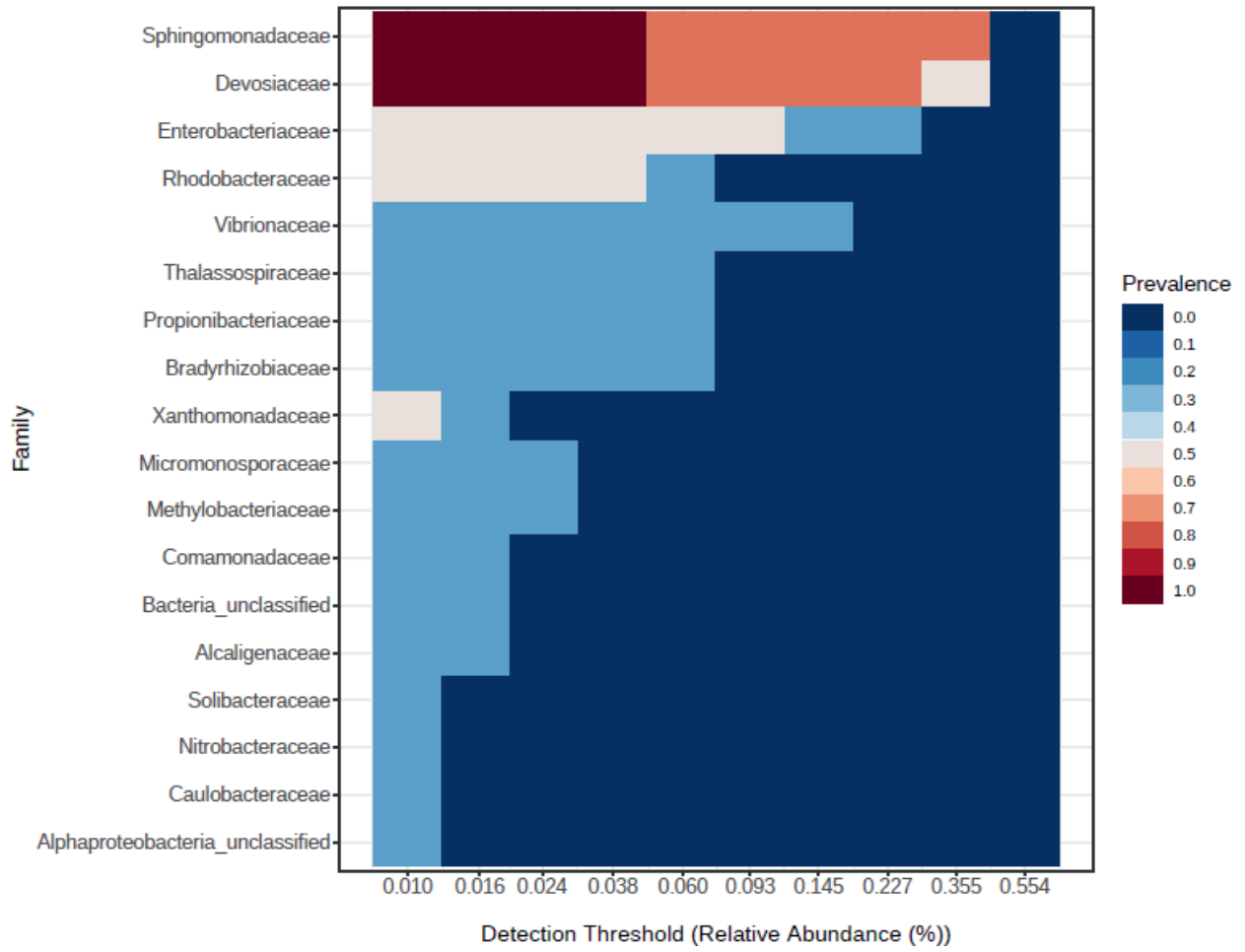


Figura 9. Microbiota core a nivel familia del grupo M1.

