


SELECCIÓN Y APLICACIÓN DE PROBIOTICOS PARA LA ACUICULTURA MARINA

Alma Hernández de Rojas

Grupo de investigación "Uso de Probioticos y vacunas en acuicultura"
Instituto Español de Oceanografía – C.O. de Gijón
alma.hernandez@ieo.es

¿QUIÉNES SOMOS?

Grupo de Cultivos Marinos del Centro Oceanográfico de Santander




Instituto Español de Oceanografía
Centro Oceanográfico de Santander

GRUPO DE CULTIVOS MARINOS DEL CENTRO OCEANOGRÁFICO DE SANTANDER

Investigadores: **PROFESORA TIBURCIA**

- **Uso de probióticos y vacunas en acuicultura**
 - Aplicación y comercialización de probióticos en el cultivo (larvario, engorde y reproducción) de peces.
 - Aislamiento y selección de bacterias lácticas y bacteriocinas de origen marino.
 - Microbiota intestinal como eje del bienestar animal.
 - Factores de virulencia expresados "in vivo" en peces en cultivo.
 - Aplicación de vacunas de nueva generación en el cultivo de peces.
 - Producción bacteriana de ácidos grasos w3 como nutraceuticos y promotores de una acuicultura sostenible dietas peces.
 - Utilización de técnicas moleculares en acuicultura.



Instituto Español de Oceanografía
Centro Oceanográfico de Santander

- Reproducción del langostino senegalés y cultivos multitróficos
 - Desarrollo de técnicas de cultivo de nuevas especies.
 - Control de la reproducción.
 - Estudios de comportamiento.
 - Caracterización genética.

ÁREA DE ACUICULTURA

- Reproducción de peces.
 - Aislamiento y selección de bacterias lácticas y bacteriocinas de origen marino.
 - Microbiota intestinal como eje del bienestar animal.
 - Factores de virulencia expresados "in vivo" en peces en cultivo.
 - Aplicación de vacunas de nueva generación en el cultivo de peces.
 - Producción bacteriana de ácidos grasos w3 como nutraceuticos y promotores de una acuicultura sostenible dietas peces.
 - Utilización de técnicas moleculares en acuicultura.
- **Biología Molecular aplicada a la reproducción en acuicultura**
 - Estudio de factores moleculares que afectan a la calidad reproductiva (ADN, ARNs, epigenética).
 - Desarrollo de marcadores moleculares de buenos reproductores.
 - Estudio del efecto de la conservación de gametos sobre parámetros moleculares.
 - Estudio del efecto de la conservación y la diferenciación in vitro de células primarias germinales en peces.
 - Estudios de efectos transgeneracionales tras la exposición parental a toxinas.

ACUICULTURA

- Acercamiento en capturas, transporte y manipulación de peces al marino.
- Diseño y aplicación de técnicas de producción de cultivos acuícolas (filoplación, rotifer, Artemia).
- Acercamiento en técnicas de reproducción artificial.
- Acercamiento en técnicas de conservación.
- Diseño experimental y desarrollo de dietas, alimentación y nutrición de peces: evaluación de crecimiento, calidad y sostenibilidad.
- Diseño y realización de pruebas experimentales a escala preindustrial de diferentes fases de cultivo de peces marinos.
- Producción de juveniles y elevadas de langostinos.
- Diseño y aplicación de técnicas de bioencapsulación probiótica en cultivos acuícolas (filoplación, rotifer, Artemia) y protocolos de administración in vivo en peces.
- Técnicas de aplicación probiótica y protocolos de administración en microencapsulados y otros de peces.
- Diseño y aplicación de "challenges" para ensayos de respuesta inmune frente a patógenos de peces.
- Acercamiento en utilización de vacunas en dietas vivas e inactivas para cultivo de peces.

¿QUIÉNES SOMOS?



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Centro Oceanográfico Gijón



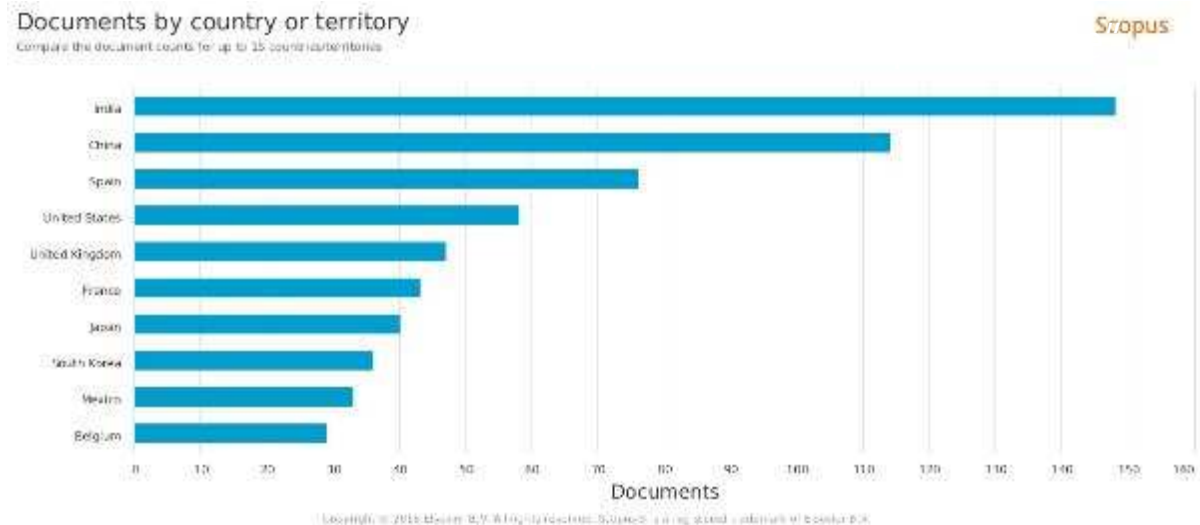
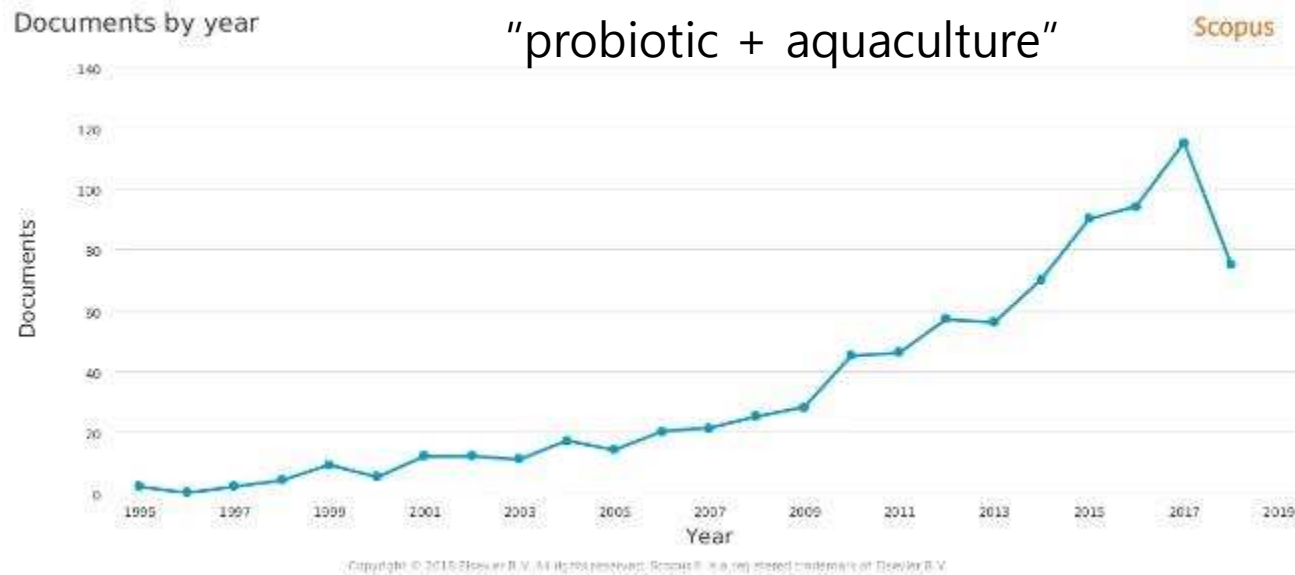
Planta de cultivo de Santander "El Bocal"



