



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA



VNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Recopilación bibliográfica y comparativa: la microbiota intestinal de dorada (*Sparus aurata*)

Trabajo de fin de máster

Máster de Acuicultura

Diciembre 2021

Alumno: Daniel Medela Trigoso

Directora: M^a Carla Piazzon de Haro

Tutora UPV: Silvia Martínez Llorens

Índice

Agradecimientos.....	iii
Resumen.....	iv
1- Introducción.....	02
1.1- La acuicultura de la dorada.....	04
1.2- La microbiota intestinal de los peces.....	04
1.3- Factores que pueden afectar a la microbiota intestinal.....	05
1.4- Diferencias entre metodologías utilizadas para estudiar la microbiota intestinal.....	07
2- Material y métodos.....	09
2.1- Criterios de búsqueda.....	09
2.2- Criterios de selección.....	09
2.3- Datos recogidos.....	10
2.4- Tratamiento estadístico.....	12
3- Resultados.....	13
3.1- Información sobre factores externos.....	13
3.2- Información sobre tipo de análisis.....	14
3.3- Tipos de bacterias encontradas.....	15
3.4- Abundancias relativas de las bacterias.....	16
4- Discusión.....	22
4.1- Observaciones preliminares.....	22
4.2- Bacterias dominantes.....	24
4.3- Futuros estudios.....	25
5- Bibliografía.....	27
6- Anexos.....	37

Agradecimientos

A Carla Piazzon, mi tutora, por su ayuda, paciencia y todo lo que me ha enseñado estos dos años de Acuicultura.

A Miguel Jover, director del Máster de Acuicultura, por idénticos motivos.

A mi familia y amigos, por estar siempre allí.

Y finalmente, a M^a Antonia Santa-Creu, que me enseñó a escribir esta clase de trabajos con mi TFG, y cuyas enseñanzas sigo aplicando aquí.

Resumen

La dorada es una de las especies criadas en Acuicultura más extendida en la cuenca Mediterránea. A la hora de mejorar su productividad, se han llevado a cabo múltiples estudios diseñados para comparar distintas dietas, selecciones genéticas, condiciones ambientales y probióticos. Diversos estudios han publicado los efectos en la dorada a múltiples niveles: histología, condición corporal, salud, supervivencia, velocidad de crecimiento, etc. En muchos de ellos se ha establecido una conexión entre la microbiota intestinal y estos parámetros productivos. Este estudio es una recopilación bibliográfica que pondrá en común los resultados de cerca de 50 estudios diferentes que han incluido en sus datos recogidos información acerca de la proporción de distintos grupos de bacterias en el intestino de la dorada, así como las condiciones experimentales de cada uno de dichos estudios, de forma que pueda servir como referencia para futuros experimentos dentro de este campo.

Abstract

The gilthead sea bream is one of the most extended Aquaculture species in the Mediterranean basin. In order to increase its productivity, multiple research studies have been carried out to compare different diets, genetic selections, environmental conditions and probiotics. Several publications have reported the effects on the gilthead sea bream at different levels: histology, body condition, health, survival rate, growth parameters, etc. In many of them, a link between the intestinal microbiota and said productive parameters has been established. This study is a bibliographic compilation that will put in common the results of almost 50 different publications which included among their research data information about the proportion of the different groups of bacteria living in the intestine of the gilthead sea bream, as well as the experimental conditions of each of those studies, in a way that can be later used as reference for future experiments in this field.

Palabras clave:

Dorada; Acuicultura; Microbiota intestinal; *Sparus aurata*; Comparativa; Recopilación bibliográfica; Bacterias

Keywords:

Gilthead sea bream; Intestinal Microbiota, Gut; *Sparus aurata*; Comparative; Bibliographic Compilation; Bacteria

1- Introducción

Aproximadamente 28.000 especies de peces comprenden cerca de la mitad de la diversidad de vertebrados y representan un amplio rango de fisiologías, ecologías e historias naturales (Wong y Rawls, 2012).

El pescado y otros productos de origen marino llevan siendo una fuente importante de nutrientes para la humanidad desde hace milenios, y el crecimiento de la población a nivel mundial indican que las necesidades de nutrientes de los mismos seguirán incrementándose en los próximos años. En 2013, el pescado supuso alrededor del 17% del consumo de proteína de la población global, y el 6,7% de toda la proteína consumida. Es más, el pescado proveyó a más de 3,1 miles de millones de personas con más del 20% de su consumo medio de proteína animal per cápita (FAO, 2016).

Debido a problemas como la sobrepesca o el cambio climático, las actividades de cría en instalaciones de acuicultura de distintas especies de peces supondrán una importante fuente de proteína y grasa para la creciente población humana a lo largo de las próximas dos o tres décadas. La producción mundial de acuicultura de animales acuáticos tuvo un incremento anual medio del 5% entre 2011 y 2015. El crecimiento anual se ha reducido a un 3,6% entre 2016 y 2018 (FAO, 2018). La mitad de la comida marina consumida globalmente en la actualidad proviene de la acuicultura (Fry *et al.*, 2016). Una de las razones para ello es que los niveles de producción de los pescadores están determinados por una serie de factores exógenos que están mayormente fuera de su control (Surís-Regueiro y Santiago, 2014). Entre estos factores, se pueden mencionar la sobreexplotación de los caladeros, las condiciones climáticas locales, el estado del equipamiento, y cualquier posible problema medioambiental de mayor envergadura (microplásticos, derrames de combustible, cambios en las corrientes marinas, etc.).

España es uno de los países de la Unión Europea de mayor producción piscícola. Según el boletín de la FAO, en 2018 España tuvo la mayor producción de acuicultura de la UE (347.825 toneladas, lo que supuso un 25,5% del total de la UE) (Apromar, 2020). Sin embargo, por diversas razones, el valor económico de la producción española en el año 2020 fue el cuarto de la UE con 478,8 millones de € (11% de la producción europea). Una de estas razones es el hecho de que la especie más producida en España es el mejillón, cuya producción es mayoritaria en España debido a su bajo coste, pero cuyo valor de mercado es comparativamente bajo. En la figura 1 podemos apreciar el descenso de las capturas e incremento del sector en España a lo largo del período 1950-2018. En la figura 2 se ve la producción de acuicultura en toneladas en el período de 1975 a 2020 desglosado por especies.

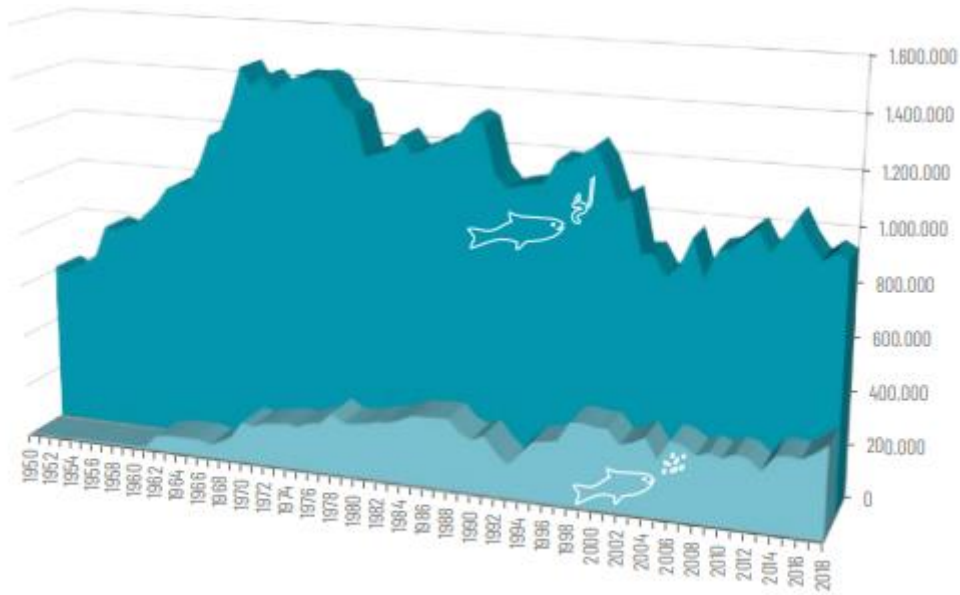


Figura 1: Crecimiento de la acuicultura en España desde 1950 a 2018 en toneladas (Apromar, 2020)

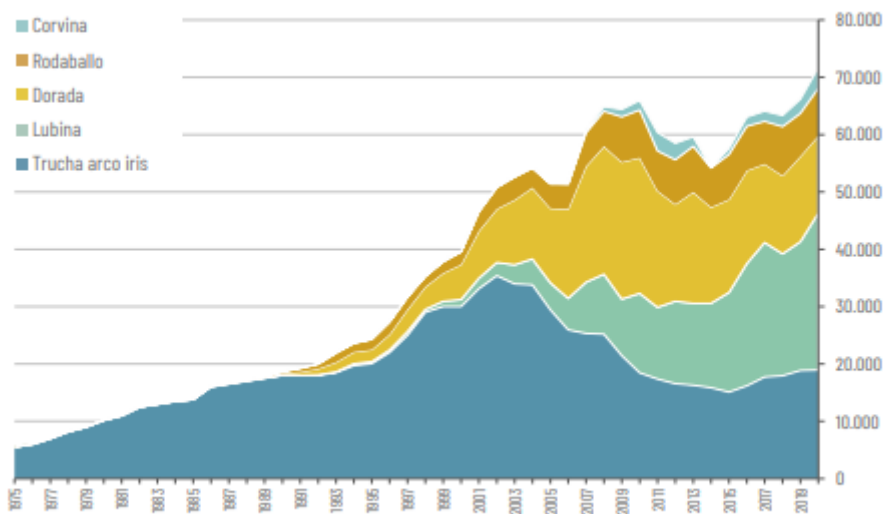


Figura 2: Producción en acuicultura en España en toneladas por año para las principales especies de peces (Apromar, 2020)

Si solo se contabiliza el pescado en sí, España ocupa el tercer puesto de Europa en producción (60.535 toneladas); por detrás del Reino Unido y Grecia (Apromar, 2020).

En 2019, la producción piscícola de España fue de 342.867 toneladas. La principal especie producida ha sido el mejillón (261.513 t), seguido por la lubina (27.335 t), la trucha arco iris (18.955 t) y la dorada (13.521 t) (Apromar, 2020).

1.1- La acuicultura de la dorada

La dorada (nombre científico *Sparus aurata L.*), también conocida en inglés como “gilthead sea bream”, es una de las principales especies producidas en España. De acuerdo con los datos de producción de la FAO, la producción combinada de dorada y lubina (*Dicentrarchus labrax*) aumentó durante el período 2008 – 2012, de 245 mil toneladas por valor 1.480 millones de dólares en 2008 a 313 mil toneladas por valor 1.989 millones de dólares en 2012 (Benito-Alas *et al.*, 2016). La dorada es muy adecuada para la acuicultura tanto en jaulas marinas como en sistemas de recirculación en acuicultura (RAS) en costa (Seginer, 2016).

Incrementar los valores de producción en la acuicultura es necesario, pero no es fácil. Una de las principales razones para ello es la necesidad de incorporar una fracción de harina y/o aceite de pescado en la dieta de la mayoría de las especies de pescado producidas en la UE. Esto es debido a que, en la UE, muchas de las especies producidas son de origen carnívoro, y no se adaptan bien a alimentos que no tengan dichos ingredientes. Es por ello que se han llevado a cabo múltiples estudios para incrementar el rendimiento productivo. Dichos estudios se han centrado, entre otros, a cómo cambios en factores externos o en la composición de la dieta afectan a la salud de los animales, incluyendo a la dorada (Oliva Teles, 2012). Uno de los factores que se están estudiando es cómo dichos factores afectan a la microbiota intestinal, ya que ésta ejerce un papel fundamental en dicha producción (Perry *et al.*, 2020).

1.2- La microbiota intestinal de los peces

La microbiota intestinal es el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, amebas, etc.) que viven en el interior del tracto digestivo de las especies de animales. Muchas de las especies de microbiota viven en simbiosis con su hospedador, comensalismo, o son posibles patógenos oportunistas. Dicha microbiota vive, en su mayoría, adherida a la pared intestinal, cuya estructura puede verse en la figura 3.

La microbiota intestinal de los peces contribuye a la absorción de nutrientes y puede afectar a la digestión, crecimiento, reproducción, dinámica de la población general y vulnerabilidad del pez hospedador a la enfermedad. Se ha demostrado que animales que crecen sin microbiota asociada muestran disfunción de la barrera epitelial del intestino, problemas de absorción de nutrientes y metabólicos, y un sistema inmunológico no desarrollado (Bates *et al.*, 2006; Galindo-Villegas *et al.*, 2012; Rawls *et al.*, 2004). La disrupción de estas comunidades microbianas, llamada disbiosis, produce también problemas similares. Por lo tanto, la comunidad microbiana es altamente relevante para la producción de animales sanos en acuicultura (Ghanbari *et al.*, 2015).

Esto justifica el estudio de dichas comunidades bacterianas como factor que puede influir e incluso mejorar la producción en múltiples especies criadas por su carne, siendo la dorada una de ellas.

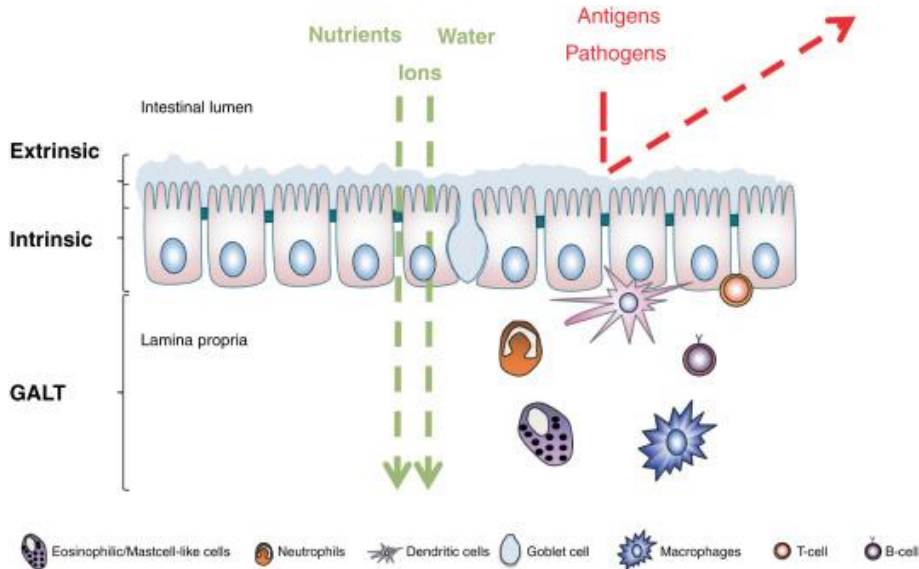


Figura 3: La barrera intestinal de los peces (Sundh y Sundell, 2015)

La investigación en la microbiota de los peces data de la primera mitad del siglo 20, pero más recientemente el interés en esta área ha crecido a un ritmo significativo coincidiendo con la expansión de la industria de la acuicultura (Egerton *et al.*, 2018).