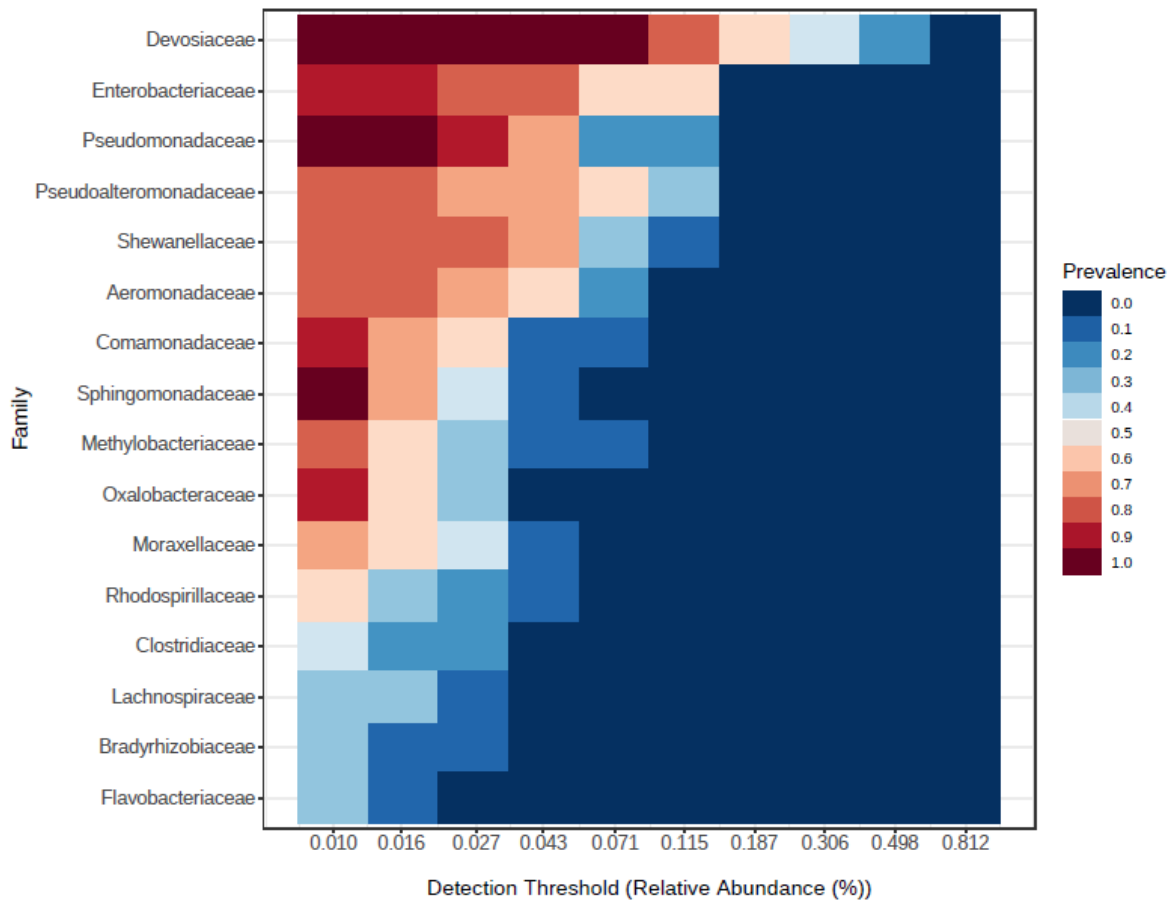


Figura 10. Microbiota core a nivel familia del grupo M2.

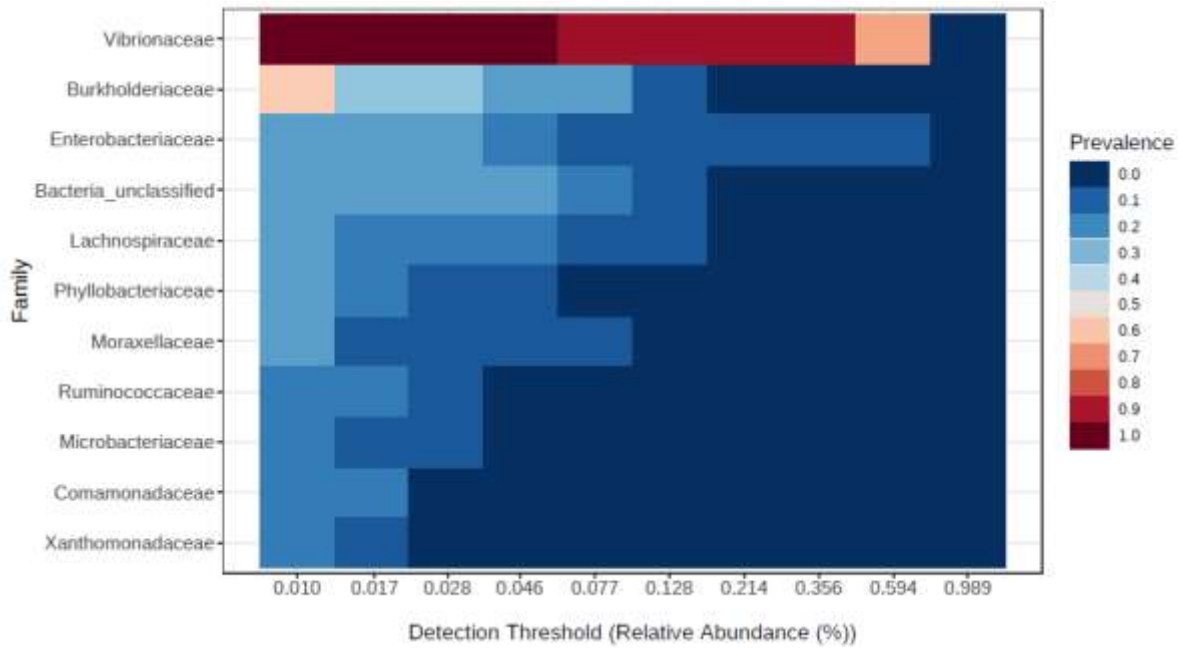


Figura 11. Microbiota core a nivel familia del grupo A1.

8. DISCUSIÓN

Debido a que la acuicultura es un sector que ha crecido considerablemente en los últimos años, es importante encontrar alternativas que hagan de sus prácticas, actividades más resilientes, amigables con el medio ambiente y rentables económicamente (ONU, 2019; FAO, 2020). Se ha demostrado que la microbiota intestinal influye en gran medida en el estado de salud del organismo (Sommer y Bäckhed, 2013). Es por ello que los estudios enfocados a esta sirven como una alternativa en la búsqueda de la mejora de los cultivos, ya que, al manipular de manera positiva a los microorganismos del tracto intestinal, esto resultaría en un ahorro en los gastos de medicamentos para combatir enfermedades, suplementos alimenticios para ganar peso y talla, y disminuiría las pérdidas económicas por decesos (Salas-Leiva *et al.*, 2020). Sin embargo, el estudio de la microbiota intestinal en peces es una disciplina relativamente nueva, por lo tanto, es un área altamente inexplorada. La generación de conocimiento de esta índole es sumamente importante para el correcto entendimiento de dichos temas, y así mismo, presentar soluciones a problemas en el sector. Investigaciones como la de Rawls *et al.*, en 2004, que crearon a uno de los primeros peces gnotobióticos en pez cebra, y Roeselers *et al.* en 2011, que caracterizó la microbiota *core* en la misma especie, ayudaron a sentar las bases para los estudios dirigidos a peces. No obstante, en peces del género *Seriola* existe información limitada, y debido a que son peces de importancia comercial, se considera de gran interés el generar y difundir estudios descriptivos sobre la influencia, funcionamiento y utilidad que tiene la microbiota intestinal para optimizar su manejo.

El presente trabajo da la pauta para poder conocer el comportamiento de las comunidades microbianas entre individuos del mismo género, sometidas a condiciones de cultivo estándar en distintos puntos geográficos. De esta manera, se puede discernir que la composición de la microbiota intestinal no se comporta de manera unilateral, es decir, es altamente influenciada por numerosos factores tanto internos como externos, y que ésta a su vez, tiene gran influencia en el hospedador. El objetivo de este estudio fue comparar la composición y estructura de la microbiota intestinal de peces del género *Seriola* provenientes de diferentes investigaciones para identificar las similitudes y diferencias entre especies y región geográfica de individuos

criados bajo condiciones de cultivo estándar. Hasta el momento de la elaboración de este trabajo, no se tiene conocimiento de que exista un trabajo igual en peces *Seriola* spp.