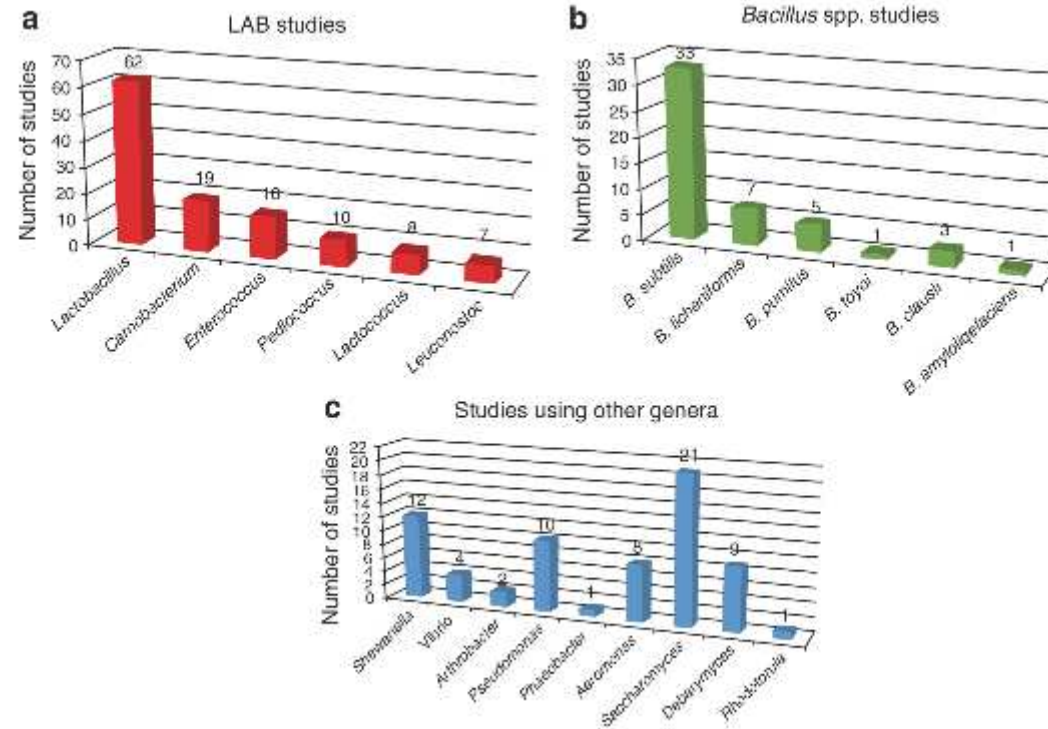
UNIVERSIDAD DE
MURCIA



Número de publicaciones científicas



Número de estudios *in vivo*



Abundancia de estudios científicos en peces distribuidos por especies de microorganismos probióticos investigados. A=LAB; b= *Bacillus* spp. Y c=otros géneros. (Rodiles *et al.* 2018)

- 200 estudios *in vivo* en 20 especies de peces:
- 122 estudios en LAB (*Lactobacillus* > 60 estudios)
- 50 estudios en *Bacillus* spp.
- 68 estudios en otros géneros (*Saccharomyces* > 20 estudios)

Probióticos aprobados en UE



Pediococcus acidilactici
de origen no acuático
(pastos vegetales)

Administración en
forma de pienso

- **Salmónidos y camarones:**
- Salmónidos mejora calidad del producto final: prevención del síndrome de la compresión vertebral (patente internacional IFREMER/INRA 2006)
- Camarones aumentando supervivencia y crecimiento y aumento resistencia frente a *Vibrio* spp.

Retos en el uso de probióticos para acuicultura

- Ensayos en los que la administración del probiótico no ha dado lugar a **ningún resultado**
- Resultados son **poco reproducibles**. Posibles causas:
 - Diferencias en el régimen de alimentación
 - Diferencias en las dietas basales
 - Diferencias en el estado fisiológico del animal
 - Diferencias en las condiciones de cultivo
 - Interacciones probiótico-microbiota

PRINCIPAL RETO: buscar probióticos capaces de ejercer su acción en diferentes especies, condiciones de cultivo y etapas vitales

PROBIÓTICO VERSÁTIL

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de selección

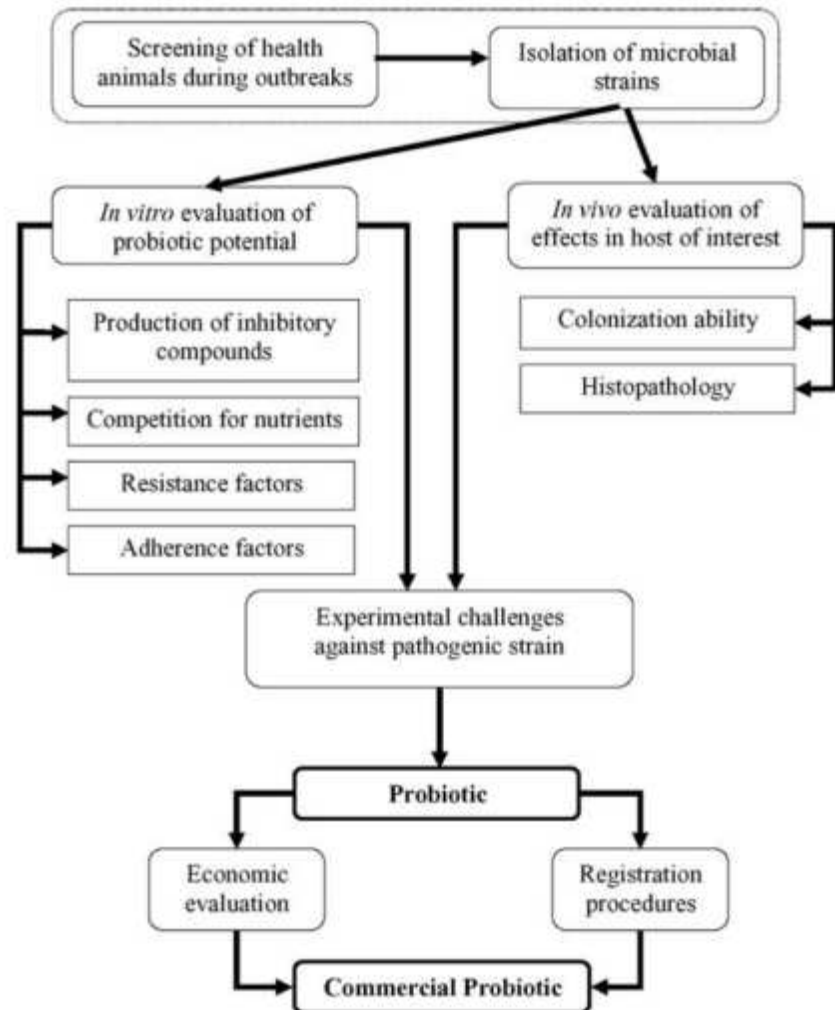
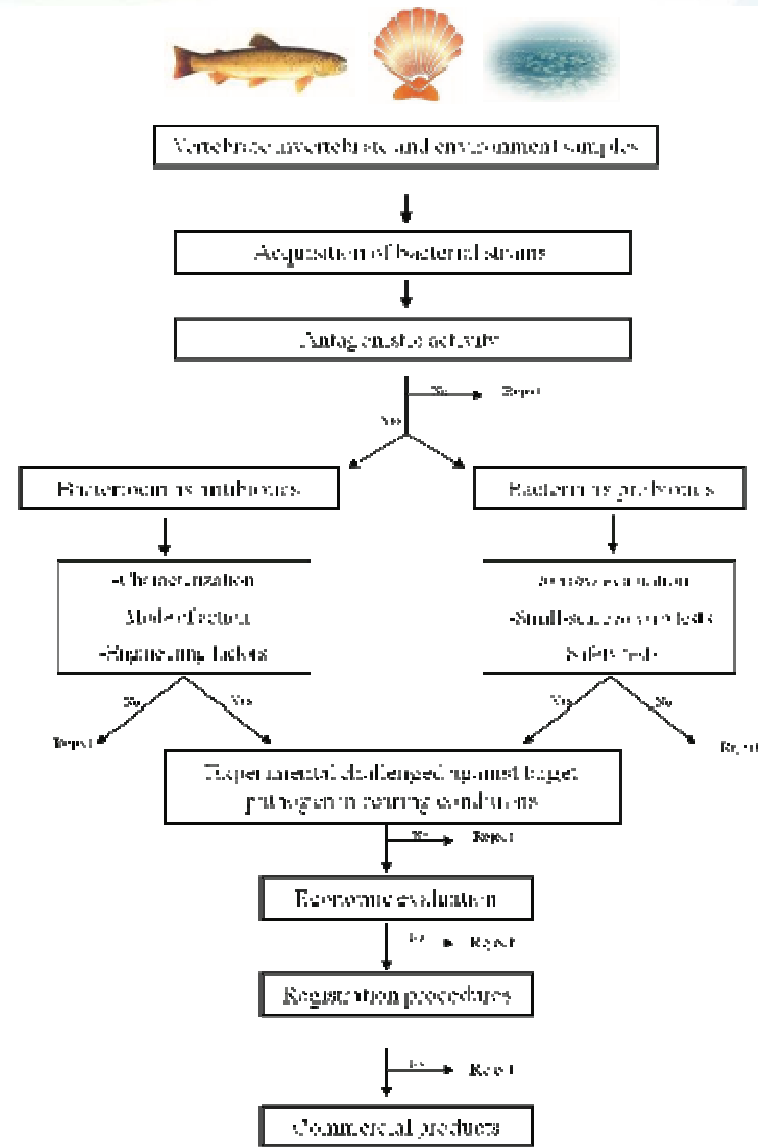


Fig. 1. Diagram for selection of probiotics as biocontrol agents in aquaculture.