Los siguientes grupos de bacterias son los principalmente representados en la microbiota intestinal de los peces: Proteobacteria, Fusobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Clostridia, Bacilli y Verrucomicrobia (Ghanbari *et al.*, 2015).

1.3- Factores que pueden afectar a la microbiota intestinal

La microbiota intestinal está formada por comunidades muy complejas, diversas y dinámicas, y puede verse afectada, y su composición cambiar, en función de múltiples factores. Algunos son internos (bióticos) del propio animal: especie, edad, sexo, otras enfermedades, estado fisiológico (estado del ciclo reproductivo) o factores genéticos (Li *et al.*, 2017; Navarro-Barrón *et al.*, 2019; Piazzon *et al.*, 2019; 2020; Stephens *et al.*, 2016). Incluso, debido a las diferencias fisiológicas de distintas porciones del intestino (anterior, medio o posterior), las poblaciones microbianas varían dentro de este mismo órgano (Jones *et al.*, 2018; Ringø *et al.*, 2006). Otros factores de variabilidad son externos (abióticos): estación del año, temperatura, dieta, si son animales silvestres o criados en cautividad; y en el caso de especies piscícolas, la salinidad, el pH del agua y la densidad

de cría (cantidad de peces por m³ de agua) (Cordero *et al.*, 2015; Dhanasiri *et al.*, 2011; Hovda *et al.*, 2012; Jones *et al.*, 2018; Piazzon *et al.*, 2017; Ringø *et al.*, 2006).

El tracto digestivo de los peces recibe agua y alimentos que están poblados con microorganismos del medio externo; estos microbios indudablemente afectan a la microbiota residente (Ghanbari *et al.*, 2015).

Además de estos, se deben tener en cuenta otros factores que pueden cambiar la información obtenida. Estos son los factores experimentales, que incluyen cambios debidos a la metodología del muestreo, a la cantidad de ejemplares estudiados, el método o protocolo de extracción de DNA o la metodología utilizada para evaluar qué especies se hallan en el intestino (cultivo de microorganismos, electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE), secuenciación 454, Illumina) (Piazzon *et al.*, 2017). Las diferencias entre estas metodologías se explican en el siguiente apartado.

Otro factor a considerar es el tipo de microbiota que se estudia. Las poblaciones detectadas serán diferentes si se hace un estudio de las heces o contenido intestinal (microbiota alóctona o transeúnte) o de la microbiota asociada a la mucosa (microbiota autóctona o residente). Aunque ambas poblaciones puedan ejercer un impacto sobre la fisiología del hospedador, la microbiota autóctona interactúa más directamente con el animal y es menos afectada que la transeúnte ante los cambios fisiológicos o ambientales (Egerton *et al.*, 2018; Roeselers *et al.*, 2011).

La figura 4 ilustra distintos factores que pueden modificar la microbiota intestinal y sus efectos sobre el hospedador.

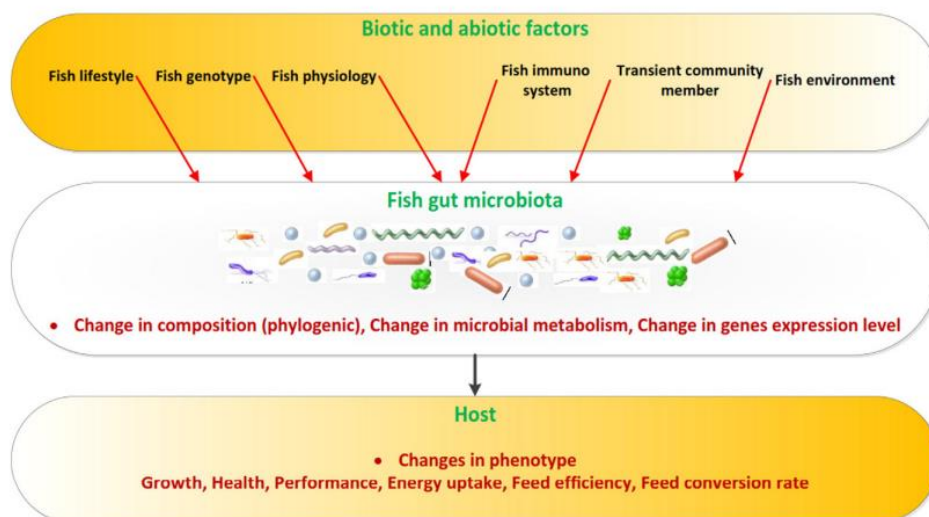


Figura 4: Relación de factores bióticos y abióticos con la microbiota y el hospedador (Ghanbari *et al.*, 2015).

Como se puede ver en la figura, los factores bióticos (estilo de vida del pez, genotipo del pez, fisiología del mismo, sistema inmune y miembros de la comunidad bacteriana transitorios) y los factores abióticos (medio ambiente en que se encuentra el pez) afectan a la microbiota intestinal del pez. Esto causa cambios en la composición (filogenética), el metabolismo microbiano y a nivel de expresión genética, lo que afecta al hospedador. A nivel de hospedador, se producen cambios en el fenotipo: crecimiento, salud, rendimiento, ingesta energética, eficiencia alimentaria y factor de conversión del alimento.

1.4- Diferencias entre metodologías utilizadas para estudiar la microbiota intestinal

A la hora de obtener la información sobre la composición bacteriana del hospedador, parásitos y otros tipos de organismos, se pueden llevar a cabo distintos tipos de procedimientos experimentales. A continuación, se describen los más comunes.

1- Cultivos: utilizando medios de cultivo, normalmente en placas Petri, para cultivar las bacterias recogidas y comprobar cuáles crecen. Se utilizan distintos tipos de medios que benefician u obstaculizan distintas especies de bacterias para determinar su presencia o ausencia. Dichos estudios asumen que ya se esperan ciertos grupos en el hospedador, y aprovechan la información experimental acerca de las condiciones en que ciertos tipos de bacterias crecen mejor para elaborar los medios de cultivo. Su principal ventaja es su bajo coste e inmediatez. La principal desventaja es su imprecisión. A menudo se complementan con tiras API. Otra desventaja es que las bacterias difíciles de cultivar no se detectan con este método (por ejemplo, bacterias anaerobias estrictas).

2- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction): procedimiento previo a identificación por DGGE o secuenciación que, mediante el uso de enzimas de polimerasa (las cuales reparan y replican cadenas de ADN) y múltiples ciclos de calor y frío, dividen cadenas dobles en monocadenas de ADN, para luego construir copias de las mismas. También conocido como amplificación. Esto multiplica la cantidad de material genético disponible para estudios posteriores. Para la detección de bacterias, se usan cebadores para amplificar el gen ribosómico 16S bacteriano, que gracias a poseer regiones conservadas en todas las bacterias permite la amplificación de toda la diversidad bacteriana en una muestra con un solo par de cebadores. Además, determinadas regiones de este gen son específicas de diferentes niveles taxonómicos, permitiendo la identificación taxonómica tras la secuenciación.

3- DGGE: Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (denaturing gradient gel electrophoresis). Método que utiliza un gel con distintos niveles de gradiente desnaturizante. La doble cadena genética de distintos tipos de bacterias aguanta

distintos niveles de gradiente antes de separarse en monocadenas. Esta distinción se debe a las distintas composiciones de nucleótidos para cada cadena, y permite identificar distintos taxones de bacterias en función del punto de desnaturalización medio de sus cadenas dobles. Los diferentes taxones se distinguen por comparación de su patrón de migración en el gel cuando se comparan con los de bacterias de referencia ya conocidos. Sus desventajas son que su coste es mayor que el de un cultivo, que requiere una PCR inicial para separar las cadenas bacterianas, y que no puede establecer con precisión la proporción de los distintos tipos de bacterias en el hospedador, solo detectar si una determinada especie se halla presente o ausente.

4- Pirosecuenciación 454: Secuenciación masiva de los productos de PCR (en nuestro caso con cebadores de 16S) basado en la emisión de fluorescencia según el nucleótido que se incorpore en la secuencia. Permite detectar y cuantificar cualquier bacteria presente en la muestra. Esta metodología se encuentra obsoleta y está siendo reemplazada por métodos como secuenciación por Illumina o Nanopore.

5- Secuenciación Illumina: Secuenciación de alto rendimiento que, tras una PCR inicial, permite no solo establecer la presencia y ausencia de distintos grupos de bacterias, sino también la proporción de las mismas en las muestras tomadas. Su principal ventaja es su alta especificidad y precisión. La principal desventaja es su elevado coste. En el caso de la microbiota, lo más habitual es la secuenciación de forma masiva de los productos de PCR del gen 16S. Los cebadores utilizados más comunes abarcan las regiones V1-V2, V3-V4 o V4 de este gen. Estas regiones V o variables son las que permiten la anotación taxonómica de la secuencia.

Las técnicas de secuenciación masiva requieren un tratamiento bioinformático posterior para llegar a determinar la taxonomía y abundancia de las bacterias detectadas. Según los programas o la base de datos de bacteria utilizados los resultados pueden variar ligeramente. Las bases de datos más comunes para este tipo de estudios son la RDP (Ribosomal Database Project), Silva o Greengenes.

2- Material y métodos

El objetivo del presente estudio es realizar una búsqueda bibliográfica que busca poner en común los resultados relativos a la composición y proporción de especies bacterianas presentes en el intestino de *Sparus aurata* en diversos trabajos. Dichos resultados podrán ser después referidos y utilizados por otros investigadores a la hora de diseñar sus propios experimentos o analizar los resultados de los mismos.

Para la búsqueda, se utilizaron cuatro bases de datos de recopilación de archivos, artículos y estudios científicos y que se consideran altamente importantes en la comunidad para la publicación de resultados. Dichas bases de datos son: PubMed (en adelante referido como PM), Scopus (SC), Web of Science (WoS) y Google Scholar (GS).

2.1- Criterios de búsqueda

Se llevó a cabo una búsqueda en las ya mencionadas bases de datos con los siguientes parámetros de búsqueda:

- 1- Artículos publicados en los últimos diez años (2011-2021);
- 2- Que incluyeran en el título, “abstract” (resumen) o lista de “keywords” (palabras clave) las siguientes palabras: gilthead sea bream, intestinal, microbiota, *Sparus aurata*, gut (tripa/entrañas en inglés, usado para referirse a la zona intestinal) y bacteria. Todos los artículos publicados con dichos términos fueron revisados.
- 3- Que no se tratara de revisiones bibliográficas previas (aunque estas se han usado para extraer referencias a trabajos originales); y
- 4- Que estuvieran en inglés o en español (si bien la inmensa mayoría de ellos se encontraron directamente en inglés, ya que incluso aquellos investigadores que utilizan el español como lengua nativa suelen publicar sus artículos en inglés para maximizar su alcance) y que hubieran sido publicados en revistas científicas indexadas o como trabajos individuales.

2.2- Criterios de selección

Una vez buscados los artículos, se procedió a la selección de aquellos que se utilizarían en función de los siguientes parámetros:

- 1- Revisión del “Abstract” o Resumen, así como los apartados principales, objetivos del estudio, resultados, figuras y otros datos explicados en el siguiente apartado. Algunos

estudios revisados utilizaban a la dorada como referencia para después estudiar otro animal, o se referían a otros tipos de pez de nombre similar, como *Carassius auratus*.

2- Que el artículo no fuera un duplicado de un artículo previo localizado en otra base de datos.

3- Que el artículo hiciera referencia a los datos de distintos tipos de bacterias intestinales descubiertos en el experimento, así como las técnicas experimentales utilizadas para identificarlas.

4- Que el artículo perteneciera a una base de datos especializada en publicaciones científicas.

En la figura 5 se detallan cuántos artículos fueron localizados de cada una de las bases de datos, cuántos artículos fueron descartados, qué criterios se utilizaron para dichos descartes, y cuántos artículos se utilizaron finalmente para esta recopilación.

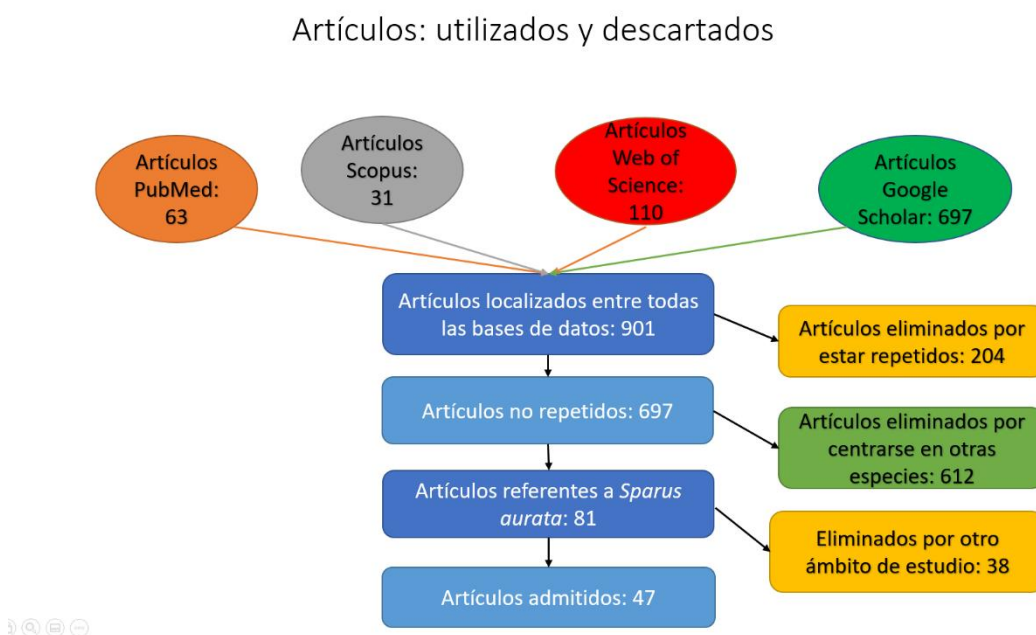


Figura 5: Artículos localizados, descartados y utilizados, con sus criterios de descarte.