Con respecto a la composición bacteriana, tal y como se presentó anteriormente, las *Proteobacteria* fueron las más abundantes en todas las muestras. Esto coincide con estudios recientes donde indican que este filo es el que tiene mayor presencia en los peces, sobre todo en aquellos de agua marina, donde representan más del 70 % en las muestras (Wilkes *et al.*, 2019; Parshukov *et al.*, 2019; Salas-Leiva *et al.*, 2020; Larios-Solano *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021). Dentro de las clases pertenecientes a las *Proteobacteria*, las *Alphaproteobacteria* tuvieron dominancia en los grupos M1 y M2, siendo estas las muestras de México, mientras que en el grupo A1, el cual pertenece a un estudio australiano, las *Gammaproteobacteria* fueron las dominantes. Dichos resultados coinciden en su totalidad con que los órdenes dominantes en los grupos M1 y M2 son las *Sphingomonadales* y *Rhizobiales*, pertenecientes a la clase *Alphaproteobacteria*, mientras que en el grupo A1, el orden de las *Vibrionales* es miembro de la clase de las *Gammaproteobacteria*. Desde el nivel clase se puede observar la separación que hay entre grupos, donde M1 y M2 tienden a ser más similares entre sí, a pesar de ser dos especies diferentes. Tal y como se aprecia en las gráficas de abundancia de clase y orden, las bacterias dominantes en M1 y M2 tienden a estar en muy baja proporción en A1, mientras que aquellas que se encuentran en mayor concentración en el grupo australiano, tienen una presencia notablemente baja en los grupos mexicanos. En relación a las familias y de manera general, se observa que el grupo M2 tiene una mayor diversidad de estas en comparación con M1 y A1, donde estos fueron dominados por una sola. Las *Vibrionaceae* son una familia que también se puede encontrar en peces marinos, sobre todo cuando estos fueron alimentados con *Artemia* en su etapa larvaria (Wilkes *et al.*, 2018; Dam *et al.*, 2020; Horlick *et al.*, 2020). No obstante, esta familia se encuentra en una concentración mayor al 80 % en el grupo A1, mientras que en los otros dos grupos no alcanza el 10 %. A pesar de que el grupo australiano y el grupo M1 son la misma especie, los estudios fueron elaborados a temperatura y región geográfica diferente. El origen y calidad del agua, así como la temperatura de esta, juegan un rol fundamental en la conformación de la microbiota intestinal. Con estos resultados se podría discernir que uno de los factores que favorece al crecimiento y establecimiento de las bacterias

de la familia *Vibrionaceae* es la temperatura, en este caso, aquella que oscile entre los 20° C. Este comportamiento también se observó en el estudio australiano realizado por Horlick *et al.*, en 2020, donde la temperatura de cultivo para *S. lalandi* fue de 22° C y las comunidades bacterianas también fueron dominadas por esta misma familia en una proporción mayor al 80 %. La dieta también es un factor clave en el establecimiento de la microbiota intestinal. No obstante, debido a que la dieta en los tres estudios fue de alimentos con base en harina de pescado, es difícil asumir que esta variación en la composición microbiana entre grupos, sea en su mayoría explicada por este factor. Por otro lado, en un estudio elaborado por Wilkes *et al.*, (2018) se indica que, en larvas de *S. lalandi*, las familias pertenecientes al filo *Proteobacterias*, como las *Enterobacteriaceae*, se incrementan después de la transición de alimento vivo a alimento elaborado, mientras que otras, como la *Vibrionaceae*, se ven reducidas en proporción a las demás. Esto coincide con los resultados obtenidos ya que en los tres grupos hay presencia de las *Enterobacteriaceae*. Sin embargo, en el grupo A1 no se ve la disminución de las *Vibrionaceae* a comparación de los demás. El comportamiento del estudio australiano, al ser tan distinto a los estudios de México, abre la puerta para realizar más investigaciones acerca de cómo los parámetros externos pueden tener una mayor influencia sobre la composición microbiana del tracto intestinal en peces, que las características propias de una especie.

En un análisis más profundo de la composición microbiana en los grupos, el heatmap (Fig. 4) muestra aquellas especies que fueron más abundantes por muestra. En esta gráfica se observa de forma muy clara la separación que existe entre A1 contra M1 y M2. De las cinco especies más abundantes en el grupo de Australia, cuatro pertenecen a la familia *Vibrionaceae*, y tres de ellas al género *Vibrio*. Mientras que en los grupos M1 y M2, se comparten de manera representativa las bacterias *Pelagibacterium luteolum* y *Sphingomonas panacis*, pertenecientes a las familias *Devosiaceae* y *Sphingomonadaceae*, respectivamente. En los 3 grupos, las bacterias con mayor concentración en sus muestras coinciden con las familias más abundantes presentadas en la figura 3. Sin embargo, *Pelagibacterium luteolum*, la cual fue la especie que se presentó con mayor frecuencia en las muestras de M1 y M2, no pertenece a ninguna de las familias de dicha figura. Esto da lugar al supuesto de que, a pesar de que esta bacteria tiene una presencia bastante notable, es probable que sea la única especie de esa familia que se encontró en la

caracterización, no obstante, esta se puede considerar como una especie *core* entre estos dos grupos. Por otro lado, se ha reportado que *Pseudomonas* es un género de bacterias que se puede encontrar comúnmente en la microbiota intestinal de peces al igual que *Vibrio*, los cuales fueron los géneros con mayor frecuencia dentro de las muestras (Parshukov *et al.*, 2019, Horlick *et al.*, 2020). Algo que por lo regular llama la atención son aquellas bacterias como la *Vibrio parahaemolyticus*, la cual presenta diversas cepas que pueden resultar patógenas para el hospedador. Esta especie se observa en una concentración notable en el grupo A1, y se ha reportado que dicha bacteria puede ser la causa de enfermedades gastrointestinales en humanos (Zhang y Orth, 2013; FAO, 2021). Dado que este pez está destinado para consumo humano, es importante controlar la presencia de este grupo bacteriano. Según sea el nivel de virulencia de dicha bacteria, algunas cepas también son causantes de enfermedades en la acuicultura, sobre todo en el cultivo de camarón. Por su parte, se ha encontrado que en peces puede causar anemia, hemorragias, lesiones cutáneas, entre otras (Austin, 2010). Es por ello que se considera importante realizar este tipo de análisis, no solo para estudiar la relevancia y funciones de la microbiota intestinal, sino para evaluar el estado de salud de los individuos de interés. En contraste a esto, las *Pseudomonas* se han utilizado en diversos estudios como probióticos en peces para incrementar a respuesta inmune de los organismos ante diversos patógenos (Korkea-Aho *et al.*, 2011; Giri *et al.*, 2014). Lo anterior podría significar que los individuos que contengan mayor cantidad de *Pseudomonas* suelen estar más sanos que aquellos que tengan más *Vibrio*.