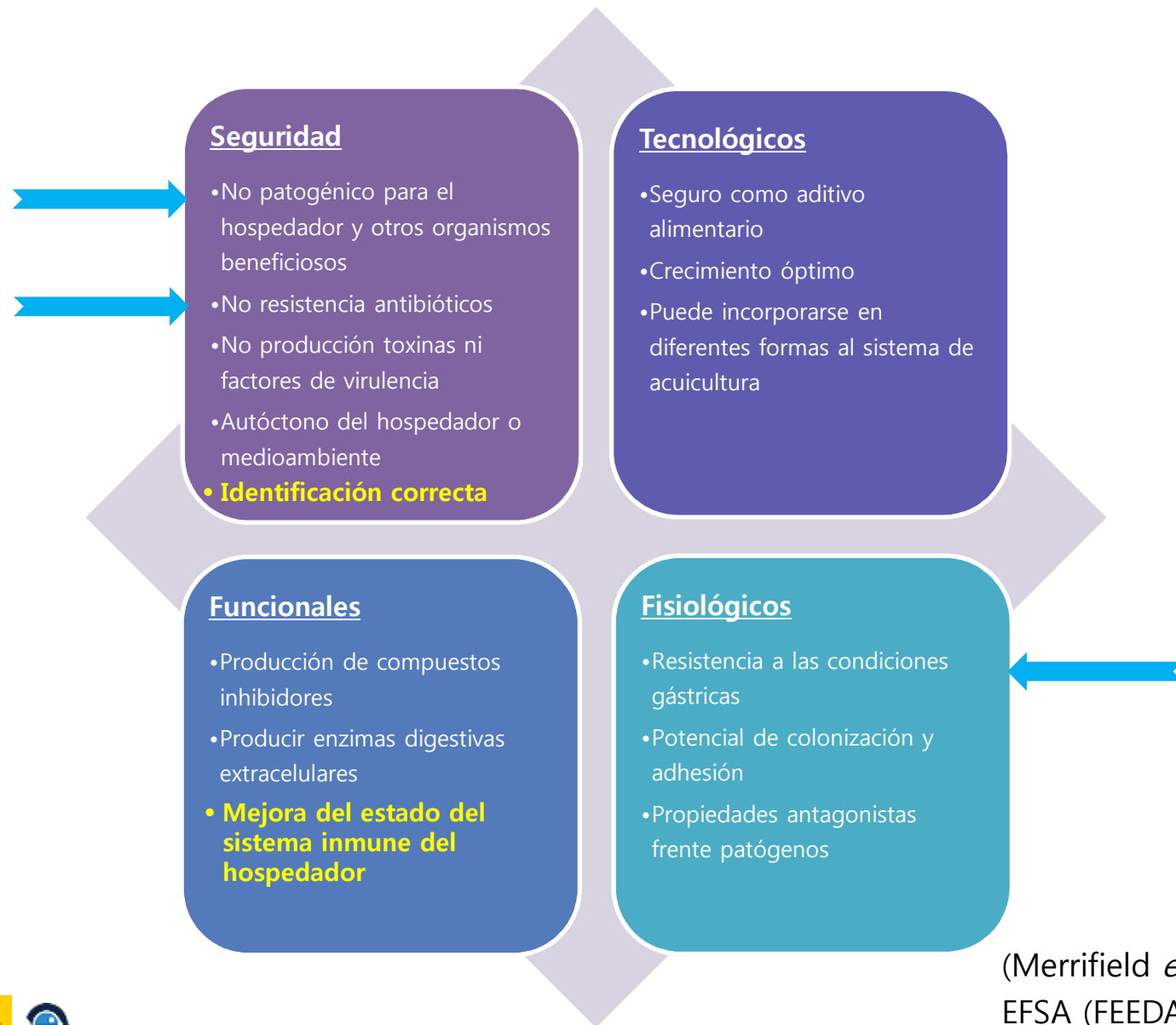


(Desriac et al., 2010)

Criterios de selección



CRITERIOS DE SELECCIÓN: recopilación de información disponible



(Merrifield *et al.*, 2010)
EFSA (FEEDAP)

Criterios de selección: Aislamiento de microorganismos

- Fuentes de microorganismos:
 - MEDIOAMBIENTE MARINO
 - MISMA ESPECIE ANIMAL
 - OTRO ORIGEN



- Condiciones de cultivo:
 - MEDIOS DE CULTIVO
 - TEMPERATURA
 - ETC ...



Criterios de selección: Aislamiento de microorganismos



TSA + 1,5% NaCl



198 colonias



1 – 7 días 25-30°C aerobiosis



MRS + 1,5% NaCl



242 colonias

Criterios de selección: Ensayos *in vitro*

**Antagonismo
frente a
patógenos**

**Resistencia al
paso por el TGI**

**Aspectos
tecnológicos**

**Crecimiento y
adhesión al
mucus**

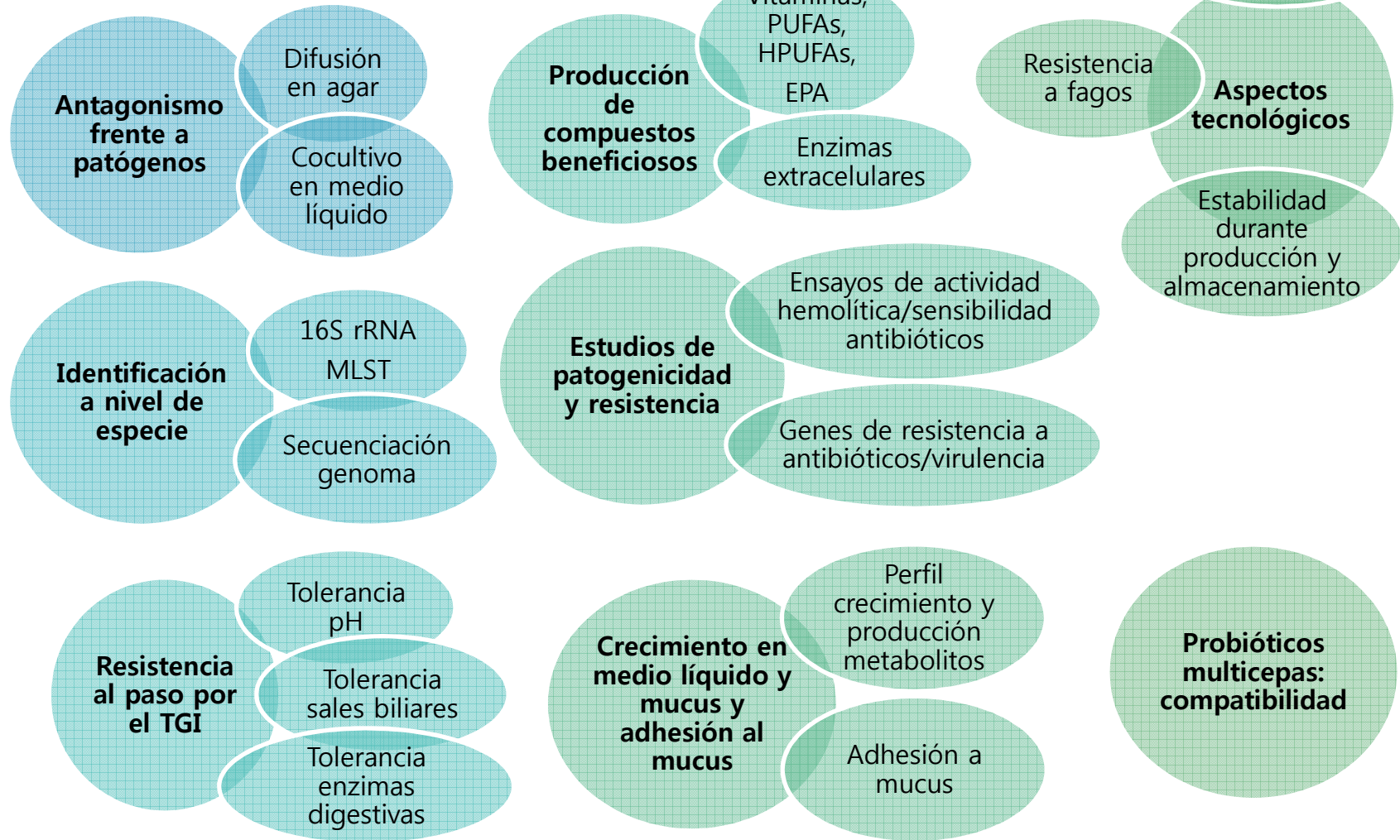
**Estudios de
patogenicidad y
resistencia**