2.3- Datos recogidos

Para todos los artículos seleccionados, se anotaron los siguientes datos relevantes y localizados en los mismos:

1- Número de identificación para futuras referencias.

2- Tipo de muestra extraída del pez: si fue parte del intestino anterior, medio o posterior; o una muestra fecal. En algunos trabajos, se llevó a cabo una homogeneización de dos

partes o el total del intestino. En otros estudios llevados a cabo en larvas, se consideró que diseccionar el intestino era demasiado laborioso para los objetivos del estudio y se obtuvieron datos de las bacterias tras la homogeneización del cuerpo entero.

3- Tipo de estudio llevado a cabo. Si bien todos los estudios incluidos en este trabajo incluyen datos acerca de la composición de la comunidad bacteriana en el intestino o en el animal homogeneizado, el objetivo de los distintos estudios variaba, ya que muchos se centraban en las diferencias en la condición corporal, peso, crecimiento, salud, supervivencia, histología o diferencia en genes expresados. Se han subdividido en los siguientes tipos:

3.1- Estudios de selección genética.

3.2- Estudios del efecto de distintos tipos de dieta comparados con un control, **incluyendo el uso de hormonas.**

3.3- Estudios del efecto de ambientes distintos y/o estresantes.

3.4- Estudios de la variación producida según el sexo y la edad del animal.

3.5- Estudios de la adición de probióticos a la dieta.

3.5- Estudios referidos a inmunidad y resistencia a patógenos y/o parásitos en el animal.

3.6- Estudios cuyo ámbito no se corresponde con ninguno de los tipos mencionados.

Cabe destacar que algunos estudios investigaban los efectos de varios de estos factores, por ejemplo, comprobando a la vez el efecto de la dieta y el de patógenos combinados, o dando dos dietas distintas a peces ya separados por grupos de edad. También cabe destacar que la gran mayoría de los estudios revisados estaban centrados en los efectos de distintos tipos de dieta.

4- Bacterias detectadas en el estudio, sea a nivel de filo o de género, e incluso en algunos trabajos se describen especies concretas. Debido a la gran variabilidad inherente a la microbiota, sobre todo a niveles taxonómicos más exclusivos como género o especie, se decidió realizar este estudio a nivel de filo. Para ello, se anotó el filo de todas las bacterias localizadas en los diversos trabajos. Para aquellos estudios que la incluyeron, se anotó también la proporción de cada tipo de filo bacteriano detectado.

5- Tipo de análisis. Se llevaron a cabo principalmente cuatro tipos de análisis para discernir la composición bacteriana en los trabajos estudiados: cultivos, PCR-DGGE, y PCR y secuenciación con Illumina o pirosecuenciación 454. Las diferencias entre los distintos tipos de metodología se han explicado en el apartado 1.4.

6- Ambiente. Uno de los factores más importantes de trabajos científicos de esta clase es la repetibilidad de los mismos, ya que esto permite comprobar los resultados o, como

mínimo, validar la metodología de los investigadores. Es por ello que la inmensa mayoría de trabajos en peces incluyen datos referidos a: fotoperíodo (natural o artificial, y cantidad de horas de luz en artificial), época del año, duración del estudio (normalmente recogida en días, aunque puede abarcar desde unas semanas hasta más de un año), si se usó agua marina en sistema abierto o recirculada, temperatura del agua, pH, salinidad y oxígeno disuelto en el agua, y peso inicial medio de los peces.

7- Base de datos en que se localizó el artículo por vez primera.

2.4- Tratamiento de los datos

Para el tratamiento de los datos, se utilizó soporte informático de Microsoft Office. El objetivo principal fue establecer una comparativa entre cuántos estudios de cada tipo recogieron cierto tipo de información sobre el ambiente en el que se llevaron a cabo los experimentos, localizaron y/o identificaron ciertos filos de bacterias, qué zona del intestino se utilizó, para el análisis genético, qué tipo de análisis genético fue llevado a cabo, etc. También se identifican las proporciones habituales de bacterias para cada sección intestinal.

3- Resultados

3.1- Información sobre factores externos

Como se ha mostrado en la figura 5, la búsqueda aportó un total de 895 publicaciones la mayoría de las cuales provenía de las bases de datos Google Scholar y Web of Science. De éstos, 697 eran únicos (no repetidos) y un filtrado previo determinó que solo 81 usaban la dorada como especie central de estudio. El último filtro, dio lugar a un total de 47 artículos que se centraban en el estudio de la microbiota intestinal de la dorada. Como se muestra en la figura 5, han sido localizados 47 artículos que hacen referencia al objetivo de este estudio: la microbiota intestinal de la dorada. De entre esos 47 artículos, 33 eran estudios de los efectos de distintas dietas en los animales y su microbiota. Los otros temas de estudio fueron probióticos (5 artículos), genéticos (1), estudios de edad y/o sexo (2), efectos ambientales (8), inmunidad frente a patógenos o parásitos (4) y otros (2) (figura 6). Se dio cierto solapamiento entre los temas, con algunos estudios haciendo referencia al efecto combinado de ambiente y dieta o de patógenos y dieta, por ejemplo.

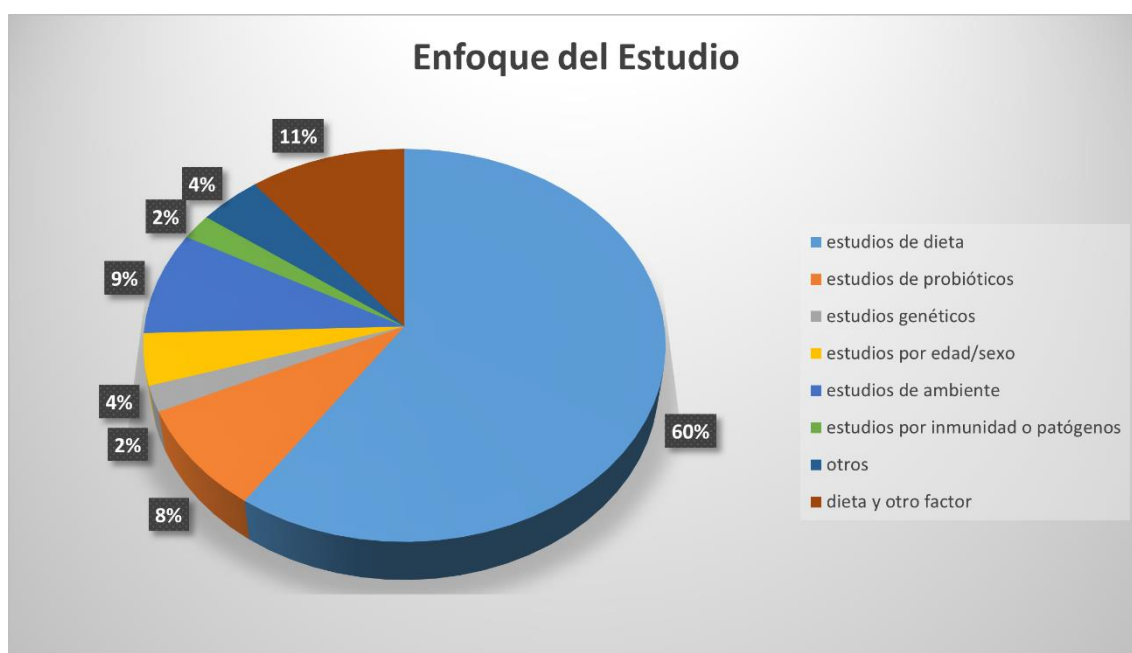


Figura 6: Diagrama de sectores indicando el porcentaje de estudios dirigidos a las diferentes temáticas

Respecto a las condiciones ambientales y/o fisiológicas de los peces, la Tabla 1 explica cuántos artículos incluyeron qué información. Más del 90% de los trabajos incluyeron datos sobre el peso de los animales, localización de las instalaciones y duración del experimento. Los factores menos representados fueron el pH y la época del año en la que se realizó el muestreo.

Tabla 1: Cantidad de artículos que han incluido cada tipo de información ambiental

Datos ambientales incluidos	Nº de artículos en que se incluyó	Porcentaje sobre el total de artículos
Temperatura	39	82,98
Salinidad	26	55,32
pH	13	27,66
Fotoperíodo	38	80,85
Oxígeno en el agua	29	61,70
Peso inicial del pez	42	89,36
Región de la instalación	43	91,49
Duración de la aclimatación	24	51,06
Duración del experimento	43	91,49
Época de muestreo	16	34,04

La lista de artículos utilizados está incluida en la Tabla 5 (Anexos), y las tablas de información obtenida de cada uno están incluidas en las Tablas 6-8 (Anexos).

3.2- Información sobre el tipo de análisis

Respecto al tipo de análisis, la mayoría de los artículos examinaron el contenido bacteriano de una determinada zona del intestino (29,79%), algunos revisaron el total (21,27%), o compararon diversas partes del intestino (25,53%). Otros estudios llevaron a cabo el análisis sobre muestras fecales sin necesidad de diseccionar el intestino (17,02%). El resto de los estudios, al haberse llevado a cabo con larvas, resolvieron que diseccionar el pez para extraer el intestino era demasiado laborioso o excedía las capacidades de los investigadores, con lo que trituraron al animal completo; o hicieron homogeneización de diversas partes del cuerpo con similar resultado (6,38%).

Estas diferentes aproximaciones experimentales causan que llevar a cabo una comparativa sea muy complejo, ya que los diversos experimentos tenían objetivos muy variados y utilizaron métodos distintos para obtener información. En la Tabla 2 se incluyen, como referencia, cuántos artículos han estudiado, en general, qué secciones del intestino.

Tabla 2: Cantidad de artículos para cada sección intestinal o muestra estudiada

Parte corporal estudiada	Nº de artículos localizados
Intestino anterior	6
Intestino medio	5
Intestino posterior	3
Muestras fecales	8
Combinación de secciones intestinales	10
Preparación del pez entero	3
Comparativa de múltiples secciones	12

Además de incluir ese tipo de información, es importante saber qué tipo de análisis fueron llevados a cabo para investigar la variedad de la microbiota. En el apartado 1.4 se han descrito los distintos tipos de metodologías que se llevan a cabo más comúnmente en este tipo de estudios. La Tabla 3 indica cuántos artículos fueron localizados para cada tipo de análisis. Nótese que algunos artículos no informaron del tipo de análisis llevado a cabo, y otros llevaron a cabo un estudio de otro tipo posteriormente para confirmar la información obtenida previamente.

Tabla 3: Tipos de metodologías usadas para estudiar la microbiota intestinal de la dorada en los distintos artículos incluidos en este estudio.

Tipo de análisis	Nº de artículos en los que se utilizó
Cultivo	4
Illumina	16
DGGE	17
Pirosecuenciación 454	7
Varios	2

3.3- Tipos de bacterias encontradas

La información relativa a los tipos de bacterias encontradas también fue muy variada. Algunos artículos establecieron comparativas a nivel de filo, otros de género o familia, e incluso algunos a nivel de especie. Para establecer una comparativa razonable, se decidió utilizar la información al nivel de filo, mucho más generalista pero que permite comparar artículos que identificaron bacterias a distintos niveles taxonómicos. Por ejemplo, para artículos que identificaron determinados géneros o familias sin detallar más información taxonómica, se revisó a qué filo pertenecían esos datos para facilitar la comparativa. En la Tabla 4 se incluyen qué filios de bacterias fueron encontrados en los análisis, y cuántos artículos localizaron cada uno, lo que permite establecer una frecuencia relativa de la aparición de dichos grupos en la microbiota intestinal bacteriana de la dorada. En general, los filios más representados en la microbiota intestinal de la dorada fueron Proteobacteria y Firmicutes; seguidos por Actinobacteria, Bacteroidetes y Cyanobacteria.

Tabla 4: Principales filios de bacterias encontrados

Filos localizados	Nº de artículos en que se encontraron	Porcentaje sobre artículos totales
Actinobacteria	27	57,44
Bacteroidetes	22	46,81
Cyanobacteria	15	31,92
Firmicutes	35	74,46
Proteobacteria	40	85,11
Spirochaetes	5	10,64
Verrucomicrobia	7	14,89
Fusobacteria	3	6,38
Acidobacteria	3	6,38
Saccharibacteria	1	2,12
Armatimonadetes	1	2,12
Planctomycetes	4	8,51
Archaeae*	2	4,26

*: Si bien las Archaeae no son bacterias en el sentido estricto del término consensuado por la comunidad científica, eso no significa que no tengan participación en las relaciones tróficas y/o simbióticas de la microbiota bacteriana, así que fueron incluidas. Sin embargo, los métodos utilizados no son específicos para la detección de Arqueas, así que también es posible que su inclusión sea debida a errores experimentales o de lectura. Generalmente, estos organismos se filtran en el paso de análisis bioinformático.

3.4- Abundancias relativas de las bacterias

En la figura 7, se muestran las abundancias relativas de los distintos grupos considerando todos los artículos que han incluido cifras o gráficos acerca de la abundancia relativa de los distintos tipos de bacterias. Nótese que, para cualquier artículo en que no se haya localizado un determinado filo, pero sea un filo que otro artículo sí haya identificado con frecuencia relativa, sea ha optado por anotar la frecuencia en el primer artículo como 0%. Por ejemplo, en varios artículos se han localizado Verrucomicrobia con frecuencias que alcanzan el 5,667%; pero en muchos otros dicho filo no se ha identificado, por lo que se ha optado por anotar la frecuencia de Verrucomicrobia en ellos como 0%.