Con las gráficas de composición y abundancia a diferentes niveles taxonómicos, fue posible identificar la separación que existe entre grupos, y cómo el grupo de Australia tiende a ser diferente de los grupos mexicanos, a pesar de que M1 y A1 son de la misma especie. No obstante, es importante analizar desde un punto de vista más espacial y ecológico para poder determinar si en realidad dicha divergencia encontrada es realmente significativa. En el caso del índice Shannon (Fig. 5), el cual se enfoca más en la riqueza y uniformidad de las especies, se obtuvo que el grupo M2 solo fue diferente estadísticamente del grupo A1, lo que confirma que el grupo mexicano de *S. rivoliana* es más diverso que por lo menos uno de los grupos de *S. lalandi*. Para esto se debe tomar en cuenta también el número de muestras que se analizaron.

Se podría considerar lógico que M2 fuera más abundante y diverso que M1, ya que este último no alcanza a tener la mitad de muestras que tiene el grupo de *S. rivoliana*. Sin embargo, ocurrió lo contrario, estadísticamente M1 fue el único grupo que no presentó diferencias significativas con ningún otro en este indicador, a pesar de ser el grupo menos numeroso. Esto no quiere decir que sea un grupo abundante y diverso en especies, pero, aunque las pruebas estadísticas arrojaran que entre M1 y A1 no había diferencia, se podría indagar en que sí es ligeramente más diverso debido a que se parece más a M2, el cual sí está separado totalmente de A1. Es interesante el comportamiento del grupo A1, que, al ser el más numeroso, resultó ser el menos abundante y diverso en sus muestras. Por otra parte, lo que divide al grupo australiano del resto, puede ser explicado, como se mencionó anteriormente, por las condiciones del cultivo, ya que los peces de este grupo fueron criados en un ambiente diferente de los otros grupos. Por ejemplo, Larios-Soriano *et al.*, (2021) demostraron que en *Seriola lalandi*, la composición microbiana cambia según los diferentes regímenes de cultivo y dieta, dando como resultado diferencias en los índices de diversidad, a pesar de ser la misma especie. Ellos también reportaron que esta especie tiene un mayor desempeño a temperaturas más cálidas. Otro caso es donde se comparó la microbiota intestinal del pez mero (*Epinephelus fuscoguttatus*) en vida libre y en cultivo, y esto dio como resultado que, aunque es el mismo pez, la diversidad fue mayor en aquellos de vida libre (Hennersdorf *et al.*, 2016). En este sentido, el hecho de que no haya diferencias significativas entre M1 y M2 a pesar de ser especies diferentes, también es explicado por la idea anterior, es decir, las condiciones de cultivo son más parecidas entre los grupos mexicanos, lo que les confiere esa similitud. En un estudio realizado por Nikouli *et al.*, (2021), no se observaron diferencias marcadas en la diversidad microbiana entre diferentes especies de peces que fueron criados bajo condiciones y dietas similares. Ahora bien, aunque estadísticamente no hay diferencias entre los grupos mexicanos, M2 es visualmente más abundante, incluso en el número de familias encontradas en dicho grupo. Esto último abre la puerta al supuesto de que, aun cuando el ambiente es similar, en M2 se analizó un pez diferente, y la genética de este también influye en la conformación del perfil microbiano del individuo (Smith *et al.*, 2015; Tarnecki *et al.*, 2017). En el mismo orden de ideas, a diferencia del índice de Shannon, el índice de Chao1 (Fig. 6), el cual se enfoca principalmente en medir la riqueza, no presentó diferencias estadísticas entre ninguno de los grupos. Esto quiere decir que

no hay diferencia entre el número de OTUs encontrados en cada grupo, por lo que prácticamente son igual de ricos en especies. Sin embargo, es complicado explicar por qué los 3 grupos son similares en riqueza, dado que algunas vienen de condiciones de cultivo y especies distintas y tienen, además, diferentes números de muestras. Eso último indica que a pesar de que el grupo M1 es el menos numeroso, esas cuatro muestras fueron lo suficientemente representativas para la población que se estudió. Debido a que es muy poca la información disponible acerca de estas especies, sobre todo de *S. rivoliana*, se considera de interés la generación de conocimiento de esta índole.

La diversidad beta está enfocada en comparar a las muestras con la finalidad de identificar aquellas similitudes y disimilitudes. El PCoA (Fig. 7) muestra la separación que hay entre grupos, donde se entiende de manera más específica la disimilitud que hay entre ellas. Gracias al AMOVA se pudo confirmar que existe diferencia estadística significativa entre grupos, lo que indica que no hay características dentro de la composición microbiana que se compartan de manera representativa para poder identificar características sobresalientes entre los tres estudios. Dichos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio realizado por Ramírez y Romero en 2017, donde, al comparar la microbiota intestinal de *S. lalandi* en vida libre y en cultivo, no hubo traslape de estos grupos a pesar de ser la misma especie. En otro estudio donde se compararon 5 especies diferentes en las mismas condiciones de cultivo y alimentarias, el PCoA no encontró diferencias significativas en los cinco grupos (Nikouli *et al.*, 2020). Por otro lado, Soriano *et al.*, en 2018 evaluaron las diferencias de la microbiota de *S. lalandi* bajo diferentes temperaturas, y en la prueba para diversidad beta, el PCoA no separó de manera significativa los grupos de 20°, 24° y 26° C. En el caso de este trabajo, las diferencias encontradas en los grupos obtenidos pueden no sólo deberse a que la condición de cultivo estándar utilizada en cada uno de los estudios fuera de cierta forma diferente, sino que también puede deberse a la línea genética que se manejó en ellos. Por lo tanto, tratar de explicar el comportamiento de la microbiota intestinal en función de una variable, ya sea la dieta, temperatura, salinidad o genética, es imposible, ya que esta tiene dependencia multifactorial.