**Probióticos
multicepas:
compatibilidad**

**Producción de
compuestos
beneficiosos**

**Identificación a
nivel de especie**

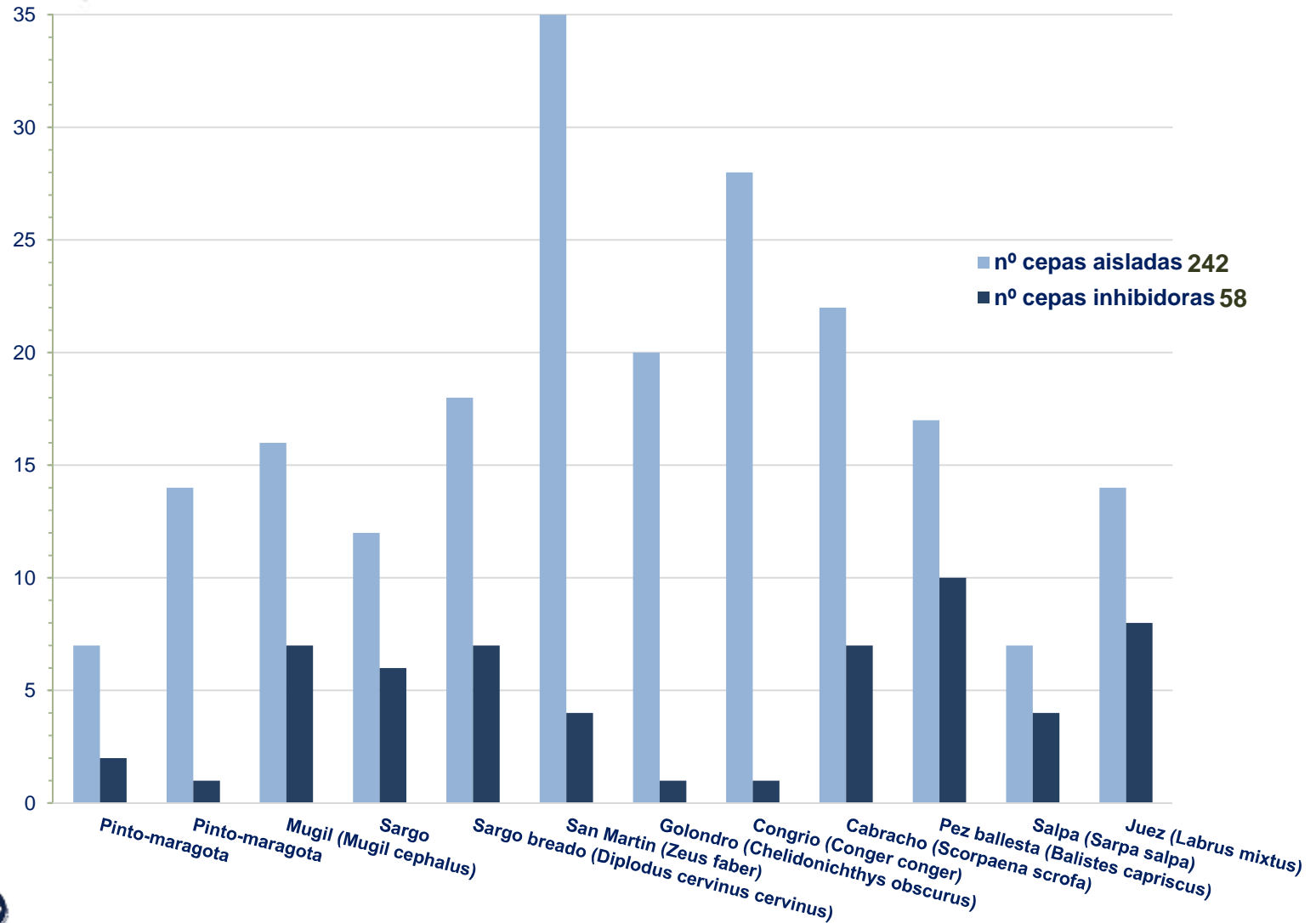
Criterios de selección: Ensayos *in vitro*





Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

Sergio Alonso¹ · M. Carmen Castro¹ · Margarita Berdasco¹ · Inés García de la Banda² · Xabier Moreno-Ventas¹ · Alma Hernández de Rojas¹



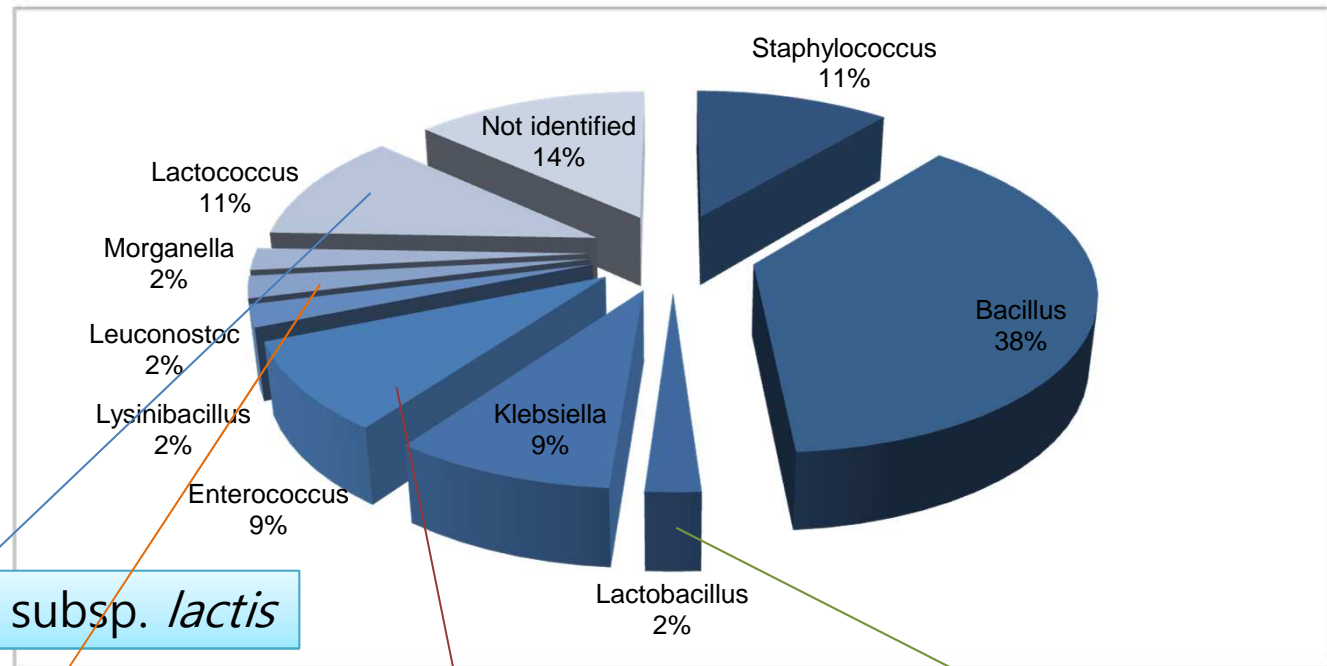


Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

Sergio Alonso¹ · M. Carmen Castro¹ · Margarita Berdasco¹ · Inés García de la Banda² · Xabier Moreno-Ventas¹ · Alma Hernández de Rojas¹



Fig. 3 Taxonomic groups of strains with antimicrobial potential identified by partial 16S rRNA gene sequencing