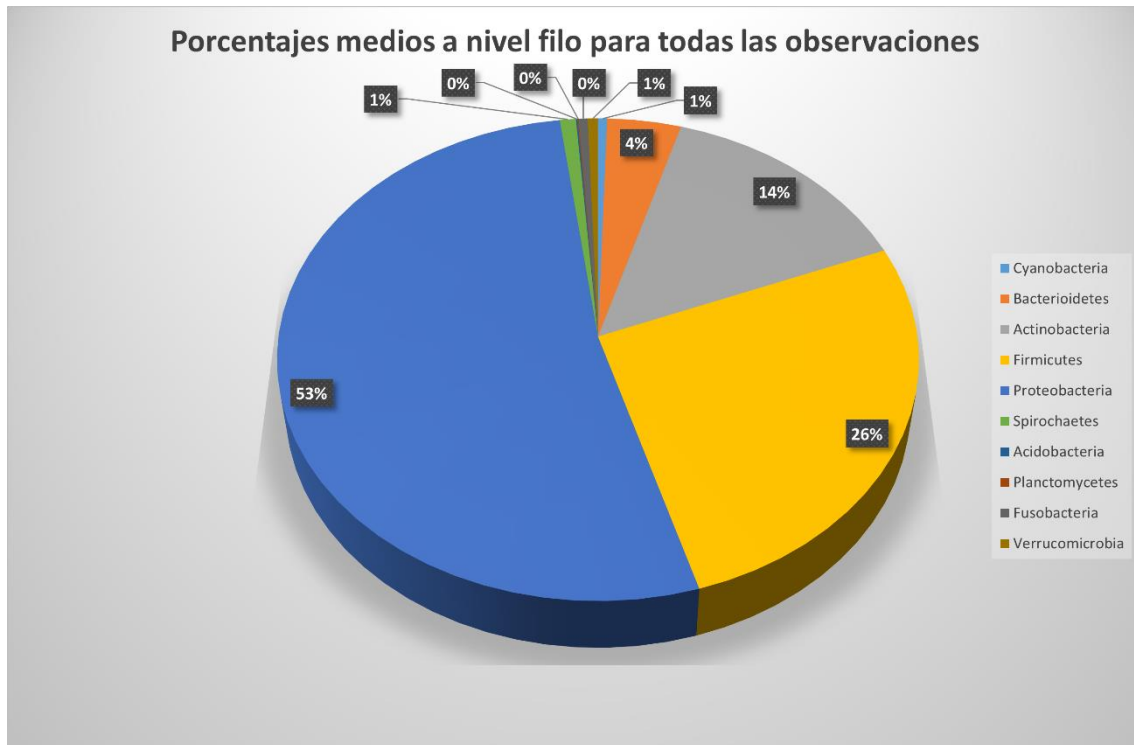


Figura 7: Frecuencias relativas de los distintos tipos de bacterias a nivel de filo para todos los artículos seleccionados que incluían la frecuencia relativa.

Sin embargo, si bien esta información es muy valiosa, está sesgada debido, entre otras cosas, a la inclusión de las proporciones de peces enteros. También se debe tener en cuenta que las proporciones a nivel de mucosa intestinal (microbiota adherente) son, inevitablemente, distintas a las proporciones relativas a nivel de lumen, el hueco intestinal en el que se concentran los alimentos parcialmente digeridos y en el que se empiezan a formar las heces (microbiota transeúnte). Es por ello que las figuras 8 y 9 muestran las proporciones relativas a nivel de mucosa intestinal y de heces/lumen.

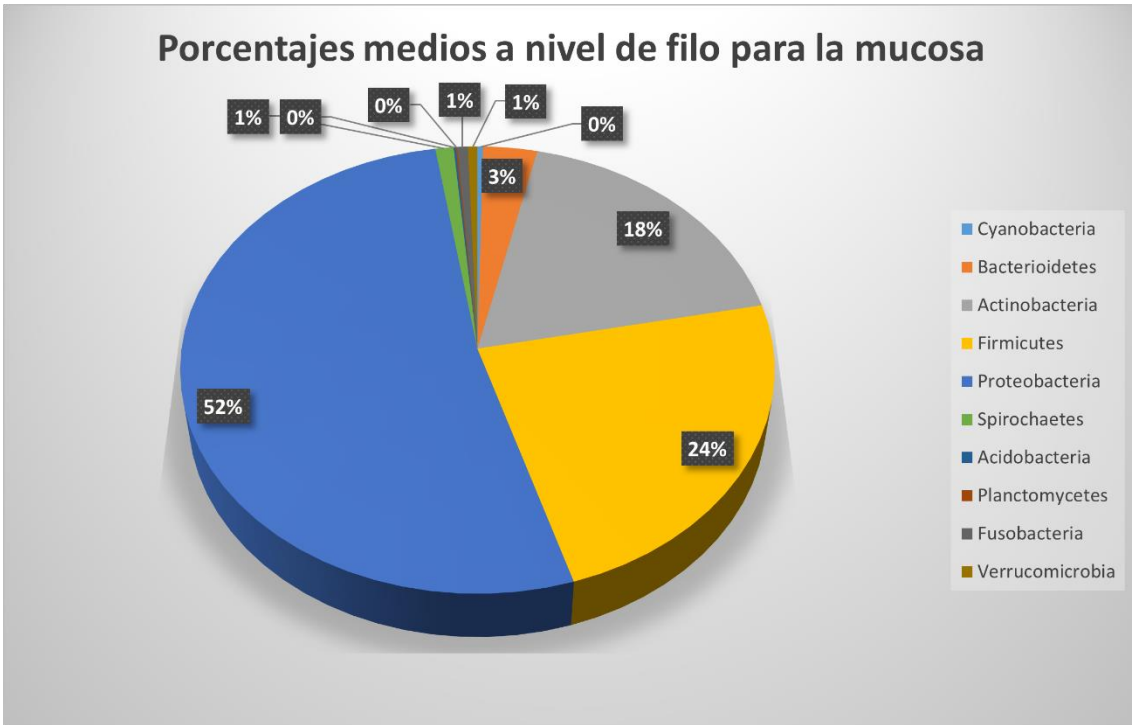


Figura 8: Frecuencias relativas de los distintos tipos de bacterias a nivel de filo para todas las observaciones referentes a la microbiota adherente o autóctona (mucosa intestinal)

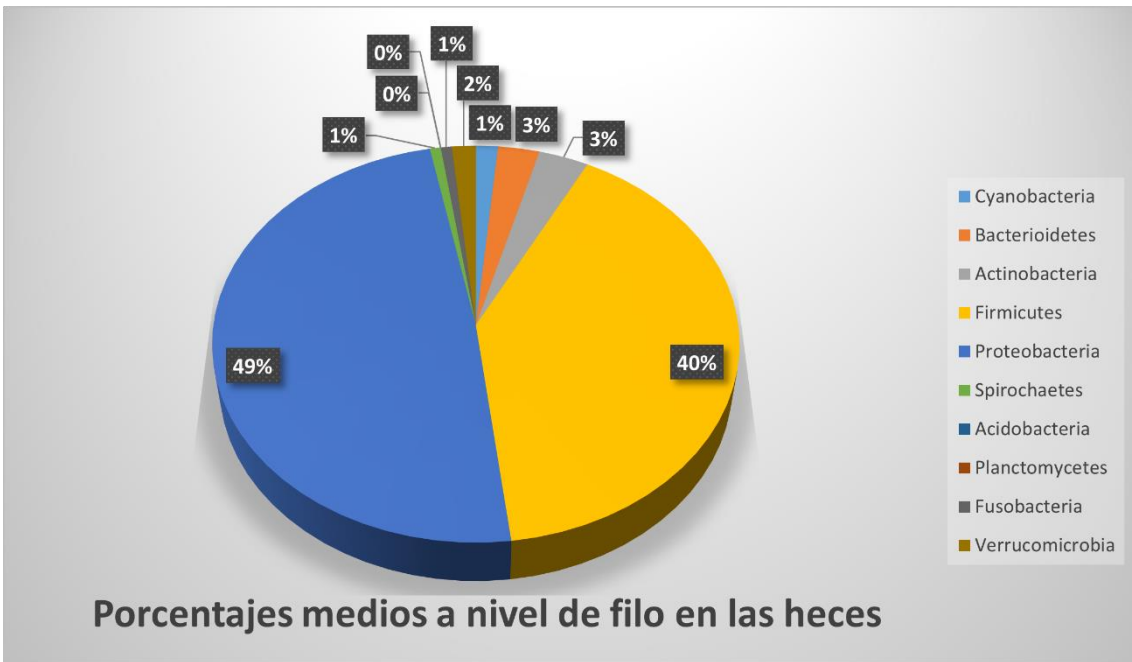


Figura 9: Frecuencias relativas de los distintos tipos de bacterias a nivel de filo para todas las observaciones referentes a la microbiota transeúnte o alóctona (contenido del lumen intestinal y heces).

Como se puede observar, existe una gran diferencia entre los fillos Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y Actinobacteria en comparación con todos los demás,

principalmente debido a que dichos grupos fueron identificados en la gran mayoría de los artículos que incluyeron las proporciones relativas de las bacterias. Es por ello que se ha optado por incluir gráficas con sus frecuencias relativas a nivel de intestino anterior, medio y posterior, así como a nivel estomacal (figuras 10-13).

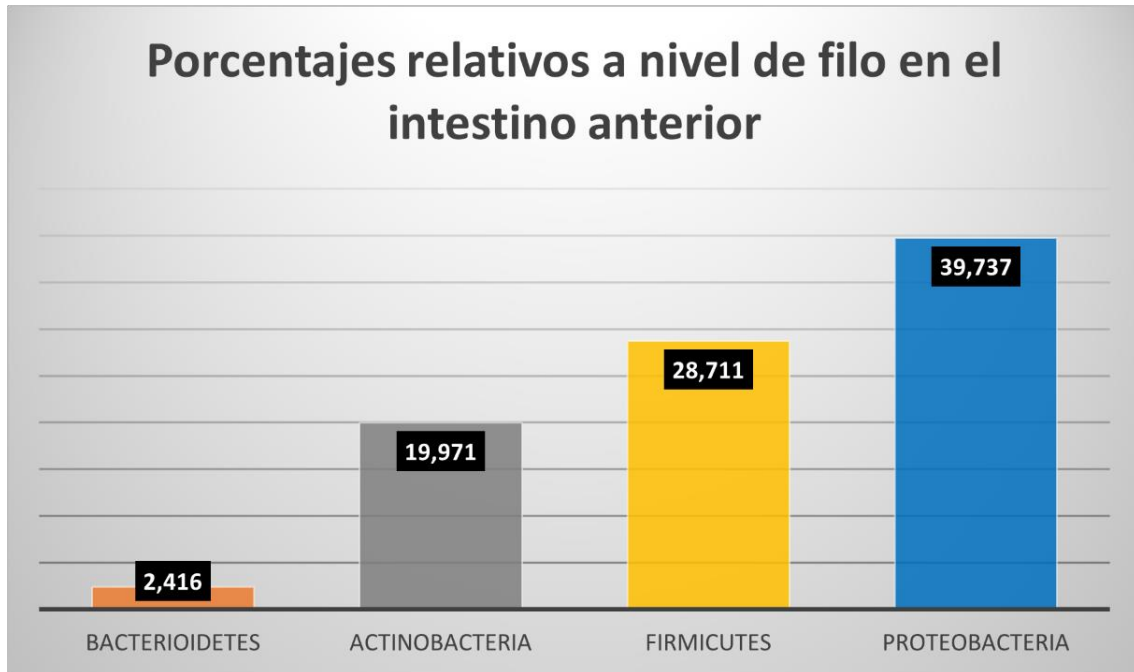


Figura 10: Media de los porcentajes relativos para los cuatro filios principales en las observaciones de la mucosa del intestino anterior.

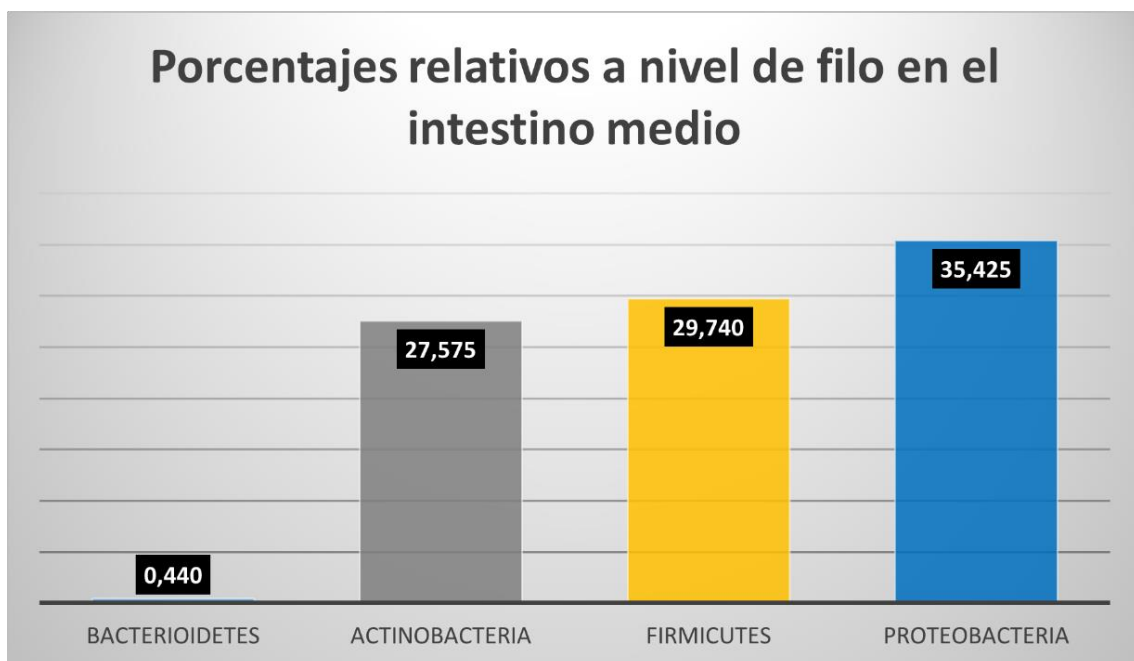


Figura 11: Media de los porcentajes relativos para los cuatro filios principales en las observaciones de la mucosa del intestino medio.