Por último, y debido a que uno de los objetivos del presente trabajo fue saber si se podía identificar una microbiota *core* en los tres grupos analizados, la figura 8 muestra que no fue posible distinguir aquella microbiota que pudieran tener en común. Como ya se ha demostrado anteriormente, cada uno de los grupos tiene una composición microbiana muy específica que no se comparte con ninguno de los demás. A pesar de que la figura del *core microbiome* se realizó a nivel de familia, con el número de muestras y estudios analizados, no se identificaron tales que se compartieran. Posiblemente hace falta agregar más estudios de Australia y más estudios de *S. rivoliana* para tener un trabajo con más robustez y así saber si en efecto existe una microbiota que se comparta entre peces del género *Seriola*. El hecho de que entre especies e incluso géneros se mantenga una microbiota central que prevalece a lo largo del tiempo y ante distintas condiciones y regímenes alimenticios, es algo que ya se ha documentado. Un ejemplo de esto es el trabajo realizado por Kokou *et al.*, (2019) quienes pudieron identificar una microbiota *core* en la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) la cual se conserva a través del tiempo y ante diferentes dietas. Estos le atribuyen dichos resultados a que la microbiota que tienen en común estos peces, está más relacionada con las características filogenéticas de la especie que con los factores externos a los que estuvieron expuestos. Otro estudio elaborado por Le y Wang en 2020 sustenta el supuesto de que la genética influye de manera considerable al establecimiento de la microbiota, ya que estos caracterizaron un *core* en el pez mújol (*Mugil cephalus*), el cual persistía independientemente de la edad del individuo y su estado migratorio. Curiosamente, al comparar la microbiota central de cada uno de los grupos, la familia *Devosiaceae* está presente en gran medida en la mayoría de los peces de los grupos M1 y M2, lo que en este caso representaría de cierta manera un *core* entre estos. Dicha familia es un grupo taxonómico que está presente en todas las muestras de cada uno de los estudios mencionados.

Este resultado va en contra de lo referido anteriormente, ya que se esperaría que entre M1 y A1 estuviera la microbiota común dado que son la misma especie. Sin embargo, los grupos mexicanos aparentemente tuvieron métodos de cultivo más similares que el de Australia, lo que puede explicar esa cercanía en su composición bacteriana. En este caso, la genética no tuvo un papel importante a la hora del establecimiento de la microbiota intestinal, sino que fueron precisamente esos factores externos los que influyeron de sobremanera.

9. CONCLUSIONES

Gracias a este trabajo se puede concluir lo siguiente:

- La microbiota intestinal en peces está mayormente explicada por factores externos, tales como las condiciones medioambientales (temperatura, salinidad, calidad del agua, luz solar, etc), y la dieta. Aunque se ha demostrado que las características genéticas de una especie o género pueden explicar en gran proporción dicho establecimiento microbiano, en animales como los peces, es más difícil identificar hasta qué grado la microbiota se ve influida por esta variable.
- Pese a que los peces utilizados para los estudios que se analizaron en este trabajo fueron criados bajo condiciones controladas de cultivo, se demostró que existe una gran diversidad y riqueza microbiana en ellos. Sobre todo, el grupo M2 tuvo los valores más altos en los índices de diversidad alfa.
- No fue posible identificar una microbiota común que prevaleciera en peces del género *Seriola* y fuera independiente de las condiciones de cultivo y dieta. No obstante, se reconoce que estos peces tienen un gran potencial de estudio para resolver todas aquellas incógnitas que envuelven al manejo de estas especies.

Se recomienda continuar con los estudios enfocados en la microbiota intestinal de peces del género *Seriola*, ya que la información que se tiene de estos es limitada. Así mismo, también sería interesante realizar trabajos como este, con más réplicas y grupos de estudio, para poder identificar los taxos que sean característicos de estos peces, así como las funciones metabólicas que realizan y así, contribuyan a mejorar su manejo y rendimiento productivo.

10. LITERATURA CITADA

- Alvial, A., Kibenge, F., Forster, J., Burgos, J. M., Ibarra, R. y St-Hilaire, S. (2012). The recovery of the Chilean salmon industry: the ISA crisis and its consequences and lessons. *Puerto Montt: Global Aquaculture Alliance*, p. 85.
- Ames, N. J., Ranucci, A., Moriyama, B. y Wallen, G. R. (2017). The human microbiome and understanding the 16S rRNA gene in translational nursing science. *Nursing research*, 66(2), pp. 184. doi:10.1097/NNR.0000000000000212.
- Austin, B. (2010). Vibrios as causal agents of zoonoses. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), pp. 310-317. doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.015
- Blaufuss, P. C., Bledsoe, J. W., Gaylord, T. G., Sealey, W. M., Overturf, K. E. y Powell, M. S. (2020). Selection on a plant-based diet reveals changes in oral tolerance, microbiota and growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed a high soy diet. *Aquaculture*, 525, p. 735287. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735287.
- Bonilla-Rosso, G., Souza, V. y Eguiarte, L. E. (2008). Metagenómica, genómica y ecología molecular: la nueva ecología en el bicentenario de Darwin. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 11(1), 41-51.
- Cahill, M. M. (1990). Bacterial flora of fishes: a review. *Microbial ecology*, 19(1), pp. 21-41. doi:10.1007/BF02015051.
- Dam, C. T. M., Booth, M., Pirozzi, I., Salini, M., Smullen, R., Ventura, T., y Elizur, A. (2020). Alternative Feed Raw Materials Modulate Intestinal Microbiota and Its Relationship with Digestibility in Yellowtail Kingfish *Seriola lalandi*. *Fishes*, 5(2), 14. doi:10.3390/fishes5020014.
- Dehler, C. E., Secombes, C. J., y Martin, S. A. (2017). Environmental and physiological factors shape the gut microbiota of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 467, 149-157. doi:10.1016/j.aquaculture.2016.07.017.
- Desai, A. R., Links, M. G., Collins, S. A., Mansfield, G. S., Drew, M. D., Van Kessel, A. G., y Hill, J. E. (2012) Effects of plant-based diets on the distal gut microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350, 134-142. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.04.005.
- Escobar-Briones, L., Olvera-Novoa, M. A. y Puerto-Castillo, C. (2006). Avances sobre la ecología microbiana del tracto digestivo de la Tilapia y sus potenciales implicaciones. *Avances en Nutrición Acuícola VIII*. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.
- Espinosa, F. J. (2020). La acuicultura como activo económico y social. *Mediterráneo económico*, (33), pp. 289-307.
- Estrada-Godínez, J. A., Moreno-Figueroa, L. D., Maldonado-García, M., Pérez-Urbiola, J. C., Romero-Rodríguez, J., y Audelo-Naranjo, J. M. (2015). Influence of the temperature on the early larval development of the Pacific red snapper, *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(1), pp. 137-145. doi:10.3856/vol43-issue1-fulltext-12
- FAO. (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome.
- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Meeting the sustainable development goals. Rome.