Lactococcus lactis subsp. *lactis*

Leuconostoc mesenteroides

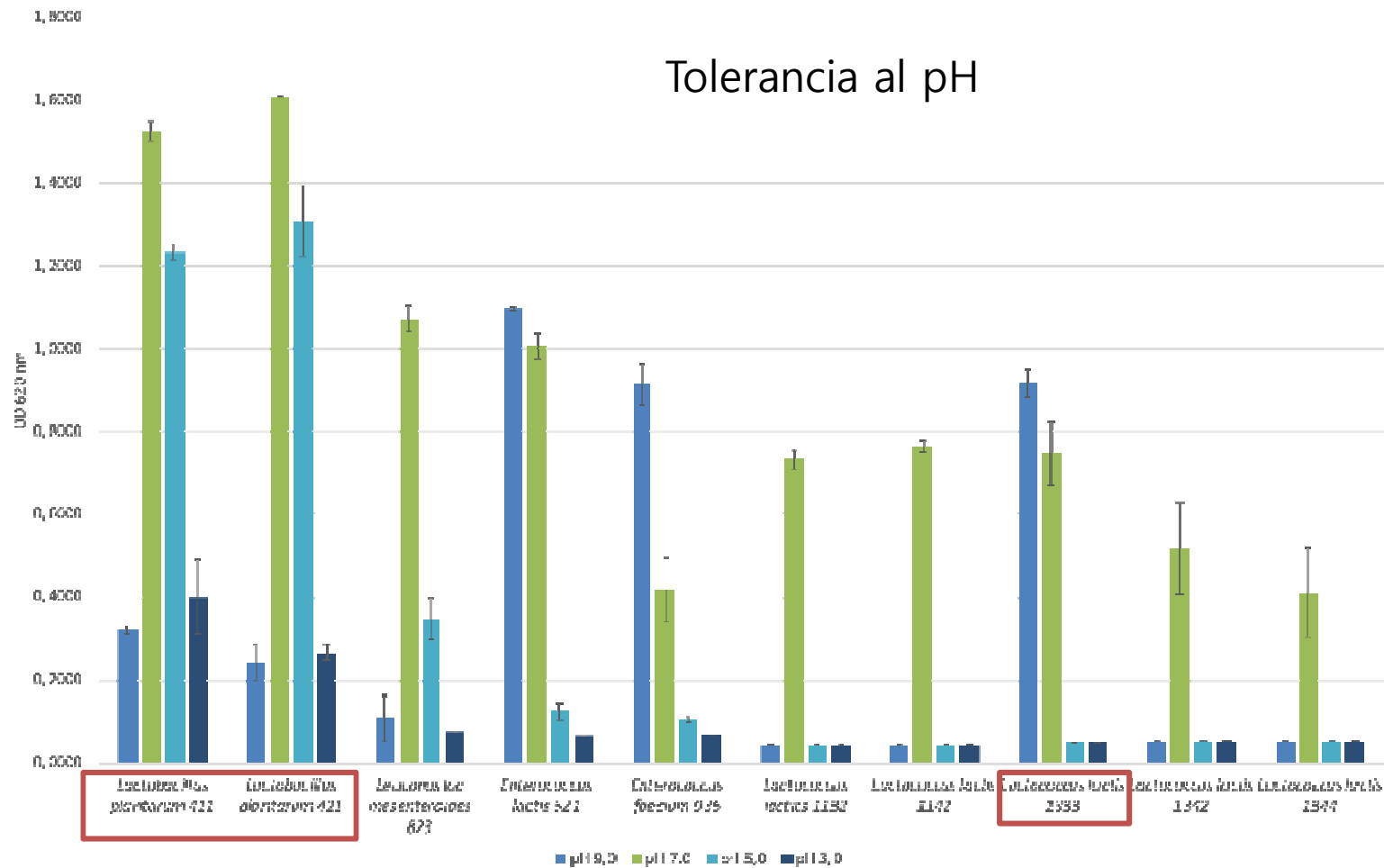
Enterococcus faecium

Lactobacillus plantarum



Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

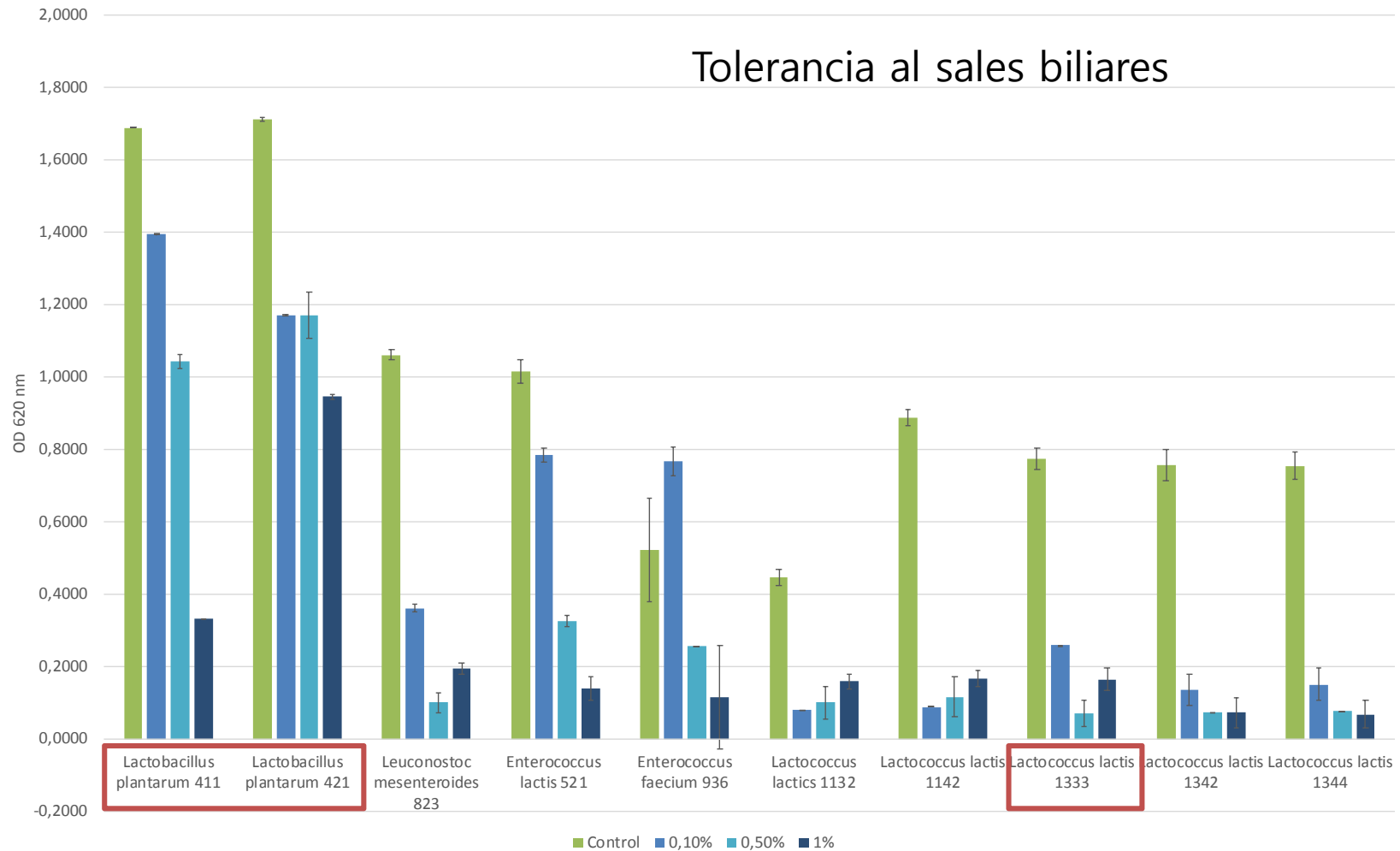
Sergio Alonso¹ · M. Carmen Castro¹ · Margarita Berdasco¹ · Inés García de la Banda² · Xabier Moreno-Ventas¹ · Alma Hernández de Rojas¹





Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

Sergio Alonso¹ · M. Carmen Castro¹ · Margarita Berdasco¹ · Inés García de la Banda² · Xabier Moreno-Ventas¹ · Alma Hernández de Rojas¹

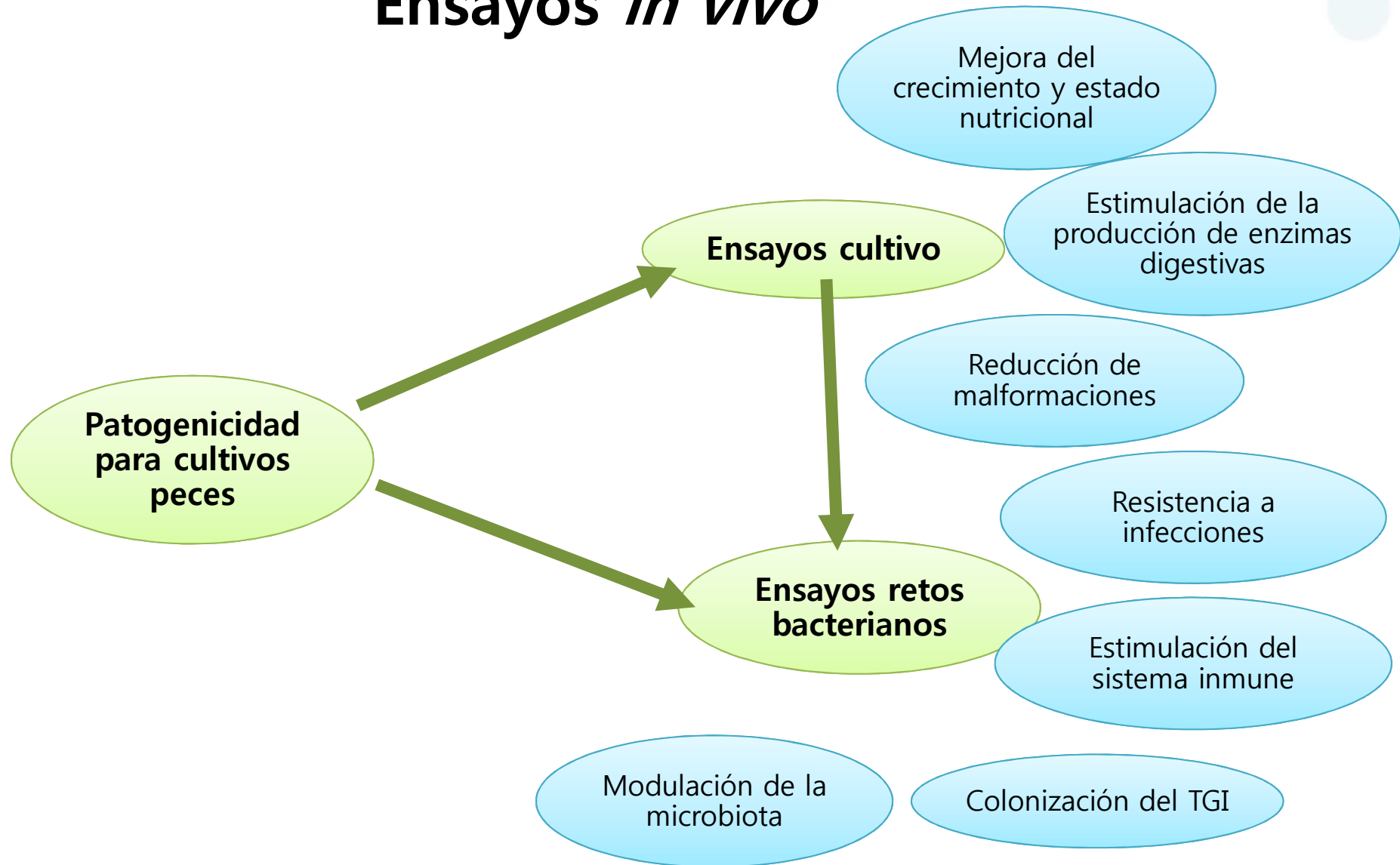


Criterios de selección: Ensayos *in vivo*

Patogenicidad
para cultivos
auxiliares



Criterios de selección: Ensayos *in vivo*



Criterios de selección: Estudio económico de viabilidad y Autorización y comercialización



Retos en el uso de probióticos para acuicultura

PRINCIPAL RETO: buscar probióticos capaces de ejercer su acción en diferentes especies, condiciones de cultivo y etapas vitales

