



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



“Búsqueda de nuevas fuentes no convencionales de proteínas para la acuicultura”.

Dr. Roberto Abdala Díaz

**CETMAR. VIGO.
26 de Septiembre de 2019**

Producción mundial de pescado

Pesca y Acuicultura Mundial al 2015

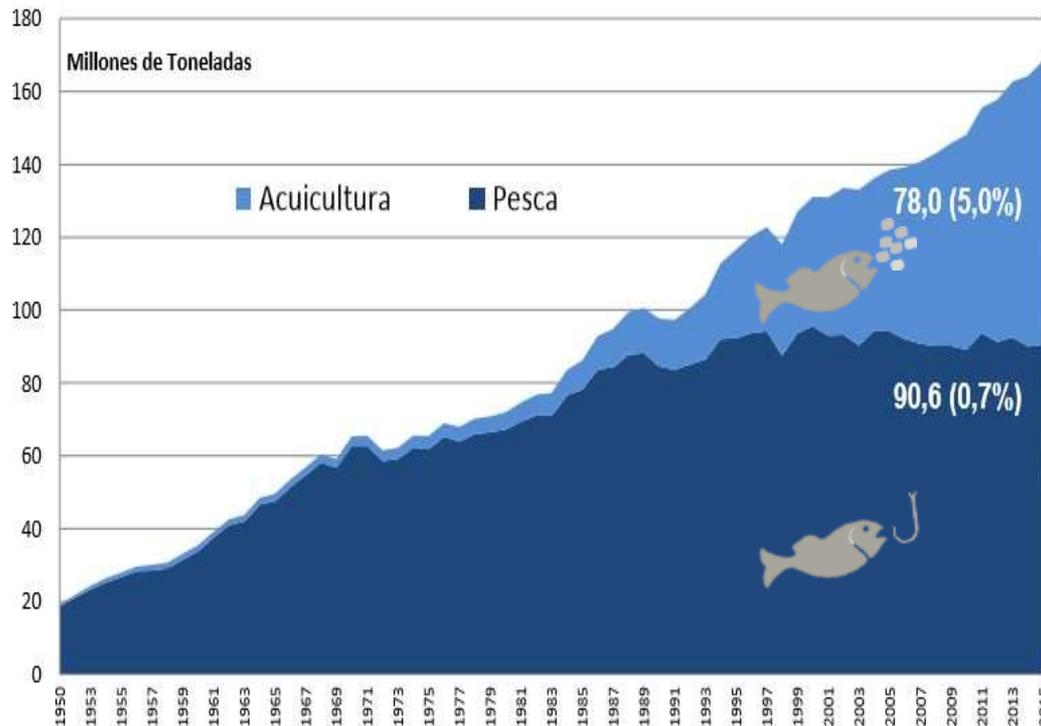


TABLE 1

WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE PRODUCTION

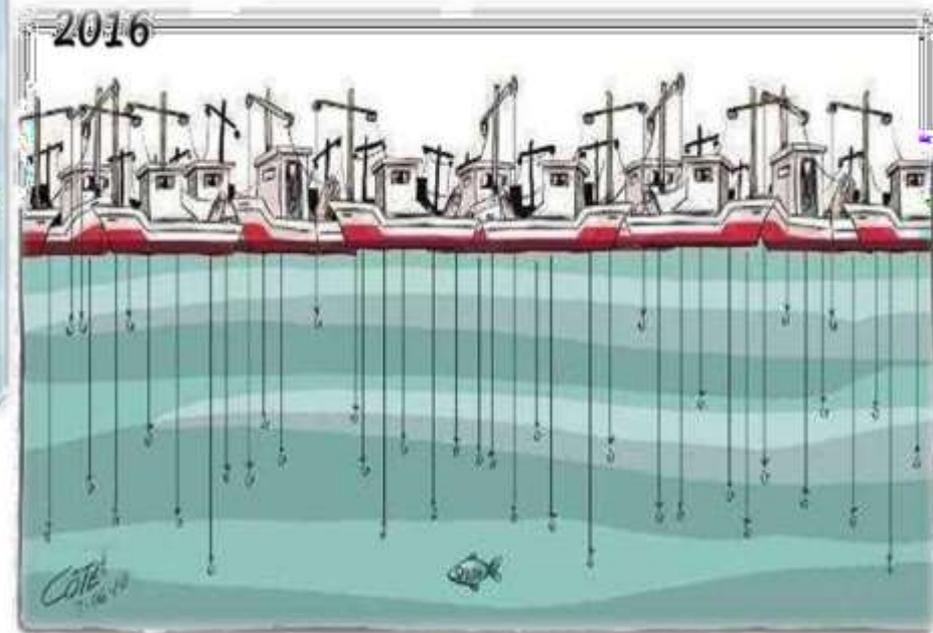
(Million tonnes)