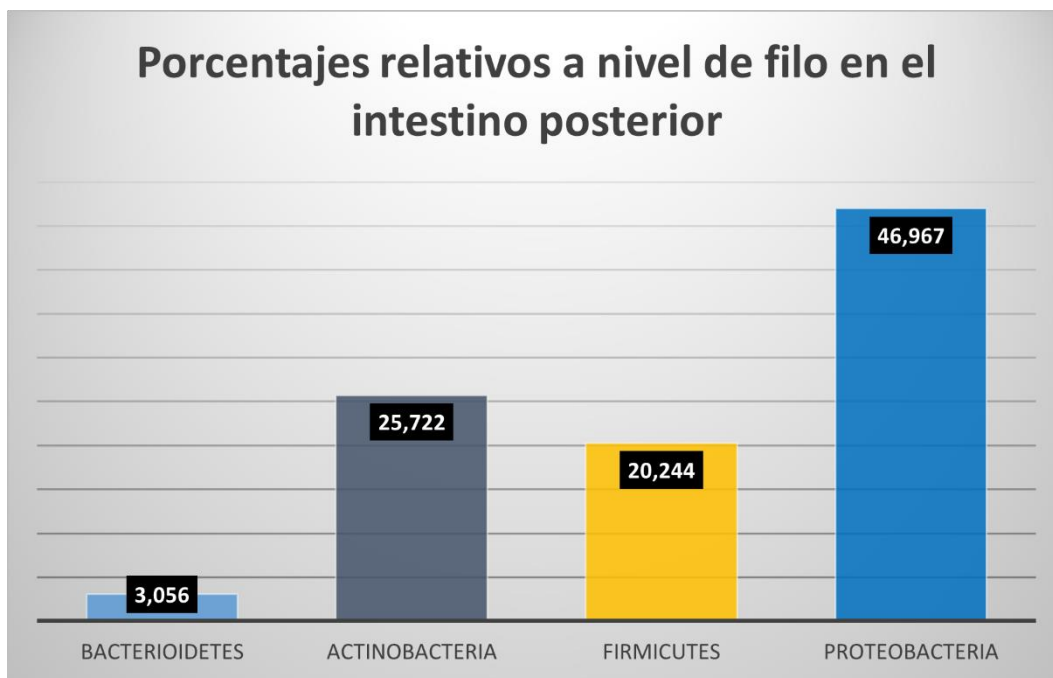


Figura 12: Media de los porcentajes relativos para los cuatro filios principales en las observaciones de la mucosa del intestino posterior.

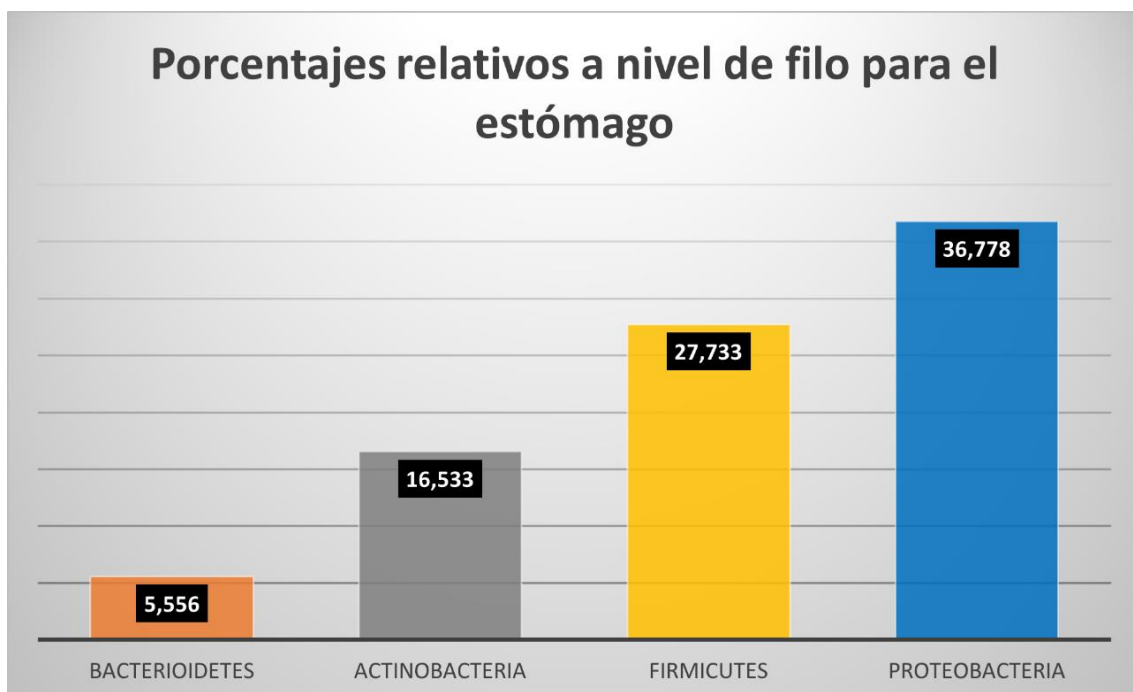


Figura 13: Media de los porcentajes relativos para los cuatro filios principales en las observaciones de la mucosa del estómago.

Como se puede observar, las bacterias del filo Bacterioidetes se encuentran con una frecuencia cada vez menor a medida que se avanza por el tracto digestivo, desapareciendo en el intestino posterior. Las Proteobacteria son dominantes en el estómago y en el anterior, pero su abundancia relativa se reduce poco a poco hasta perder la dominancia en el posterior. Al mismo tiempo, la frecuencia relativa de Actinobacteria va en aumento a lo largo del tracto digestivo, hasta ser dominantes en el intestino posterior. Las Firmicutes parecen mantenerse relativamente constantes a lo largo de todo el tracto digestivo.

4- Discusión

La microbiota intestinal está compuesta por comunidades de microbios muy diversas y dinámicas que pueden ser afectadas por muchos factores, siendo el medio ambiente, la dieta y la genética del huésped los más importantes (Piazzon *et al.*, 2020). La alta variabilidad de los factores externos e internos en los estudios revisados demuestra que existe un núcleo de bacterias que persiste en la mayoría de las doradas con relativa independencia de los factores externos. Sin embargo, las proporciones de estas varían dependiendo de las condiciones internas y externas, en ocasiones de forma radical.

4.1- Observaciones preliminares sobre la variabilidad

Como ya se ha visto en resultados, una gran cantidad de los estudios ha optado por investigar cambios en la microbiota debido a variaciones en la dieta, fuera como factor único del estudio o combinado con otros factores (69,56%), seguidos por probióticos y ambientales (8,70% en ambos casos). Se ha demostrado que la microbiota intestinal es un factor importante para el crecimiento total y su velocidad en otras especies, como carpa común *Cyprinus carpio* (Li *et al.*, 2013); y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Chapagain *et al.*, 2019). Y no solo en peces, sino también en mamíferos, se ha determinado que la dieta tiene un papel fundamental en la composición y equilibrio de la microbiota intestinal (Piazzon *et al.*, 2017; Sanchez-Tapia *et al.*, 2019; Serra *et al.*, 2021). Si bien este conocimiento puede ser valioso desde un punto de vista de reducción de costes en la dieta o maximización del factor de conversión de los alimentos; muy pocos estudios se han centrado en los efectos ambientales más allá de la acidez del agua (Fonseca *et al.*, 2019), las diferencias entre animales salvajes y criados en cautividad (Kormas *et al.*, 2014) o entre distintas instalaciones o regiones (Floris *et al.*, 2013; Nikouli *et al.*, 2018). Algunos de estos factores ya han demostrado tener efectos en la microbiota intestinal en otras especies. Un ejemplo de ello es la diferencia entre animales salvajes y criados en cautividad en salmón atlántico *Salmo salar* (Lavoie *et al.*, 2018). Sin embargo, la acidez del agua no parece tener efectos especialmente significativos en otras especies, como el mejillón de concha gruesa *Mytilus coruscus* (Yang *et al.*, 2021) ni tambaquis amazónicos *Colossoma macropomum* (Sylvain *et al.*, 2016).

Un factor secundario a tener en cuenta es que ninguno de los estudios revisados ha intentado establecer el efecto sobre la microbiota bacteriana intestinal de cambios en la cantidad de oxígeno en el agua, fotoperíodo, salinidad, o estación del año; y sólo dos (Nikouli *et al.*, 2019; Piazzon *et al.*, 2019) intentaron establecer una comparativa en la comunidad bacteriana intestinal de la dorada en función de su edad y sexo, uno de los cuales llevó a cabo su estudio sobre larvas, con lo que su información, al hacerse sobre el pez completo, es difícil de comparar con los otros estudios para el tema que nos ocupa.

En trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) hay estudios que parecen demostrar la dominancia de bacterias del filo Tenericutes (Rimoldi *et al.*, 2019), que no aparecen en ninguno de los estudios de dorada revisados. Es altamente posible que la salinidad tenga un efecto significativo en las proporciones de microbiota intestinal, como ya se investigó en salmón atlántico (*Salmo salar*) donde la transición de agua dulce a agua salada causó efectos significativos en la composición de la microbiota intestinal mientras que cambios en la composición de ácidos grasos en la dieta que reflejen dicha transición no mostró cambios significativos en la microbiota (Rudi *et al.*, 2018). Esto parece mostrar que un estudio del efecto de la salinidad en la microbiota intestinal de la dorada es una línea de investigación viable e interesante ya que la dorada se cultiva tanto en agua salada como en agua salobre.

Las distintas zonas del intestino de peces tienen diferentes funciones, conformando distintos ambientes que han demostrado tener un gran impacto sobre la composición bacteriana asociada a las mismas (Estruch *et al.*, 2015). Diferencias en la microbiota según sección intestinal estudiada han sido descritas en diferentes especies de peces como la dorada o la carpa común (Estruch *et al.*, 2015; Ye *et al.*, 2016). La mayor presencia de Actinobacteria en la región posterior y menor en el anterior, e incluso menor aún en el estómago, parecería implicar que las especies pertenecientes a este filo son menos resistentes en general al medio ácido que supone el estómago. La disminución hasta la desaparición de Bacteroidetes a lo largo del tracto digestivo parece implicar que lo opuesto de Actinobacteria se les aplicaría: pueden sobrevivir mejor en el ambiente ácido del estómago. Con esto, destacamos la importancia de reportar la sección intestinal estudiada para poder establecer comparativas relevantes. Sin embargo, esto se complica cuando se usan animales muy pequeños, como larvas, en los que la disección del intestino no es posible. El riesgo de este tipo de procedimiento es que usando el animal completo se detecta el total de la microbiota presente en piel, branquias y tracto digestivo. Para evitar la interferencia de la microbiota externa, en este tipo de estudio las larvas se suelen desinfectar y lavar previamente a su procesado. Un ejemplo es el estudio de Castanho *et al.* (2017), en el que las larvas fueron bañadas en cloruro de benzalconio (concentración del 0,1%) durante 30 segundos antes de ser lavadas en una solución salina estéril al 1,5% para eliminar los restos de este compuesto. En estos casos, la distinción entre diferentes porciones intestinales no es posible.

Para comparar, se ha investigado si existe variabilidad en la microbiota intestinal en otras especies para la misma sección intestinal o entre distintas especies. La cantidad de información localizada es escasa. Se ha observado que en perros existe una significativa variabilidad a nivel fecal en función de raza y a lo largo del tiempo (García-Mazcorro *et al.*, 2012). Un estudio llevado a cabo sobre aves acuáticas arrojó resultados que sugieren que existía poca variabilidad dentro de la misma sección intestinal de cada especie (Laviad-Shitrit *et al.*, 2019).

Otra fuente de variabilidad entre estudios es el tipo de metodología analítica utilizada. El uso de diversos tipos de análisis tiene ciertas consecuencias a la hora de interpretar los resultados. Análisis mediante cultivos arrojan información sobre la presencia de determinados grupos, pero no de otros que pueden no detectarse por no crecer bien en los medios utilizados. Estudios de DGGE obtienen información relativa, en principio, a la presencia y/o ausencia de todas las familias e incluso especies presentes, pero no pueden, por sí solos, proporcionar información respecto a las proporciones de las mismas. Además, este método tiene baja resolución permitiendo ver solo las bacterias más abundantes. Respecto a los métodos Illumina y de Pirosecuenciación 454, si bien proporcionan información muy completa y precisa a nivel metagenómico de la presencia y proporción de familias y géneros completos, así como sus proporciones, tienen la desventaja de ser más costosos y complejos (Hiergeist *et al.*, 2015).

4.2- Bacterias dominantes

No sólo se han localizado bacterias pertenecientes a los filos Firmicutes y Proteobacteria en la gran mayoría de los estudios, sino que además han demostrado ser dominantes en una elevada proporción de dichos estudios. Actinobacteria, Bacteroidetes y Cyanobacteria son también altamente frecuentes, seguidos de Spirochaetes y Verrucomicrobia. Las abundancias relativas de cada grupo se han incluido en el apartado 3.4. Los filos Proteobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes representan hasta el 90% de la microbiota intestinal de los peces para diferentes especies (Ghanbari *et al.*, 2015). En doradas en particular, el filo dominante descrito depende del estudio (Piazzon *et al.*, 2019).

Varios estudios (Floris *et al.*, 2013; Huyben *et al.*, 2020; Kormas *et al.*, 2014; entre otros) incluyen las proporciones de diversas familias, géneros o especies en diversas condiciones. Estas proporciones son variables, lo que implica que, si bien los filos se mantienen, las proporciones de cada especie dentro de cada filo pueden variar. Esto es, es posible que la proporción de bacterias de distintas familias y/o géneros cambie sin que se aprecie un cambio significativo a nivel de filo. Gran cantidad de artículos han incluido múltiples especies dentro del filo de Proteobacteria sin haber localizado tanta variedad dentro de los otros filos (Castanho *et al.*, 2017; Floris *et al.*, 2013; Kormas *et al.*, 2014; entre otros). Esto no solo parece implicar una mayor variabilidad dentro del filo Proteobacteria que dentro de los otros, si no también explica la alta prevalencia de este filo en la gran mayoría de las observaciones recogidas.