PROBIÓTICO VERSÁTIL

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE ADMINISTRACIÓN

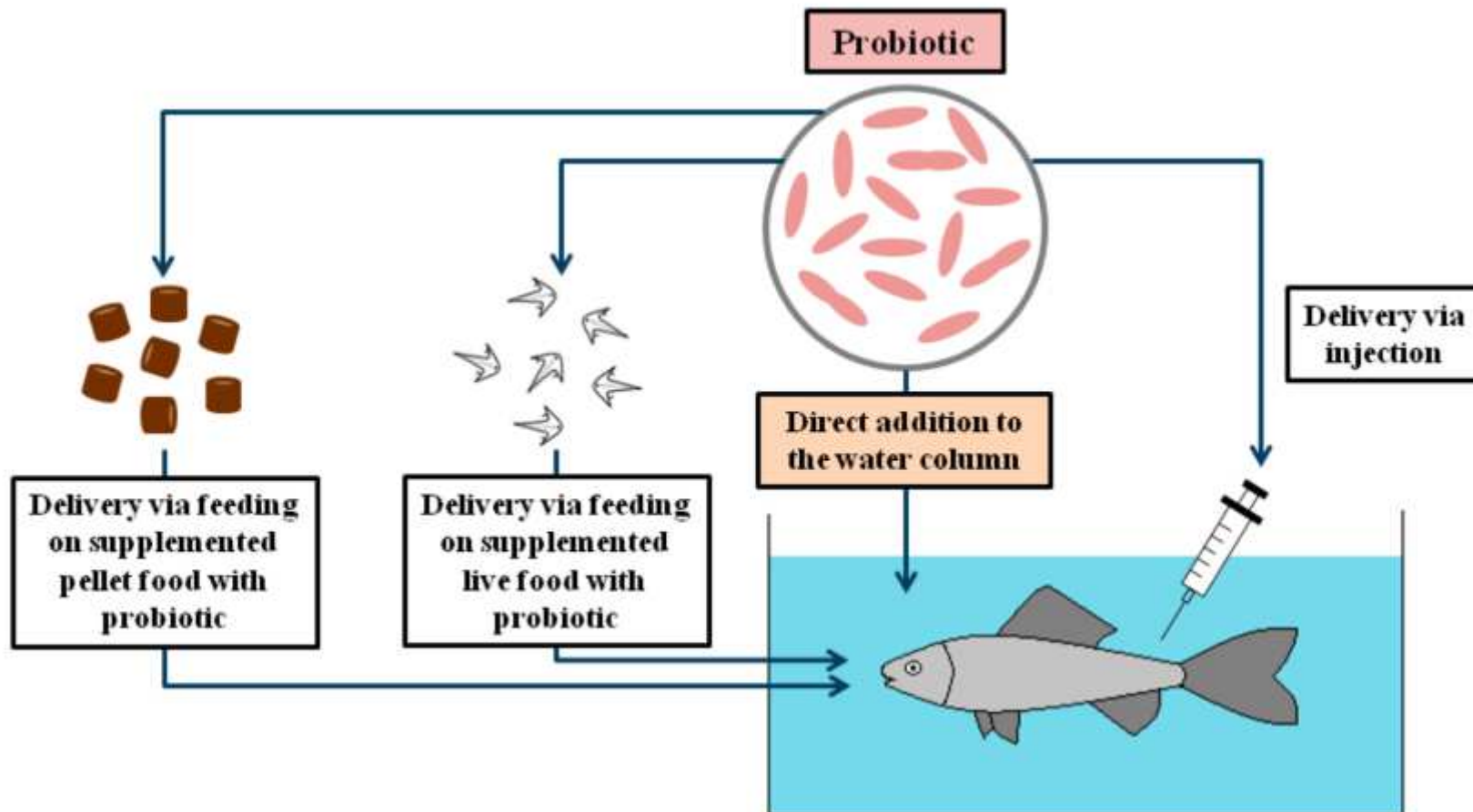
CRITERIOS DE ADMINISTRACIÓN

¿Dónde y Cómo?

¿Cuándo?

¿Cuánto?

Crterios de administracin: ¿dnde y cmo?



(Jahangiri and Esteban, 2018)

Criterios de administración: ¿dónde y cómo?

ALGAS UNICELULARES:

- ✓ Aumentan el rendimiento de la producción de algas.

BIOENCAPSULADOS: ROTÍFEROS Y ARTEMIA:

- ✓ Contribuyen nutricionalmente
- ✓ Eliminan carga microbiana de *Vibrio* spp.

ALIMENTO SECO:

- ✓ Con aglutinante (alginato o aceite)
- ✓ Encapsulados

TIPO DE FORMULACIÓN:

- **Secos**
- **Líquidos**

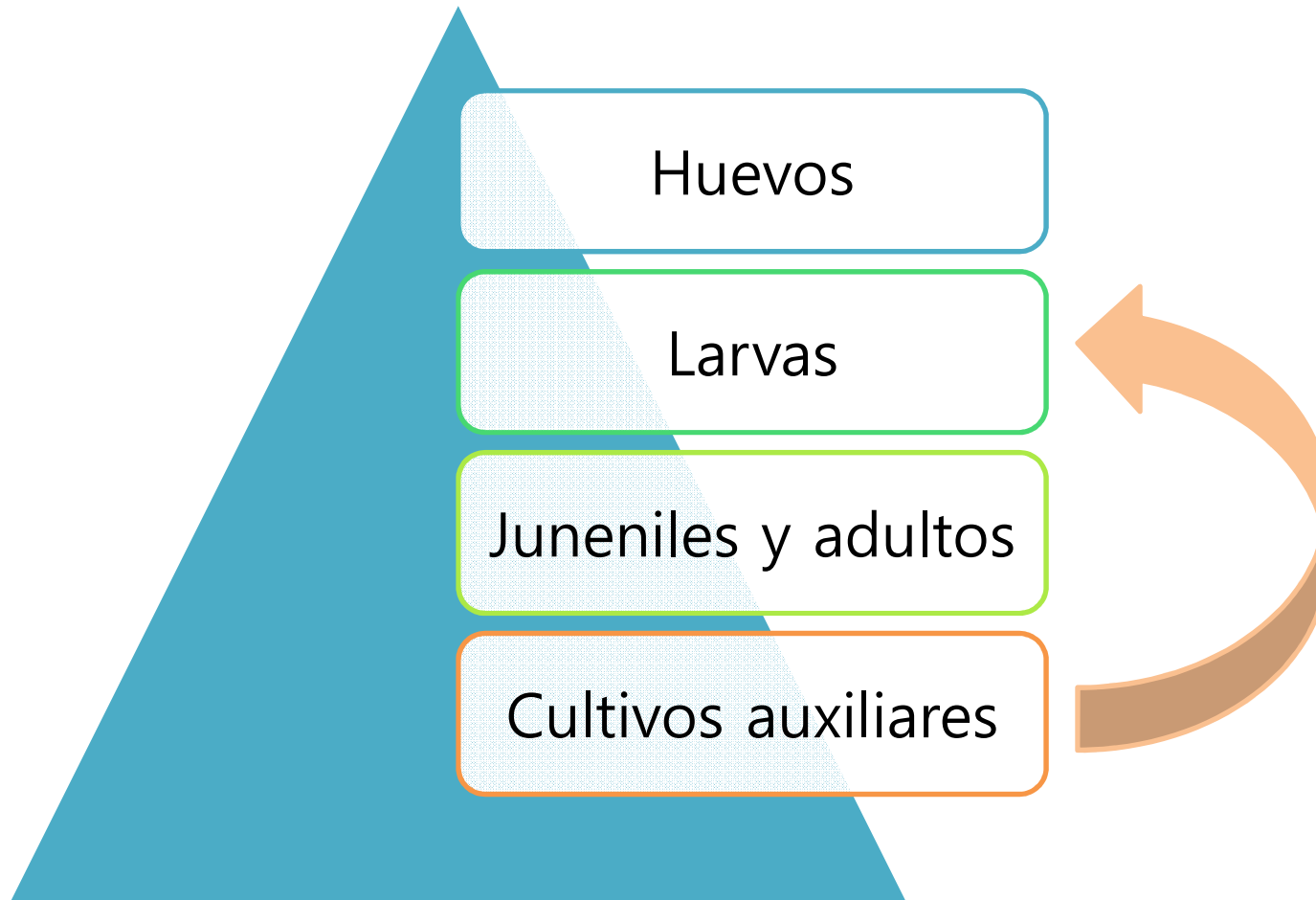
CANTIDAD DE CEPAS/MICROORGANISMOS:

- **Monocepa**
- **Multicepas/multiorganismos**

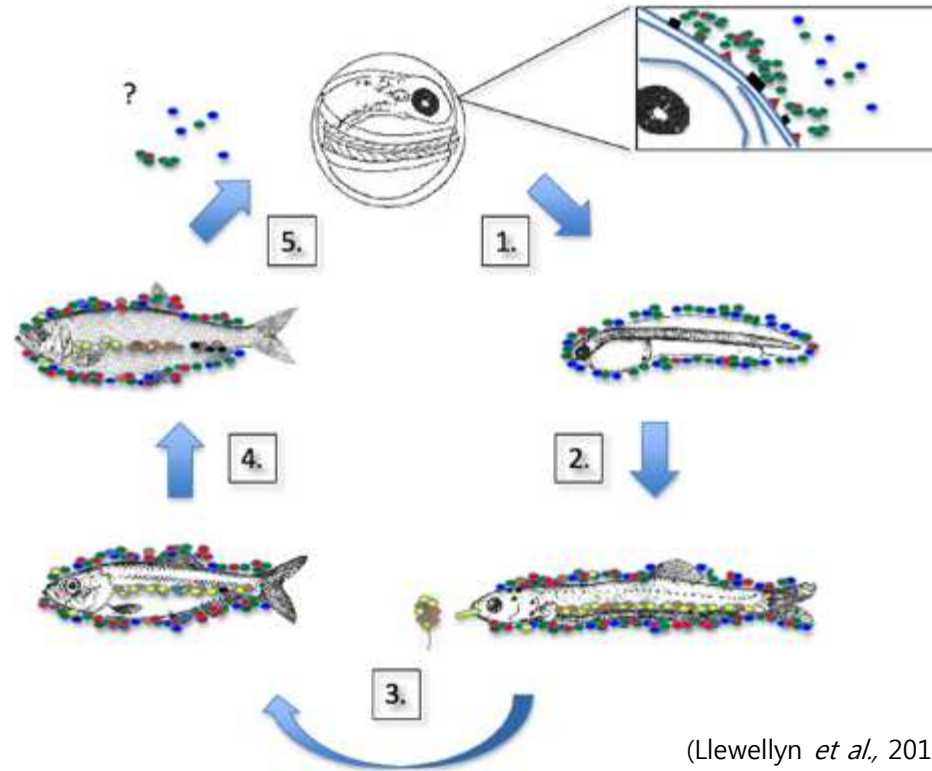
ESTADO DEL PROBIÓTICO:

- **Vivo**
- **Inerte**

Criterios de administración: ¿cuándo?