	2009	2010	2011	2012	2013	2014
PRODUCTION						
Capture						
Inland	10.5	11.3	11.1	11.6	11.7	11.9
Marine	79.7	77.9	82.6	79.7	81.0	81.5
Total capture	90.2	89.1	93.7	91.3	92.7	93.4
Aquaculture						
Inland	34.3	36.9	38.6	42.0	44.8	47.1
Marine	21.4	22.1	23.2	24.4	25.5	26.7
Total aquaculture	55.7	59.0	61.8	66.5	70.3	73.8
TOTAL	145.9	148.1	155.5	157.8	162.9	167.2

Elaborado en función datos
FAO 2016

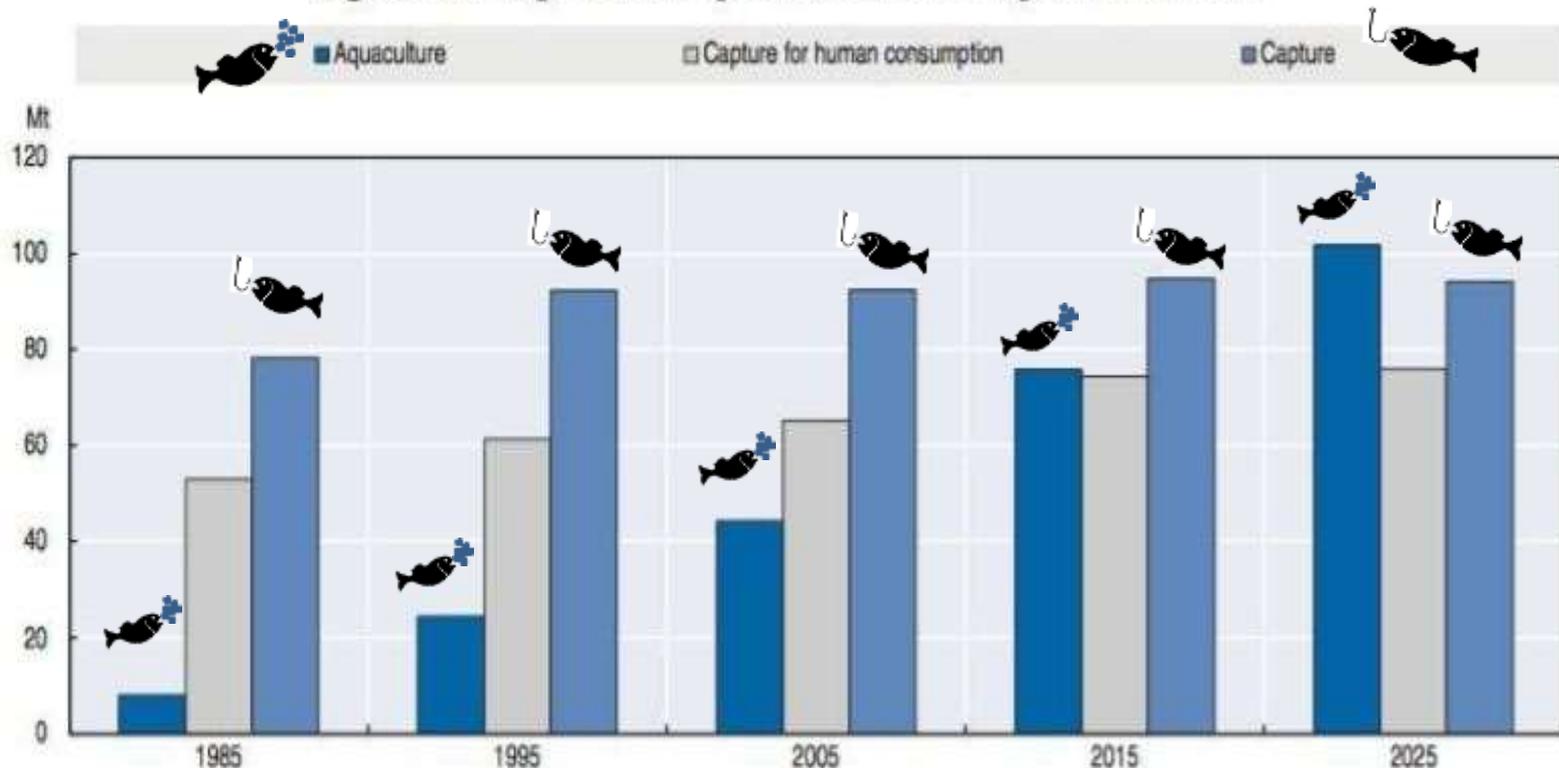
- La acuicultura supone casi el 50 % de la producción total
- Europa está en torno al 5 % de la producción acuícola mundial
- España supone aproximadamente el 10 % producción acuícola de Europa (mejillón) por detrás de Noruega que supone el 40 % (Salmón)