Las Actinobacteria están ampliamente distribuidas en ambientes terrestres y acuáticos y se sabe que forman interacciones simbióticas con vertebrados e invertebrados tomando parte en la salud del huésped mediante la conversión de alimentos en biomasa microbiana y productos de fermentación finales que pueden ser utilizados por el

huésped (Anandan *et al.*, 2016). Las Actinobacteria tienen un número importante de funciones, incluyendo la degradación/descomposición de toda clase de sustancias orgánicas como la celulosa, polisacáridos, grasas proteicas, ácidos orgánicos, y demás (Anandan *et al.*, 2016). Uno de los géneros más metabólicamente interesantes de Actinobacteria es *Propionibacterium*. En general, los microorganismos del género *Propionibacterium* tienen un metabolismo peculiar que causa la formación de ácido propiónico como el principal producto final de fermentación (Zárate, 2012). El propionato es un ácido graso de cadena corta que, junto al butirato – otro subproducto microbiano de la digestión de carbohidratos- ha demostrado ser muy beneficioso para la salud intestinal (Piazzon *et al.*, 2019).

Las Firmicutes son bacterias muy comunes en el intestino de peces, aves y mamíferos (Laviad-Shitrit *et al.*, 2019; Lozupone *et al.*, 2012; Ghanbari *et al.*, 2015). Su prevalencia en el intestino de la dorada es muy elevada (Estruch *et al.*, 2015; Nikouli *et al.*, 2018; Parma *et al.*, 2016; Piazzon *et al.*, 2020; Rimoldi *et al.*, 2018). Su abundancia está altamente modulada por intervenciones dietéticas (Piazzon *et al.*, 2017). También contribuyen a la nutrición del huésped produciendo ácidos grasos de cadena corta (butirato) y vitaminas (Piazzon *et al.*, 2019).

Sin embargo, es innegable que las Proteobacteria, como filo, son una parte importante de la microbiota central de esta especie (Piazzon *et al.*, 2019). Al ser organismos anaeróbicos facultativos, las Proteobacteria con sus propiedades metabólicas flexibles suelen dominar nichos ecológicos como el intestino de los animales siendo especialistas en asociaciones con el hospedador (Ikeda-Ohtsubo *et al.*, 2018). Entre las Proteobacteria destacan los géneros *Photobacterium* y *Vibrio*. Estos géneros son simbioses comunes de la microbiota de peces que pueden producir quitinasa, amilasa, lipasa y proteasas; ayudando con la digestión; pero muchas de estas especies pueden producir enzimas dañinos y actuar como patógenos (Egerton *et al.*, 2018).

4.3- Conclusiones y futuros estudios

Si bien el campo de estudios de la dieta tiene un sinnúmero de posibilidades todavía por comprobar, como ya se menciona en el apartado 4.1, la cantidad de información acerca del efecto en la microbiota intestinal debido a cambios ambientales como el fotoperíodo, oxígeno en el agua, pH, salinidad del agua, estación anual o temperatura del agua es muy escasa para la dorada. Llevar a cabo estudios sobre dichos efectos puede aportar información valiosa que pudiera, a medio o largo plazo, incrementar la producción cárnica de las doradas en piscifactorías a menor coste. Se sabe que, a determinadas temperaturas, el crecimiento de los peces se ve ralentizado (Mayer *et al.*, 2008) pero se desconoce en gran medida el efecto que las temperaturas tienen sobre la microbiota, así como los efectos de otros factores ambientales para dorada.

En conclusión, este estudio está dirigido a ser una guía para que futuros investigadores puedan proponer nuevos experimentos, comparar resultados, y comprobar referencias y métodos llevados a cabo previamente. Los datos aquí presentados serán de ayuda para identificar lagunas de conocimiento para poder enfocar futuros estudios. Además, estos resultados pueden ser de utilidad en la interpretación de resultados y estudios comparativos, no solo con la dorada, sino también con otras especies de peces. Por la presente, se espera que los resultados aquí recopilados y obtenidos sirvan de guía para generar más conocimiento futuro.

5- Bibliografía

- Abdala-Díaz, R. T., García - Márquez, J., Rico, R. M., Gómez - Pinchetti, J. L., Mancera, J. M., Figueroa, F. L., Alarcón, F. J., Martínez-Manzanares, E., y Moriñigo, M. Á. (2021). Effects of a short pulse administration of *Ulva rigida* on innate immune response and intestinal microbiota in *Sparus aurata* juveniles. *Aquaculture Research*, 52(7), 3038-3051.
- Anandan, R., Dharumadurai, D., y Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. En *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. (Editores: Dhanasekaran D. y Jiang Y.). Intechopen.
- Antonopoulou, E., Nikouli, E., Piccolo, G., Gasco, L., Gai, F., Chatzifotis, S., Mente, E. y Kormas, K. A. (2019). Reshaping gut bacterial communities after dietary *Tenebrio molitor* larvae meal supplementation in three fish species. *Aquaculture*, 503, 628-635.
- Apromar. (2020). “La acuicultura en España 2020”. http://www.apromar.es/sites/default/files/2020/Informe%20Acuicultura%20Espa%C3%B1a%202020_APROMARv1.2.pdf (Fecha de última revisión: 18/11/2021)
- Bates, J. M., Mittge, E., Kuhlman, J., Baden, K. N., Cheesman, S. E., y Guillemin, K. (2006). Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Developmental Biology*, 297(2), 374-386.
- Benito-Alas, F. Análisis de la situación económica-financiera del sector productor de la dorada (*Sparus aurata* L.), lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) y corvina (*Argyrosomus regius* A.), en el litoral mediterráneo español. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València, 2016.
- Castanho, S., Califano, G., Soares, F., Costa, R., Mata, L., Pousão-Ferreira, P., y Ribeiro, L. (2017). The effect of live feeds bathed with the red seaweed *Asparagopsis armata* on the survival, growth and physiology status of *Sparus aurata* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(4), 1043-1054.
- Castejón, P., Cabas, I., Gómez, V., Chaves-Pozo, E., Cerezo-Ortega, I., Moriñigo, M. A., Martínez-Manzanares, E., Galindo-Villegas, J., y García Ayala, A. (2021). Vaccination of gilthead seabream after continuous xenoestrogen oral exposure enhances the gut endobolome and immune status via GPER1. *Frontiers in Immunology*, 2021 (12), 742827
- Castro, C., Couto, A., Diógenes, A. F., Corraze, G., Panserat, S., Serra, C. R., y Oliva-Teles, A. (2019). Vegetable oil and carbohydrate-rich diets marginally affected intestine histomorphology, digestive enzymes activities, and gut microbiota of gilthead sea bream juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(2), 681-695.

- Cerezo-Ortega, I. M., Di Zeo-Sánchez, D.E., García-Márquez, J., Ruiz-Jarabo, I., Sáez-Casado, M. I., Balebona, M. C., Moriñigo, M.A. y Tapia-Paniagua, S. T. (2021). Microbiota composition and intestinal integrity remain unaltered after the inclusion of hydrolysed *Nannochloropsis gaditana* in *Sparus aurata* diet. *Scientific Reports*, 11(1), 1-16.
- Cerezuela, R., Fumanal, M., Tapia-Paniagua, S. T., Meseguer, J., Moriñigo, M. Á., y Esteban, M. Á. (2012). Histological alterations and microbial ecology of the intestine in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary probiotics and microalgae. *Cell and Tissue Research*, 350(3), 477-489.
- Cerezuela, R., Fumanal, M., Tapia-Paniagua, S. T., Meseguer, J., Moriñigo, M. Á., y Esteban, M. Á. (2013). Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(5), 1063-1070.
- Chapagain, P., Arivett, B., Cleveland, B. M., Walker, D. M., y Salem, M. (2019). Analysis of the fecal microbiota of fast-and slow-growing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Genomics*, 20(1), 1-11.
- Cordero, H., Guardiola, F. A., Tapia-Paniagua, S. T., Cuesta, A., Meseguer, J., Balebona, M. C., Moriñigo M.A. y Esteban, M. Á. (2015). Modulation of immunity and gut microbiota after dietary administration of alginate encapsulated *Shewanella putrefaciens* Pdp11 to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 608-618.
- Dhanasiri, A. K., Brunvold, L., Brinchmann, M. F., Korsnes, K., Bergh, Ø., y Kiron, V. (2011). Changes in the intestinal microbiota of wild Atlantic cod *Gadus morhua* L. upon captive rearing. *Microbial Ecology*, 61(1), 20-30.
- Egerton, S., Culloty, S., Whooley, J., Stanton, C., y Ross, R. P. (2018). The gut microbiota of marine fish. *Frontiers in Microbiology*, 9, 873.
- Estruch, G., Collado, M. C., Peñaranda, D. S., Tomás Vidal, A., Jover Cerdá, M., Pérez Martínez, G., y Martínez-Llorens, S. (2015). Impact of fishmeal replacement in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on the gastrointestinal microbiota determined by pyrosequencing the 16S rRNA gene. *PloS One*, 10(8), e0136389.
- Estruch-Cucarella, G. Evaluación del impacto a largo plazo de las dietas altas en proteínas vegetales en el estado intestinal del besugo dorado en crecimiento (*Sparus aurata*, L.). Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València, 2018.
- FAO. Aquaculture Department. The state of World Fisheries and Aquaculture. (2018). <https://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf> (fecha de última revisión, 18/11/2021)

- FAO. "The state of world fisheries and aquaculture 2016." Contributing to Food Security and Nutrition for All (2016): 200. <https://www.fao.org/3/i5555e/I5555E.pdf> (fecha de última revisión, 18/11/2021)
- Firmino, J. P., Vallejos-Vidal, E., Balebona, M. C., Ramayo-Caldas, Y., Cerezo, I., Salomón, R., Tort, L., Estévez, A., Moriñigo, M.A., Reyes-López, F.E., y Gisbert, E. (2021). Diet, immunity and microbiota interactions: An integrative analysis of the intestine transcriptional response and microbiota modulation in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed an essential oils-based functional diet. *Frontiers in Immunology*, 12, 356.
- Floris, R., Manca, S., y Fois, N. (2013). Microbial ecology of intestinal tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) from two coastal lagoons of Sardinia (Italy). *Transitional Waters Bulletin*, 7(2), 4-12.
- Floris, R., Scanu, G., Fois, N., Rizzo, C., Malavenda, R., Spanò, N., y Lo Giudice, A. (2018). Intestinal bacterial flora of Mediterranean gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus) as a novel source of natural surface active compounds. *Aquaculture Research*, 49(3), 1262-1273.
- Fonseca, F., Cerqueira, R., y Fuentes, J. (2019). Impact of ocean acidification on the intestinal microbiota of the marine sea bream (*Sparus aurata* L.). *Frontiers in Physiology*, 10, 1446.
- Fry, J. P., Mailloux, N. A., Love, D. C., Milli, M. C., y Cao, L. (2018). Feed conversion efficiency in aquaculture: do we measure it correctly?. *Environmental Research Letters*, 13(2), 024017.
- Galindo-Villegas, J., García-Moreno, D., De Oliveira, S., Meseguer, J., y Mulero, V. (2012). Regulation of immunity and disease resistance by commensal microbes and chromatin modifications during zebrafish development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(39), E2605-E2614.
- Garcia - Mazcorro, J. F., Dowd, S. E., Poulsen, J., Steiner, J. M., y Suchodolski, J. S. (2012). Abundance and short - term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs. *Microbiologyopen*, 1(3), 340-347.
- Ghanbari, M., Kneifel, W., y Domig, K. J. (2015). A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing. *Aquaculture*, 448, 464-475.
- Guerreiro, I., Serra, C. R., Enes, P., Couto, A., Salvador, A., Costas, B., y Oliva-Teles, A. (2016). Effect of short chain fructooligosaccharides (scFOS) on immunological status and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) reared at two temperatures. *Fish & Shellfish Immunology*, 49, 122-131.

- Hiergeist, A., Gläsner, J., Reischl, U., y Gessner, A. (2015). Analyses of Intestinal Microbiota: Culture versus Sequencing. *ILAR Journal*, 56(2), 228-240.
- Hovda, M. B., Fontanillas, R., McGurk, C., Obach, A., y Rosnes, J. T. (2012). Seasonal variations in the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research*, 43(1), 154-159.
- Huyben, D., Rimoldi, S., Ceccotti, C., Montero, D., Betancor, M., Iannini, F., y Terova, G. (2020). Effect of dietary oil from *Camelina sativa* on the growth performance, fillet fatty acid profile and gut microbiome of gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). *PeerJ*, 8, e10430.
- Ikeda-Ohtsubo, W., Brugman, S., Warden, C. H., Rebel, J. M. J., Folkerts, G., y Pieterse, C. M. J. (2018). How can we define “optimal microbiota?”: a comparative review of structure and functions of microbiota of animals, fish, and plants in agriculture. *Frontiers in Nutrition*, 5, 90.
- Jones, J., DiBattista, J. D., Stat, M., Bunce, M., Boyce, M. C., Fairclough, D. V., Travers, M.J. y Huggett, M. J. (2018). The microbiome of the gastrointestinal tract of a range-shifting marine herbivorous fish. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2000.
- Jorge, S. S., Enes, P., Serra, C. R., Castro, C., Iglesias, P., Oliva Teles, A., y Couto, A. (2019). Short - term supplementation of gilthead seabream (*Sparus aurata*) diets with *Nannochloropsis gaditana* modulates intestinal microbiota without affecting intestinal morphology and function. *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1388-1398.
- Kormas, K. A., Meziti, A., Mente, E., y Frentzos, A. (2014). Dietary differences are reflected on the gut prokaryotic community structure of wild and commercially reared sea bream (*Sparus aurata*). *Microbiologyopen*, 3(5), 718-728.
- Laviad-Shitrit, S., Izhaki, I., Lalzar, M., y Halpern, M. (2019). Comparative analysis of intestine microbiota of four wild waterbird species. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1911.
- Lavoie, C., Courcelle, M., Redivo, B., y Derome, N. (2018). Structural and compositional mismatch between captive and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) parrs’ gut microbiota highlights the relevance of integrating molecular ecology for management and conservation methods. *Evolutionary Applications*, 11(9), 1671-1685.
- Li, X., Yan, Q., Xie, S., Hu, W., Yu, Y., y Hu, Z. (2013). Gut microbiota contributes to the growth of fast-growing transgenic common carp (*Cyprinus carpio* L.). *PLoS One*, 8(5), e64577.
- Li, Z., Che, J., Xie, J., Wang, G., Yu, E., Xia, Y., Yu, D. y Zhang, K. (2017). Microbial succession in biofilms growing on artificial substratum in subtropical freshwater aquaculture ponds. *FEMS Microbiology Letters*, 364(4), fnx017.

- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., y Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Magalhães, R., Guerreiro, I., Santos, R. A., Coutinho, F., Couto, A., Serra, C. R., Olsen, R.E., Peres, H. y Oliva-Teles, A. (2020). Oxidative status and intestinal health of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles fed diets with different ARA/EPA/DHA ratios. *Scientific Reports*, 10(1), 1-13.
- Mayer, P., Estruch, V., Blasco, J., y Jover, M. (2008). Predicting the growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) farmed in marine cages under real production conditions using temperature-and time-dependent models. *Aquaculture Research*, 39(10), 1046-1052.
- Moroni, F., Naya-Català, F., Piazzon, M. C., Rimoldi, S., Calduch-Giner, J., Giardini, A., Martínez, I., Brambilla, F., Pérez-Sánchez, J. y Terova, G. (2021). The Effects of Nisin-Producing *Lactococcus lactis* Strain Used as Probiotic on Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) Growth, Gut Microbiota, and Transcriptional Response. *Frontiers in Marine Science*, 8, 364.
- Moutinho, S., Peres, H., Serra, C., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., Jover-Cerdá, M., y Oliva-Teles, A. (2017). Meat and bone meal as partial replacement of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles: Diets digestibility, digestive function, and microbiota modulation. *Aquaculture*, 479, 721-731.
- Navarro-Barrón, E., Hernández, C., Llera-Herrera, R., García-Gasca, A., y Gómez-Gil, B. (2019). Overfeeding a high-fat diet promotes sex-specific alterations on the gut microbiota of the zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish*, 16(3), 268-279.
- Naya-Català, F., do Vale Pereira, G., Piazzon, M. C., Fernandes, A. M., Calduch-Giner, J. A., Sitjà-Bobadilla, A., Conceição, L.E.C. y Pérez-Sánchez, J. (2021). Cross-Talk Between Intestinal Microbiota and Host Gene Expression in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) Juveniles: Insights in Fish Feeds for Increased Circularity and Resource Utilization. *Frontiers in Physiology*, 12, 748265.
- Nikouli, E., Meziti, A., Antonopoulou, E., Mente, E., y Kormas, K. A. (2018). Gut bacterial communities in geographically distant populations of farmed sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Microorganisms*, 6(3), 92.
- Nikouli, E., Meziti, A., Antonopoulou, E., Mente, E., y Kormas, K. A. (2019). Host-associated bacterial succession during the early embryonic stages and first feeding in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Genes*, 10(7), 483.
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35(2), 83-108.

- Panteli, N., Mastoraki, M., Lazarina, M., Chatzifotis, S., Mente, E., Kormas, K. A., y Antonopoulou, E. (2021). Configuration of Gut Microbiota Structure and Potential Functionality in Two Teleosts under the Influence of Dietary Insect Meals. *Microorganisms*, 9(4), 699.
- Panteli, N., Mastoraki, M., Nikouli, E., Lazarina, M., Antonopoulou, E., y Kormas, K. A. (2020). Imprinting statistically sound conclusions for gut microbiota in comparative animal studies: a case study with diet and teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 36, 100738.
- Parma, L., Candela, M., Soverini, M., Turrone, S., Consolandi, C., Brigidi, P., Mandrioli, L., Sirri, R., Fontanillas, R., Gatta, P.P. y Bonaldo, A. (2016). Next-generation sequencing characterization of the gut bacterial community of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed low fishmeal based diets with increasing soybean meal levels. *Animal Feed Science and Technology*, 222, 204-216.
- Parma, L., Pelusio, N. F., Gisbert, E., Esteban, M. A., D'Amico, F., Soverini, M., Candela, M., Dondi, F., Gatta, P.P. y Bonaldo, A. (2020). Effects of rearing density on growth, digestive conditions, welfare indicators and gut bacterial community of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L. 1758) fed different fishmeal and fish oil dietary levels. *Aquaculture*, 518, 734854.
- Pelusio, N. F., Scicchitano, D., Parma, L., Dondi, F., Brini, E., D'Amico, F., Candela, M., Yúfera, M., Gilannejad, N., Moyano, F.J., Gatta, P.P. y Bonaldo, A. (2021). Interaction Between Dietary Lipid Level and Seasonal Temperature Changes in Gilthead Sea Bream *Sparus aurata*: Effects on Growth, Fat Deposition, Plasma Biochemistry, Digestive Enzyme Activity, and Gut Bacterial Community. *Frontiers in Marine Science*, 8, 549.
- Perry, W. B., Lindsay, E., Payne, C. J., Brodie, C., y Kazlauskaitė, R. (2020). The role of the gut microbiome in sustainable teleost aquaculture. *Proceedings of the Royal Society B*, 287(1926), 20200184.
- Piazzon, M. C., Calduch-Giner, J. A., Fouz, B., Estensoro, I., Simó-Mirabet, P., Puyalto, M., Karalazos, V., Palenzuela, O., Sitjà-Bobadilla, A. y Pérez-Sánchez, J. (2017). Under control: how a dietary additive can restore the gut microbiome and proteomic profile, and improve disease resilience in a marine teleostean fish fed vegetable diets. *Microbiome*, 5(1), 164.
- Piazzon, M. C., Naya-Català, F., Perera, E., Palenzuela, O., Sitjà-Bobadilla, A., y Pérez-Sánchez, J. (2020). Genetic selection for growth drives differences in intestinal microbiota composition and parasite disease resistance in gilthead sea bream. *Microbiome*, 8(1), 1-17.

- Piazzon, M. C., Naya-Català, F., Simó-Mirabet, P., Picard-Sánchez, A., Roig, F. J., Calduch-Giner, J. A., Sitjà-Bobadilla, A. y Pérez-Sánchez, J. (2019). Sex, age, and bacteria: how the intestinal microbiota is modulated in a protandrous hermaphrodite fish. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2512.
- Psafakis, P., Meziti, A., Berillis, P., Mente, E., Kormas, K. A., y Karapanagiotidis, I. T. (2021). Effects of Dietary Fishmeal Replacement by Poultry By-Product Meal and Hydrolyzed Feather Meal on Liver and Intestinal Histomorphology and on Intestinal Microbiota of Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). *Applied Sciences*, 11(19), 8806.
- Rawls, J. F., Samuel, B. S., y 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.
- Reyes-Becerril, M., Ascencio-Valle, F., Meseguer, J., Tapia-Paniagua, S. T., Moriñigo, M. A., y Esteban, M. Á. (2012). *Debaryomyces hansenii* L2 - enriched diet enhances the immunity status, gene expression and intestine functionality in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 43(8), 1107-1118.
- Rico, R. M., Tejedor-Junco, M. T., Tapia-Paniagua, S. T., Alarcón, F. J., Mancera, J. M., López-Figueroa, F., Balebona, M.C., Antonopoulou -Díaz, R.T. y Moriñigo, M. A. (2016). Influence of the dietary inclusion of *Gracilaria cornea* and *Ulva rigida* on the biodiversity of the intestinal microbiota of *Sparus aurata* juveniles. *Aquaculture international*, 24(4), 965-984.
- Rimoldi, S., Gini, E., Iannini, F., Gasco, L., y Terova, G. (2019). The effects of dietary insect meal from *Hermetia illucens* prepupae on autochthonous gut microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals*, 9(4), 143.
- Rimoldi, S., Gini, E., Koch, J. F. A., Iannini, F., Brambilla, F., y Terova, G. (2020). Effects of hydrolyzed fish protein and autolyzed yeast as substitutes of fishmeal in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diet, on fish intestinal microbiome. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-13.
- Rimoldi, S., Gliozheni, E., Ascione, C., Gini, E., y Terova, G. (2018). Effect of a specific composition of short-and medium-chain fatty acid 1-Monoglycerides on growth performances and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *PeerJ*, 6, e5355.
- Ringø, E., Sperstad, S., Myklebust, R., Refstie, S., y Krogdahl, Å. (2006). Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): the effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture*, 261(3), 829-841.

- 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.
- Rudi, K., Angell, I. L., Pope, P. B., Vik, J. O., Sandve, S. R., y Snipen, L. G. (2018). Stable core gut microbiota across the freshwater-to-saltwater transition for farmed Atlantic salmon. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(2), e01974-17.
- Salem, M. E. S., Abdel - Ghany, H. M., Sallam, A. E., El - Feky, M. M., y Almisherfi, H. M. (2019). Effects of dietary orange peel on growth performance, antioxidant activity, intestinal microbiota and liver histology of Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture Nutrition*, 25(5), 1087-1097.
- Salgueiro, V., Manageiro, V., Bandarra, N. M., Reis, L., Ferreira, E., y Caniça, M. (2020). Bacterial Diversity and Antibiotic Susceptibility of *Sparus aurata* from Aquaculture. *Microorganisms*, 8(9), 1343.
- Sánchez Peñaranda, D., Bäuerl, C., Tomás Vidal, A., Jover Cerdá, M., Estruch, G., Pérez Martínez, G., y Martínez Llorens, S. (2020). Intestinal Explant Cultures from Gilthead Seabream (*Sparus aurata*, L.) Allowed the Determination of Mucosal Sensitivity to Bacterial Pathogens and the Impact of a Plant Protein Diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7584.
- Sanchez-Tapia, M., Tovar, A. R., y Torres, N. (2019). Diet as regulator of gut microbiota and its role in health and disease. *Archives of Medical Research* 50, 259-268.
- Santos, R. A., Oliva-Teles, A., Pousão-Ferreira, P., Jerusik, R., Saavedra, M. J., Enes, P., y Serra, C. R. (2021). Isolation and Characterization of Fish-Gut *Bacillus* spp. as Source of Natural Antimicrobial Compounds to Fight Aquaculture Bacterial Diseases. *Marine Biotechnology*, 23(2), 276-293.
- Seginer, I. (2016). Growth models of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) for aquaculture: A review. *Aquacultural Engineering*, 70, 15-32.
- Serra, C. R., Magalhaes Junior, F., Couto, A., Oliva - Teles, A., y Enes, P. (2018). Gut microbiota and gut morphology of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles are not affected by chromic oxide as digestibility marker. *Aquaculture Research*, 49(3), 1347-1356.
- Serra, C. R., Oliva – Teles, A., Enes, P., y Tavares, F. (2021). Gut microbiota dynamics in carnivorous European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed plant-based diets. *Scientific Reports*, 11, 447.
- Silva, F. C. D. P., Nicoli, J. R., Zambonino-Infante, J. L., Kaushik, S., y Gatesoupe, F. J. (2011). Influence of the diet on the microbial diversity of faecal and gastrointestinal

contents in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and intestinal contents in goldfish (*Carassius auratus*). *FEMS Microbiology Ecology*, 78(2), 285-296.

- Stephens, W. Z., Burns, A. R., Stagaman, K., Wong, S., Rawls, J. F., Guillemin, K., y Bohannan, B. J. (2016). The composition of the zebrafish intestinal microbial community varies across development. *The ISME Journal*, 10(3), 644-654.

- Sundh, H., y Sundell, K. S. (2015). Environmental impacts on fish mucosa. En *Mucosal health in aquaculture* (Editores: Beck B. H. y Peatman E.). Academic Press, Capítulo 7, pp. 171-197.

- Surís-Regueiro, J. C., y Santiago, J. L. (2014). Characterization of fisheries dependence in Galicia (Spain). *Marine Policy*, 47, 99-109.

- Sylvain, F. É., Cheaib, B., Llewellyn, M., Correia, T. G., Fagundes, D. B., Val, A. L., y Derome, N. (2016). pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Scientific Reports*, 6(1), 1-10.

- Tapia-Paniagua, S. T., Balebona, M. D. C., Firmino, J. P., Rodríguez, C., Polo, J., Moriñigo, M. A., y Gisbert, E. (2020). The effect of spray - dried porcine plasma on gilthead seabream (*Sparus aurata*) intestinal microbiota. *Aquaculture Nutrition*, 26(3), 801-811.

- Tapia-Paniagua, S. T., Reyes-Becerril, M., Ascencio-Valle, F., Esteban, M. Á., Clavijo, E., Balebona, M. C., y Moriñigo, M. A. (2011). Modulation of the intestinal microbiota and immune system of farmed *Sparus aurata* by the administration of the yeast *Debaryomyces hansenii* L2 in conjunction with inulin. *Journal of Aquaculture Research and Development*, S1, 1-12.

- Varó, I., Osorio, K., Estensoro, I., Naya-Catala, F., Sitja-Bobadilla, A., Navarro, J. C., Pérez-Sánchez, J., Torreblanca, A. y Piazzon M. C. (2021). Effect of virgin low density polyethylene microplastic ingestion on intestinal histopathology and microbiota of gilthead sea bream. *Aquaculture*, 545, 737245.

- Wong, S., y Rawls, J. F. (2012). Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and environment. *Molecular Ecology*, 21(13), 2100-3102.

- Yang, L., Lv, L., Liu, H., Wang, M., Sui, Y., y Wang, Y. (2021). Effects of ocean acidification and microplastics on microflora community composition in the digestive tract of the thick shell mussel *Mytilus coruscus* through 16S RNA gene sequencing. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 107(4), 616-625.

- Ye, L., Amberg, J., Chapman, D., Gaikowski, M., y Liu, W.T. (2016). Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. *The ISME Journal*, 8, 541-551.

- Zárate, G. (2012). Dairy Propionibacteria: Less conventional probiotics to improve the human and animal health. En Probiotic in Animals. (Editor: Rigobelo E. C.). Intechopen, 153-202.