- FAO. (2021). Microbiological risk assessment - Guidance for food. Microbiological Risk Assessment Series No. 36. Rome.
- Fossmark, R. O., Attramadal, K. J., Nordøy, K., Østerhus, S. W. y Vadstein, O. (2021). A comparison of two seawater adaptation strategies for Atlantic salmon post-smolt (*Salmo salar*) grown in recirculating aquaculture systems (RAS): Nitrification, water and gut microbiota, and performance of fish. *Aquaculture*, 532, 735973. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735973
- Froese, R. y D. Pauly. (2010). Fish Base. Disponible en www.fishbase.org [consulta: 17 marzo 2020]
- Giri, S. S., Sukumaran, V., Sen, S. S. y Jena, P. K. (2014). Effects of dietary supplementation of potential probiotic *Bacillus subtilis* VSG 1 singularly or in combination with *Lactobacillus plantarum* VSG 3 or/and *Pseudomonas aeruginosa* VSG 2 on the growth, immunity and disease resistance of *Labeo rohita*. *Aquaculture Nutrition*, 20(2), 163-171. doi: 10.1111/anu.12062
- Givens, C. E. (2007) A fish tale: Comparison of the gut microbiome of 15 fish species and the influence of diet and temperature on its composition. *Tesis doctoral*. Athens, Georgia, USA. University of South Carolina.
- Gómez-Gil, B., Enciso-Ibarra, K., Cruz-Suárez, E., Hernández, C., Osuna-García, E., Nieto-López, M., y Montero-Lizárraga, C. (2017). Efecto de la Dieta en el Microbioma Intestinal de Organismos Acuáticos. *Avances en Nutrición Acuicola*.
- Gonçalves, A. T. y Gallardo-Escárte, C. (2017). Microbiome dynamic modulation through functional diets based on pre-and probiotics (mannan-oligosaccharides and *Saccharomyces cerevisiae*) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of applied microbiology*, 122(5), 1333-1347. doi:10.1111/jam.13437
- Guarner, F. y J. R. Malagelada. (2003). La flora bacteriana del tracto digestivo. *Gastroenterología y hepatología*, 26(1), 1-5.
- Hasan, M. T., Jang, W. J., Kim, H., Lee, B. J., Kim, K. W., Hur, S. W. y Kong, I. S. (2018). Synergistic effects of dietary Bacillus sp. SJ-10 plus β -glucopoligosaccharides as a synbiotic on growth performance, innate immunity and streptococcosis resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & shellfish immunology*, 82, 544-553. doi:10.1016/j.fsi.2018.09.002
- Hennersdorf, P., Mrotzek, G., Abdul-Aziz, M. A. y Saluz, H. P. (2016). Metagenomic analysis between free-living and cultured *Epinephelus fuscoguttatus* under different environmental conditions in Indonesian waters. *Marine pollution bulletin*, 110(2), 726-734. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.05.009
- Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D. Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150-161. doi:10.1016/j.ram.2019.06.003
- Horlick, J., Booth, M. A., y Tetu, S. G. (2020). Alternative dietary protein and water temperature influence the skin and gut microbial communities of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *PeerJ*, 8, e8705. doi:10.7717/peerj.8705.
- Jang, W. J., Hasan, M. T., Lee, B. J., Hur, S. W., Lee, S., Kim, K. W. y Kong, I. S. (2020). Effect of dietary differences on changes of intestinal microbiota and immune-related gene expression in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 527, 735442. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735442.