Criterios de administración: ¿cuándo?



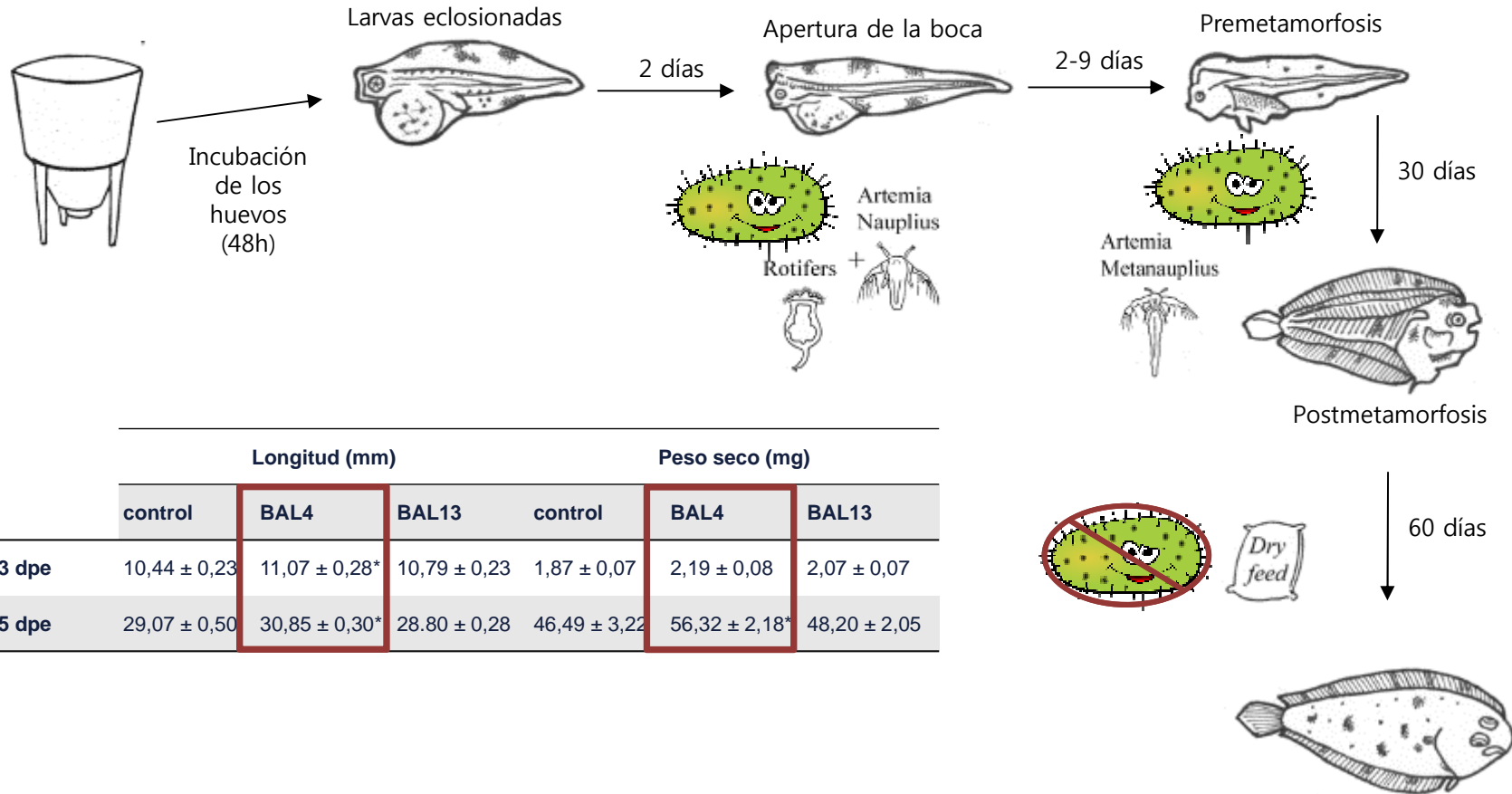
(Llewellyn *et al.*, 2014)

Administración temprana:

- El sistema inmune no está desarrollado
- Se evita/reduce la proliferación de microorganismos oportunistas (que están presentes sobre todo en el alimento vivo)

Aplicación *in vivo* de las BAL en larvas de *Solea senegalensis*

Cultivo larvario



	Longitud (mm)			Peso seco (mg)		
	control	BAL4	BAL13	control	BAL4	BAL13
23 dpe	10,44 ± 0,23	11,07 ± 0,28*	10,79 ± 0,23	1,87 ± 0,07	2,19 ± 0,08	2,07 ± 0,07
55 dpe	29,07 ± 0,50	30,85 ± 0,30*	28,80 ± 0,28	46,49 ± 3,22	56,32 ± 2,18*	48,20 ± 2,05

Criterios de administración: ¿cuánto?

La **dosis y frecuencia** depende de diversos **factores**:

- Especie/cepa de microorganismo probiótico
- Especie del hospedador
- Estado fisiológico del hospedador
- Condiciones del cultivo
- Objeto de aplicación de la cepa:
 - ✓ Mantenimiento del buen estado de salud
 - ✓ Resistencia a enfermedades
 - ✓ Mejora del estado nutricional

La relación dosis/efecto debe ser determinada cuidadosamente para evitar:

- **SOBREDOSIS**: que da lugar a un menor efecto y aumento del coste
- **INFRADOSIS**: que reduce la eficacia del probiótico

EN RESUMEN

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE ADMINISTRACIÓN

Recolección de información

Necesariamente hay que estudiar:

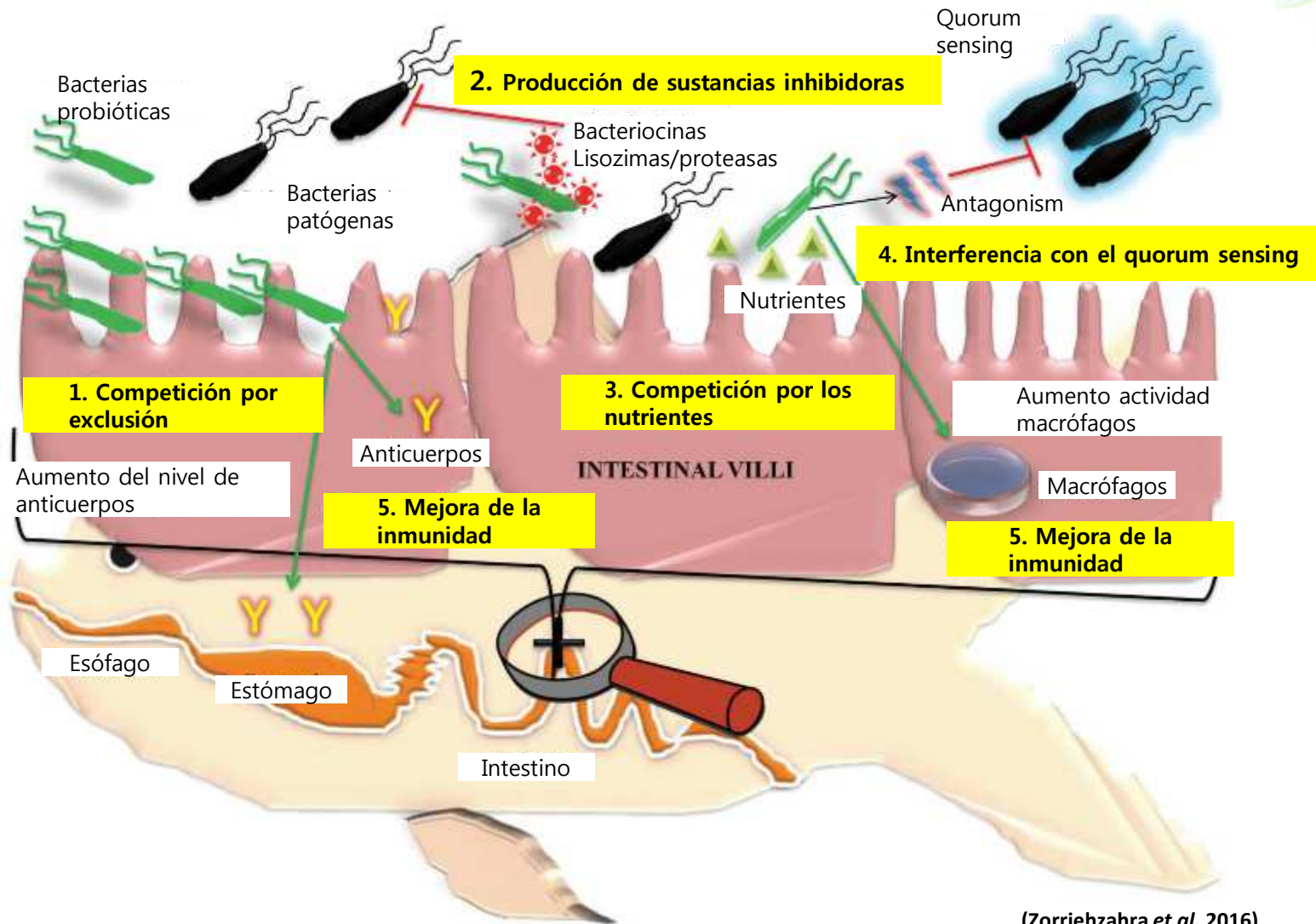
- **MODO DE ACCIÓN DE LOS PROBIOTICOS**
- **MICROBIOMA DE LOS HOSPEDADORES**

Estudio económico de viabilidad

Aprobación y comercialización

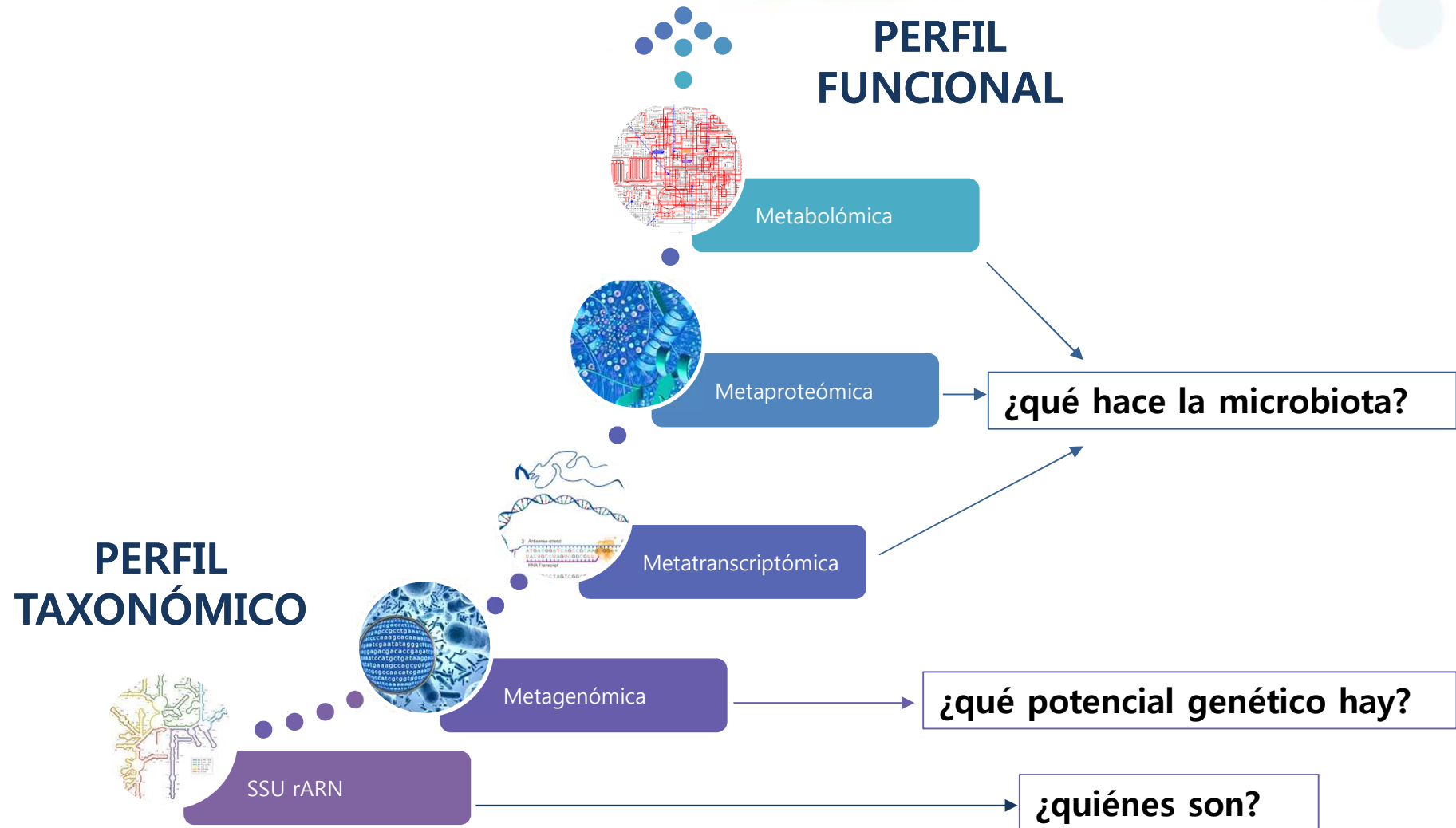
¿Cuánto?

Estudio del modo de acción



(Zorriehzahra *et al.* 2016)

Estudio de la microbiota

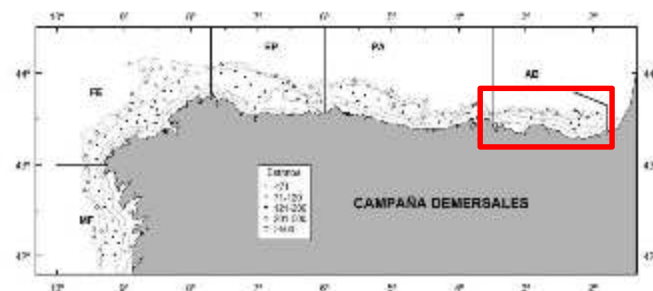


ESTUDIO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE *Solea solea* SALVAJE

María del Mar Gómez García

24 de Julio de 2018

Máster en Biotecnología Aplicada a la Conservación y Gestión Sostenible de Recursos Acuáticos
 Trabajo Fin de Máster

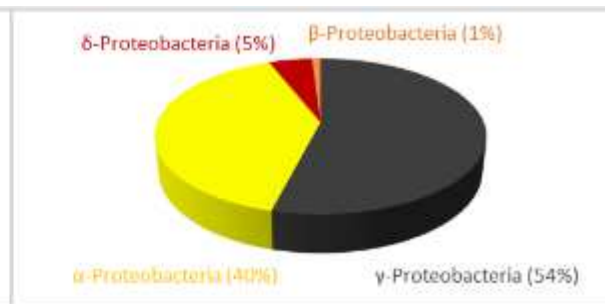
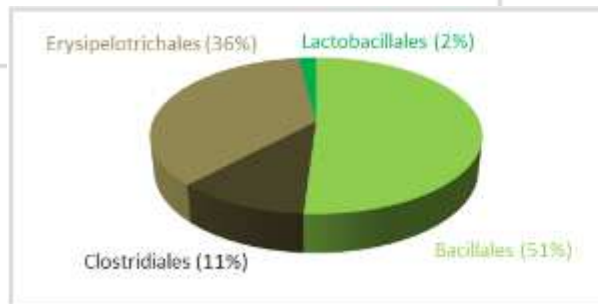
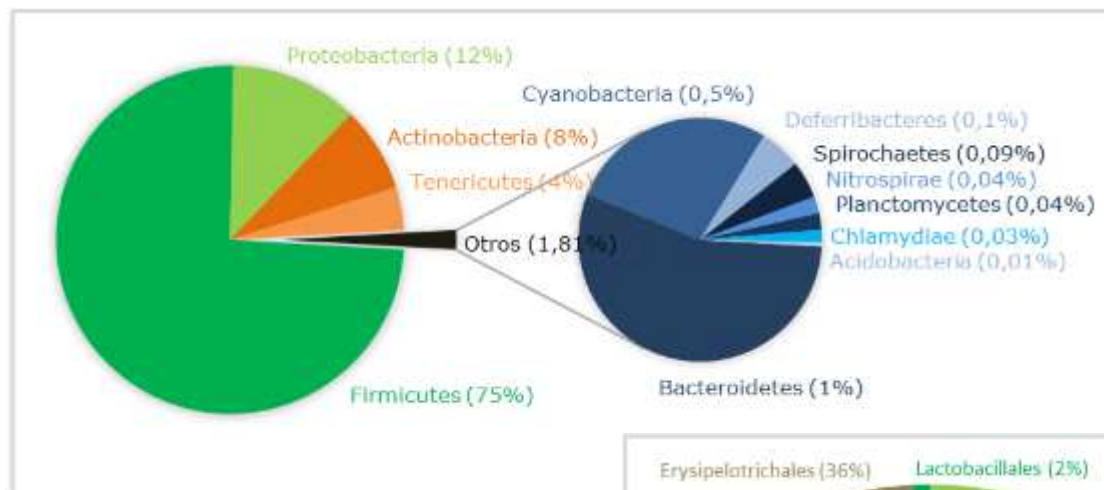


CO DEMERSALES 2017

- B/O Miguel Oliver
- 04/10/2017 – 23/10/2017
- Estaca de Bares - Bidasoa
- 70-100 m de profundidad



ABUNDANCIA RELATIVA DE LOS GRUPOS TAXONOMICOS IDENTIFICADOS





Gracias por su atención