6- Anexos

Tabla 5: Desglose de artículos por autor, tipo de estudio, zona de muestreo y tipo de análisis, con números de referencia para la siguiente tabla

Nº artículo	Referencia	Tipo estudio	Zona muestreo	Tipo análisis
1	Piazzon <i>et al.</i> (2020)	genética	anterior	Illumina
2	Magalhães <i>et al.</i> (2020)	dieta	varias	DGGE
3	Rimoldi <i>et al.</i> (2020)	dieta	fecal	Illumina
4	Fonseca <i>et al.</i> (2019)	ambiente	total	DGGE
5	Piazzon <i>et al.</i> (2019)	edad/sexo	anterior	Illumina
6	Castro <i>et al.</i> (2019)	dieta	fecal	DGGE
7	Silva <i>et al.</i> (2011)	dieta	varias	DGGE
8	Cerezuela <i>et al.</i> (2013)	probióticos	total	DGGE
9	Estruch <i>et al.</i> (2015)	dieta	varias	Pirosecuenciación 454
10	Nikouli <i>et al.</i> (2018)	ambiente	medio	Pirosecuenciación 454
11	Sánchez Peñaranda <i>et al.</i> (2020)	patógenos y dieta	anterior	DGGE
12	Cordero <i>et al.</i> (2015)	probióticos	fecal	DGGE
13	Cerezuela <i>et al.</i> (2012)	probióticos	fecal	DGGE
14	Salgueiro <i>et al.</i> (2020)	patógenos y antibióticos	pez entero	Cultivos
15	Firmino <i>et al.</i> (2021)	inmunidad y dieta	fecal	varios
16	Piazzon <i>et al.</i> (2017)	dieta	total	Pirosecuenciación 454
17	Huyben <i>et al.</i> (2020)	dieta	varias	Illumina
18	Kormas <i>et al.</i> (2014)	ambiente y dieta	total	Pirosecuenciación 454
19	Varó <i>et al.</i> (2021)	dieta	anterior	Illumina
20	Abdalá-Díaz <i>et al.</i> (2021)	dieta	total	DGGE
21	Moroni <i>et al.</i> (2021)	probióticos	anterior	Illumina
22	Tapia-Paniagua <i>et al.</i> (2020)	dieta	total	Illumina
23	Parma <i>et al.</i> (2020)	ambiente	posterior	Illumina
24	Salem <i>et al.</i> (2019)	dieta	fecal	Cultivos

Nº artículo	Referencia	Tipo estudio	Zona muestreo	Tipo análisis
25	Floris <i>et al.</i> (2018)	otros	varias	Cultivos
26	Rimoldi <i>et al.</i> (2018)	dieta	varias	Illumina
27	Rico <i>et al.</i> (2016)	dieta	total	DGGE
28	Floris <i>et al.</i> (2013)	ambiente	varias	Cultivos
29	Reyes-Becerril <i>et al.</i> (2012)	dieta	total	DGGE
30	Cerezo-Ortega <i>et al.</i> (2021)	dieta	varias	Illumina
31	Panteli <i>et al.</i> (2021)	dieta	medio	Illumina
32	Nikouli <i>et al.</i> (2019)	edad/sexo	pez entero	Pirosecuenciación 454
33	Antonopoulou <i>et al.</i> (2019)	dieta	medio	Pirosecuenciación 454
34	Moutinho <i>et al.</i> (2017)	dieta	varias	DGGE
35	Parma <i>et al.</i> (2016)	dieta	fecal	Illumina
36	Guerreiro <i>et al.</i> (2016)	ambiente y dieta	fecal	DGGE
37	Psofakis <i>et al.</i> (2021)	dieta	medio	Pirosecuenciación 454
38	Tapia-Paniagua <i>et al.</i> (2011)	dieta	total	DGGE
39	Jorge <i>et al.</i> (2019)	dieta	varias	DGGE
40	Serra <i>et al.</i> (2018)	dieta	varias	DGGE
41	Pelusio <i>et al.</i> (2021)	ambiente y dieta	fecal	Illumina
42	Santos <i>et al.</i> (2021)	dieta	total	DGGE
43	Panteli <i>et al.</i> (2020)	otros	medio	Illumina
44	Naya-Català <i>et al.</i> (2021)	dieta	anterior	Illumina
45	Estruch-Cucarella (2018)	dieta	varias	Pirosecuenciación 454
46	Castanho <i>et al.</i> (2017)	dieta	pez entero	Cultivos
47	Castejon <i>et al.</i> (2021)	dieta	posterior	Illumina

Tabla 6: Desglose por artículos de los factores externos (Temperatura, salinidad, pH, Fotoperíodo y Oxígeno) y peso inicial incluidos en cada estudio

Nº Artículo	Temperatura (°C)	Salinidad (g/l)	pH	Fotoperíodo	Oxígeno (mg/l)*	Peso inicial (g)
1	22-24	N.I.	N.I.	Natural	N.I.	38,5-95
2	23±1	35±1	N.I.	12:12	7	15
3	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.
4	24,7±0,07	34,8±0,1	8,14/7,75*	Natural	N.I.	250
5	22-24	N.I.	N.I.	Natural	75%+	N.I.
6	24±0,5	34,7±0,8	N.I.	N.I.	Sat.	71±1,5
7	18-20	N.I.	N.I.	12:12	N.I.	18,8±2,1
8	20	28%	N.I.	12:12	N.I.	50
9	22±0,52	30±1,7	7,5-8,5	Natural	6,5±0,49	130±19
10	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	451±86
11	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	7,5
12	20±2	28%	N.I.	12:12	N.I.	41,6±3,6
13	20	28%	N.I.	12.12	N.I.	50
14	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	500-1500
15	25,1±1,5	N.I.	7,5±0,01	Natural	6,8±1,7	40,3±0,1
16	21±0,5	30%	N.I.	N.I.	75%+	15-16
17	18,2-20,2	N.I.	N.I.	12:12	6,1-6,6	32,92±0,31
18	10,5-26,7	N.I.	8-8,1	Natural	8,1-9,6	varios
19	Natural	N.I.	N.I.	Natural	75%+	56±8,75
20	18-19	38-39	N.I.	Natural	6,8±0,4	14,1±0,3
21	Natural	N.I.	N.I.	Natural	85%+	70-90
22	22,1±0,4	36	7±0,01	Natural	7,2±0,3	10,6±0,1
23	24±1	30	7,8-8	12:12	8±1	96,2±2,1
24	25±1	N.I.	7,8	12:12	6,1	0,32
25	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	330
26	21,2±1,4	37	N.I.	12:12	11,7±0,6	60,56±1,44
27	17-20	N.I.	N.I.	Natural	6,8±0,4	14
28	14/18	35/37	8,14/7,8	N.I.	96%/82%	357,4/313,5
29	20	N.I.	N.I.	12:12	N.I.	80+-5
30	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	17,08±0,38
31	19,9±0,1	N.I.	N.I.	12:12	N.I.	29,5±0,7
32	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	huevos
33	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	105,2±0,17
34	22,5±1,3	35,7±0,8	6,5-7,5	Natural	6,7±0,4	N.I.
35	23±1	28-33	7,8-8,2	12:12	8±1	75,9±1,9
36	18±0,5/25±0,6	35±1	N.I.	N.I.	7	32±0,01
37	21±1	33±0,5	8±0,4	N.I.	>6,5	2,5±0,2
38	20	N.I.	N.I.	12:12	N.I.	80
39	23±0,5	35±1	N.I.	12:12	7	56,6
40	24±1	35±1	N.I.	12:12	7	65±0,1
41	23,17±1,11/ 17,34±0,92	25-30	7,8-8	N.I.	8±1	67,5±1,66
42	22±1	33-34	7±0,3	12:12	N.I.	24
43	19,9±0,1	35%	N.I.	12:12	80%+	29,5±0,7
44	22,03±1,4	N.I.	N.I.	12:12	5,5	55-56
45	22±0,52	30±1,7	7,5-8,5	Natural	6,5±0,49	129±19
46	19,2±1,23	36±1	N.I.	14:10	7±1,05	huevos
47	21±3	N.I.	N.I.	Natural	6	N.I.

La referencia relativa a cada número de artículo se encuentra en la tabla 5

* Oxígeno: algunos estudios incluyeron la cifra exacta en mg/l, otros mencionaron el porcentaje total (incluido como X%) o el porcentaje por encima de saturación (incluido como X%+)

** N.I.: No incluido. Datos que el artículo no menciona

*** Fotoperíodo incluido como (horas luz: horas oscuridad cada día)

**** Natural: Para aquellos artículos que llevaron a cabo el experimento en instalaciones al aire libre sin control de Temperatura y Fotoperíodo se ha inscrito el dato como Natural

Tabla 7: Desglose de los estudios por región, mes de muestreo, duración del estudio y duración de la aclimatación (dado que la aclimatación también sirve como cuarentena, se han puesto dichas cifras en el mismo apartado)

Nº	Región	Duración	Mes muestreo	Aclimatación/Cuarentena
1	Castellón (España)	9 meses	Julio	N.I.
2	Matosinhos (Portugal)	56 días	N.I.	1 mes
3	Civitavecchia (Italia)	92 días	N.I.	1 semana
4	Algarve (Portugal)	30 días	Octubre	60 días
5	Valencia (España)	2 meses	N.I.	N.I.
6	Porto (Portugal)	81 días	N.I.	2 semanas
7	N.I.	30 días	N.I.	N.I.
8	Murcia (España)	4 semanas	N.I.	N.I.
9	Valencia (España)	154 días	Mayo	N.I.
10	Grecia**	N.I.	Septiembre	No
11	Valencia (España)	305 días	N.I.	15 días
12	Murcia (España)	28 días	N.I.	2 semanas
13	Murcia (España)	4 semanas	N.I.	1 mes
14	Ria Formosa (Portugal)	No	Marzo	No
15	Tarragona (España)	65 días	N.I.	N.I.
16	Valencia (España)	13 semanas	Septiembre	N.I.
17	Gran Canaria (España)	90 días	N.I.	4 semanas
18	Grecia**	1 año	N.I.	N.I.
19	Castellón (España)	30 días	Junio	3 semanas
20	Cádiz (España)	2-30 días	Junio	14 días
21	Castellón (España)	12 semanas	Diciembre	2 meses
22	Tarragona (España)	95 días	Febrero	2 semanas
23	Bologna (Italia)	98 días	N.I.	10 días
24	Egipto	60 días	N.I.	N.I.
25	Italia**	No	Invierno	No
26	Civitavecchia (Italia)	90 días	N.I.	N.I.
27	N.I.	70 días	Mayo	N.I.
28	Sardegna (Italia)	No	Invierno	No
29	N.I.	4 semanas	N.I.	2 semanas
30	Cádiz (España)	86 días	N.I.	N.I.
31	Creta (Grecia)	3 meses	N.I.	N.I.
32	Grecia	72 días	Enero	No
33	Torino (Italia)	163 días	N.I.	N.I.
34	Valencia (España)	12 semanas	N.I.	2 semanas
35	Bologna (Italia)	100 días	N.I.	2 semanas
36	Sorgal (Portugal)	15 días	N.I.	15 días
37	Thessaly (Grecia)	100 días	N.I.	N.I.
38	Murcia (España)	4 semanas	N.I.	N.I.
39	Porto (Portugal)	37 días	N.I.	3 semanas
40	Porto (Portugal)	8 semanas	N.I.	3 semanas
41	Bologna (Italia)	121 días	Febrero	10 días
42	Reino Unido	9 semanas	N.I.	2 meses
43	N.I.	95 días	N.I.	N.I.
44	Murtosa (Portugal)	77 días	N.I.	N.I.
45	Valencia (España)	154 días	Marzo	2 meses
46	Olhao (Portugal)	31 días	N.I.	No
47	Murcia (España)	85 días	N.I.	2 semanas

La referencia relativa a cada número de artículo se encuentra en la tabla 5. * N.I.: No incluido. Datos que el artículo no menciona. ** Múltiples instalaciones muestreadas en el mismo país

Tabla 8: Porcentajes encontrados para cada filo de bacteria en cada experimento, desglosados por secciones para aquellos artículos que incluyeron las mismas.

Nº	C*	B*	A*	F*	P*	S*	D*	N*	U*	V*
1	2,63	1,70	7,77	28,10	54,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0,00	51,56	43,53	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	27,00	14,00	0,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	3,93	2,10	36,63	27,07	24,53	3,80	0,00	0,00	0,00	1,60
7	0,00	16,67	0,00	25,00	58,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	34,80	33,00	24,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	27,60	33,70	25,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	36,50	23,70	31,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	24,80	29,10	26,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	22,70	49,80	31,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	2,06	0,00	0,00	11,81	30,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	0,00	0,00	0,00	36,00	64,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,00	3,00	0,00	6,63	81,25	0,00	0,00	0,00	5,38	0,00
17	0,00	2,50	2,50	55,00	30,00	2,50	0,00	0,00	2,50	2,50
17	0,00	5,67	5,67	32,50	27,50	5,67	0,00	0,00	6,67	5,67
18	0,00	5,67	12,33	3,78	75,17	0,00	0,78	0,00	0,33	0,00
19	0,00	8,97	1,03	35,77	51,33	0,00	0,00	0,00	0,00	1,90
21	0,00	1,37	9,60	19,47	53,90	12,03	0,00	0,00	0,00	0,00
22	0,00	1,00	0,75	4,00	85,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
26	0,00	0,00	2,41	47,88	48,99	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
28	0,00	2,65	1,75	0,00	80,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
32	0,00	22,00	0,00	0,00	65,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
35	3,00	7,00	9,00	71,00	6,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,00
37	0,00	1,76	32,40	1,76	58,80	0,00	1,76	1,76	0,00	0,00
44	0,00	2,77	15,17	24,57	44,10	0,00	0,00	0,00	0,00	1,97
45	0,00	0,00	34,80	33,00	24,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
45	0,00	0,00	27,60	33,70	25,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
45	0,00	0,00	36,50	23,70	31,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
45	0,00	0,00	24,80	29,10	26,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
47	3,33	9,17	4,17	13,33	77,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

La referencia relativa a cada número de artículo se encuentra en la tabla 5

*C: Cyanobacteria; B: Bacterioidetes; A: Actinobacteria; F: Firmicutes; P: Proteobacteria; S: Spirochaetes; D: Acidobacteria; N: Planctomycetes; U: Fusobacteria; V: Verrucomicrobia.