- Jia, J., Gomes-Silva, G., Plath, M., Pereira, B. B., UeiraVieira, C. y Wang, Z. (2021). Shifts in bacterial communities and antibiotic resistance genes in surface water and gut microbiota of guppies (*Poecilia reticulata*) in the upper Rio Uberabinha, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111955. doi:10.1016/j.ecoenv.2021.111955.
- Joshi, P., Pande, V. y Joshi, P. (2016). Microbial diversity of aquatic ecosystem and its industrial potential. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 3(1), 00048. doi: 10.15406/jbmoa.2016.03.00048
- Kissinger, K. R., García-Ortega, A., y Trushenski, J. T. (2016). Partial fish meal replacement by soy protein concentrate, squid and algal meals in low fish-oil diets containing *Schizochytrium limacinum* for longfin yellowtail *Seriola rivoliana*. *Aquaculture*, 452, 37-44. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.10.022.
- Knight, R., Vrbanac, A., Taylor, B. C., Aksenov, A., Callewaert, C., Debelius, J. y Dorrestein, P. C. (2018). Best practices for analysing microbiomes. *Nature Reviews Microbiology*, 16(7), 410-422. doi:10.1038/s41579-018-0029-9
- Kokou, F., Sasson, G., Friedman, J., Eyal, S., Ovadia, O., Harpaz, S. y Mizrahi, I. (2019). Core gut microbial communities are maintained by beneficial interactions and strain variability in fish. *Nature microbiology*, 4(12), 2456-2465. doi:10.1038/s41564-019-0560-0.
- Korkea-Aho, T. L., Heikkinen, J., Thompson, K. D., Von Wright, A. y Austin, B. (2011). *Pseudomonas* sp. M174 inhibits the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Journal of applied microbiology*, 111(2), 266-277. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05044.x
- Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K. y Schloss, P. D. (2013). Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and environmental microbiology*, 79(17), 5112-5120. doi:10.1128/AEM.01043-13
- Larios-Soriano, E., Tovar-Ramírez, D., Re Araujo, D., Gómez-Gil, B., Ibarra-Castro, L. y Galindo-Sánchez, C. (2018). Effect of temperature and dietary lipid proportion on gut microbiota in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* juveniles. *Aquaculture*, 497:269-277. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.07.065.
- Larios-Soriano, E., Re-Araujo, A. D., Gómez-Gil, B., Tovar Ramírez, D., Trejo-Escamilla, I. y Galaviz, M. A. (2021). Reciprocal effect of temperature and dietary lipids on metabolic performance and gut microbiota of Yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) juveniles. *Aquaculture Research*. p. 15480. doi:10.1111/are.15480.
- Legrand, T. P., Wynne, J. W., Weyrich, L. S. y Oxley, A. (2020). Investigating both mucosal immunity and microbiota in response to gut enteritis in yellowtail kingfish. *Microorganisms*, 8(9), 1267. doi:10.3390/microorganisms8091267
- Lemanceau, P., Blouin, M., Muller, D. y Moënne-Loccoz, Y. (2017). Let the core microbiota be functional. *Trends in Plant Science*, 22(7), 583-595. doi:10.1016/j.tplants.2017.04.008.
- Le, M. H. y Wang, D. (2020). Structure and membership of gut microbial communities in multiple fish cryptic species under potential migratory effects. *Scientific reports*, 10(1), 1-12. doi:10.1038/s41598-020-64570-8
- Lin, L., Xie, F., Sun, D., Liu, J., Zhu, W., y Mao, S. (2019). Ruminal microbiome-host crosstalk stimulates the development of the ruminal epithelium in a lamb model. *Microbiome*, 7(1), 1-16. doi:10.1186/s40168-019-0701-y

- Llewellyn, M. S., Boutin, S., Hoseinifar, S. H. y Derome, N. (2014). Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. *Frontiers in microbiology*, 5, 207. doi:10.3389/fmicb.2014.00207.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V. y Clark, D. P. (2018). *Brock-Biology of Microorganisms*. 15th International Edition.
- Marchesi, J. R. y Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*, 3(1), pp. 31, s40168-015-0094-5. doi:10.1186/s40168-015-0094-5.
- Mesa-Rodríguez, A., Hernández-Cruz, C. M., Betancor, M. B., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M. S., y Roo, J. (2016). Bone development of the skull, pectoral and pelvic fins in *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833) larvae. *Fish physiology and biochemistry*, 42(6), 1777-1789. doi:10.1007/s10695-016-0257-8.
- Neuman, C., Hatje, E., Zarkasi, K. Z., Smullen, R., Bowman, J. P. y Katouli, M. (2016). The effect of diet and environmental temperature on the faecal microbiota of farmed Tasmanian Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research*, 47(2), 660-672. doi:10.1111/are.12522
- Ni, J., Yan, Q. y Yu, Y. (2013). How much metagenomic sequencing is enough to achieve a given goal?. *Scientific reports*, 3(1), 1-7. doi:10.1038/srep01968
- Nikouli, E., Meziti, A., Smeti, E., Antonopoulou, E., Mente, E. y Kormas, K. A. (2021). Gut microbiota of five sympatrically farmed marine fish species in the Aegean Sea. *Microbial Ecology*, 81(2), 460-470. doi:10.1007/s00248-020-01580-z.
- ONU. (2019). United Nations. Disponible en www.un.org/sustainabledevelopment [consultado: 9 abril 2020].
- Osuna, G. E. (2016). Efecto de la dieta en la microbiota intestinal del Pargo Flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Tesis doctoral*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Sinaloa, México.
- Parshukov, A. N., Kashinskaya, E. N., Simonov, E. P., Hlunov, O. V., Izvekova, G. I., Andree, K. B. y Solovyev, M. M. (2019). Variations of the intestinal gut microbiota of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), depending on the infection status of the fish. *Journal of applied microbiology*, 127(2), 379-395. doi:10.1111/jam.14302.
- Perdigón, G. y Maldonado C. (2015). Microbiota intestinal: influencia de la nutrición. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Volumen 65, Suplemento 1. 13/06/2020. Disponible en www.alanrevista.org/ediciones/2015/suplemento-1/art-8 [consultado: 13 junio 2020].
- Przeslawski, R., Byrne, M., y Mellin, C. (2015). A review and meta-analysis of the effects of multiple abiotic stressors on marine embryos and larvae. *Global change biology*, 21(6), 2122-2140. doi:10.1111/gcb.12833.
- Ramírez, C. y Romero, J. (2017). The microbiome of *Seriola lalandi* of wild and aquaculture origin reveals differences in composition and potential function. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1844. doi:10.3389/fmicb.2017.01844
- Rawls, J. F., Samuel, B. S. Gordon, J. I. (2004). Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(13), 4596-4601. doi:10.1073/pnas.0400706101
- Ringo, E. (1999). Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquacult. Res.*, 30, 73-93.
- Risely, A. (2020). Applying the core microbiome to understand host-microbe systems. *Journal of Animal Ecology*, 89(7), 1549-1558. doi:10.1111/1365-2656.13229

- Rodríguez Peña, K. (2017). El hábitat de los microbios. *Academia Mexicana de Ciencias*, 68(2), 18-25.
- Roeselers, G., Mittge, E. K., Stephens, W. Z., Parichy, D. M., Cavanaugh, C. M., Guillemin, K. y Rawls, J. F. (2011). Evidence for a core gut microbiota in the zebrafish. *The ISME journal*, 5(10), 1595-1608. doi:10.1038/ismej.2011.38.
- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, C. M., Mesa-Rodríguez, A., Schuchardt, D. e Izquierdo, M. (2014). First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquaculture research*, 45(4), 689-700. doi:10.1111/are.12007
- Rotman, F. (2013). 3er Foro Económico de Pesca y Acuicultura. *CONAPESCA*.
- Rubio, V. L. (2016). Caracterización de la microbiota intestinal de *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833) de medio silvestre: Comparación de métodos tradicionales versus métodos moleculares de identificación. Tesis de Maestría. Universidad de Chile. Santiago, Chile
- Salas-Leiva, J., Opazo, R., Remond, C., Uribe, E., Velez, A., y Romero, J. (2017). Characterization of the intestinal microbiota of wild-caught and farmed fine flounder (*Paralichthys adspersus*). *Latinamerican journal of aquatic research*, 45(2), 370-378. doi:10.3856/vol45-issue2-fulltext-12.
- Salas-Leiva, J., Mazón-Suástegui, J.M., Teles, A. y Tovar-Ramírez, D. 2020. Structure and predictive metabolic contribution of intestinal microbiota of Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) juveniles in aquaculture systems. *Mol Biol Rep*, 47, 9627–9636. doi:10.1007/s11033-020-05970-x
- Santillán, M. L. (2020). Nutrición acuícola, en búsqueda de un enfoque sustentable. *UNAM*. Disponible en www.ciencia.unam.mx/leer/961/nutricion-acuicola-en-busqueda-de-un-enfoque-sustentable [consultado: 17 mayo 2021]
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J. y Weber, C.F. (2009) Introducing mothur: Open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*, 75 (23), 7537-7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Sepulveda, J., y Moeller, A. H. (2020). The effects of temperature on animal gut microbiomes. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.00384.
- Sicuro, B., y Luzzana, U. (2016). The state of *Seriola spp.* other than yellowtail (*S. quinqueradiata*) farming in the world. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 24(4), 314-325. doi:10.1080/23308249.2016.1187583.
- Smith, C. C., Snowberg, L. K., Caporaso, J. G., Knight, R. y Bolnick, D. I. (2015). Dietary input of microbes and host genetic variation shape among-population differences in stickleback gut microbiota. *The ISME journal*, 9(11), 2515-2526. doi:10.1038/ismej.2015.64
- Sommer, F. y Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 227-238. doi:10.1038/nrmicro2974.
- Soriano, E. L., Ramírez, D. T., Araujo, D. R., Gómez-Gil, B., Castro, L. I. y Sánchez, C. G. (2018). Effect of temperature and dietary lipid proportion on gut microbiota in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* juveniles. *Aquaculture*, 497, 269-277. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.07.065.
- Suárez M. A. (2017). Microbioma y secuenciación masiva. *Rev. Esp. Quimioter.*, 30, 305-311.

- Tarnecki, A. M., Burgos, F. A., Ray, C. L. y Arias, C. R. (2017). Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics. *Journal of applied microbiology*, 123(1), 2-17. doi:10.1111/jam.13415.
- Wang, A. R., Ran, C., Ringø, E., y Zhou, Z. G. (2018). Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, 10(3), 626-640. doi:10.1111/raq.12191.
- Wang, J., Jaramillo-Torres, A., Li, Y., Kortner, T. M., Gajardo, K., Brevik, Ø. J. y Krogdahl, Å. (2021). Microbiota in intestinal digesta of Atlantic salmon (*Salmo salar*), observed from late freshwater stage until one year in seawater, and effects of functional ingredients: a case study from a commercial sized research site in the Arctic region. *Animal microbiome*, 3(1), 1-16. doi:10.1186/s42523-021-00075-7.
- Wilkes Walburn, J., Wemheuer, B., Thomas, T., Copeland, E., O'Connor, W., Booth, M. y Egan, S. (2019). Diet and diet-associated bacteria shape early microbiome development in Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*). *Microbial biotechnology*, 12(2), 275-288. doi:10.1111/1751-7915.13323.
- Williams, R. E., Ernst, I., Chambers, C. B. y Whittington, I. D. (2007). Efficacy of orally administered praziquantel against *Zeuxapta seriolae* and *Benedenia seriolae* (Monogenea) in yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 77(3), 199-205. doi:10.3354/dao01824
- Wu, S., Wang, G., Angert, E. R., Wang, W., Li, W. y Zou, H. (2012). Composition, diversity, and origin of the bacterial community in grass carp intestine. *PloS one*, 7(2), e30440. doi:10.1371/journal.pone.0030440
- Xia, J. H., Lin, G., Fu, G. H., Wan, Z. Y., Lee, M., Wang, L. y Yue, G. H. (2014). The intestinal microbiome of fish under starvation. *BMC genomics*, 15(1), 1-11. doi:10.1186/1471-2164-15-266
- Yang, H. T., Zou, S. S., Zhai, L. J., Wang, Y., Zhang, F. M., An, L. G. y Yang, G. W. (2017). Pathogen invasion changes the intestinal microbiota composition and induces innate immune responses in the zebrafish intestine. *Fish & shellfish immunology*, 71, 35-42. doi:10.1016/j.fsi.2017.09.075
- Ye, L., Amberg, J., Chapman, D., Gaikowski, M., y Liu, W. T. (2014). Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. *The ISME journal*, 8(3), 541-551. doi:10.1038/ismej.2013.181
- Yilmaz, P., Parfrey, L. W., Yarza, P., Gerken, J., Pruesse, E., Quast, C. y Glöckner, F. O. (2014). The SILVA and "all-species living tree project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic acids research*, 42(D1), D643-D648. doi:10.1093/nar/gkt1209
- Zarkasi, K. Z., Abell, G. C., Taylor, R. S., Neuman, C., Hatje, E., Tamplin, M. L. y Bowman, J. P. (2014). Pyrosequencing-based characterization of gastrointestinal bacteria of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) within a commercial mariculture system. *Journal of applied microbiology*, 117(1), 18-27. doi:10.1111/jam.12514
- Zhang, L. y Orth, K. (2013). Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Current opinion in microbiology*, 16(1), 70-77. doi:10.1016/j.mib.2013.02.002
- Zhang, M., Sun, Y., Liu, Y., Qiao, F., Chen, L., Liu, W. T. y Li, E. (2016). Response of gut microbiota to salinity change in two euryhaline aquatic animals with reverse salinity preference. *Aquaculture*, 454, 72-80. doi:10.1016/j.aquaculture.2015.12.014