Variación en la producción de pescado a lo largo del tiempo



Expectativas al 2025

Figure 3.6. Aquaculture production and capture fisheries



Note: "Capture for human consumption refers" to the Capture production excluding ornamental fish, fish destined to the production of fishmeal, fish oil and other non-food uses. All aquaculture production is assumed to be destined to human consumption.

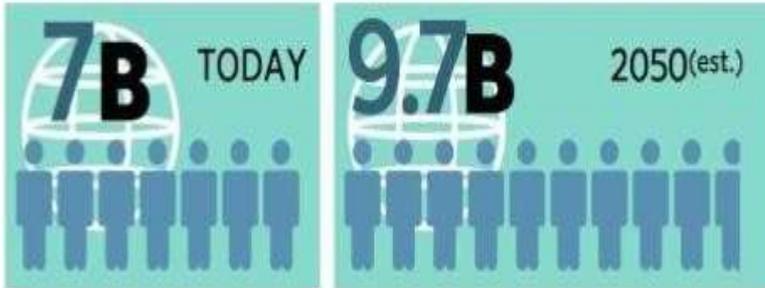
Source: OECD/FAO (2016), "OECD-FAO Agricultural Outlook", OECD Agriculture statistics (database), <http://dx.doi.org/10.1787/agr-data-en>.

StatLink  <http://dx.doi.org/10.1787/888933381641>

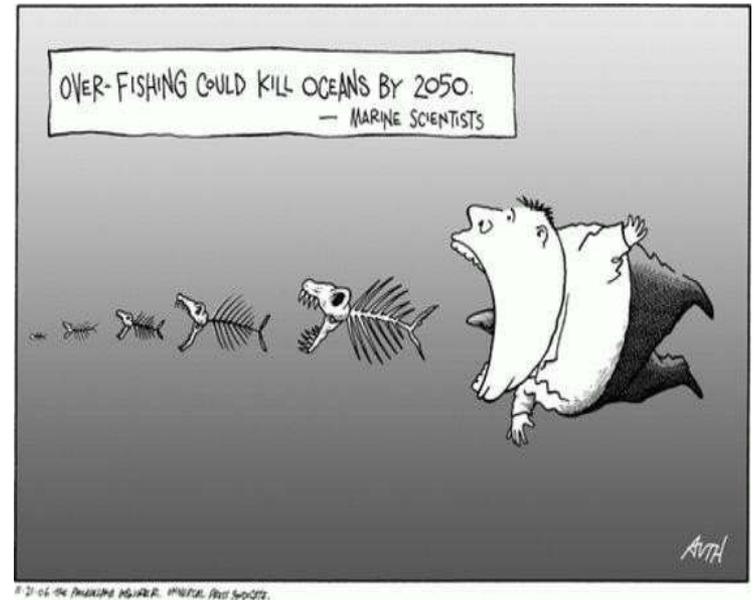
Según FAO: Las previsiones anuncian que la producción pesquera mundial podría alcanzar los 195 Mt en el 2025...

Expectativas al 2050

World population



Rising demand for fish and seafood products

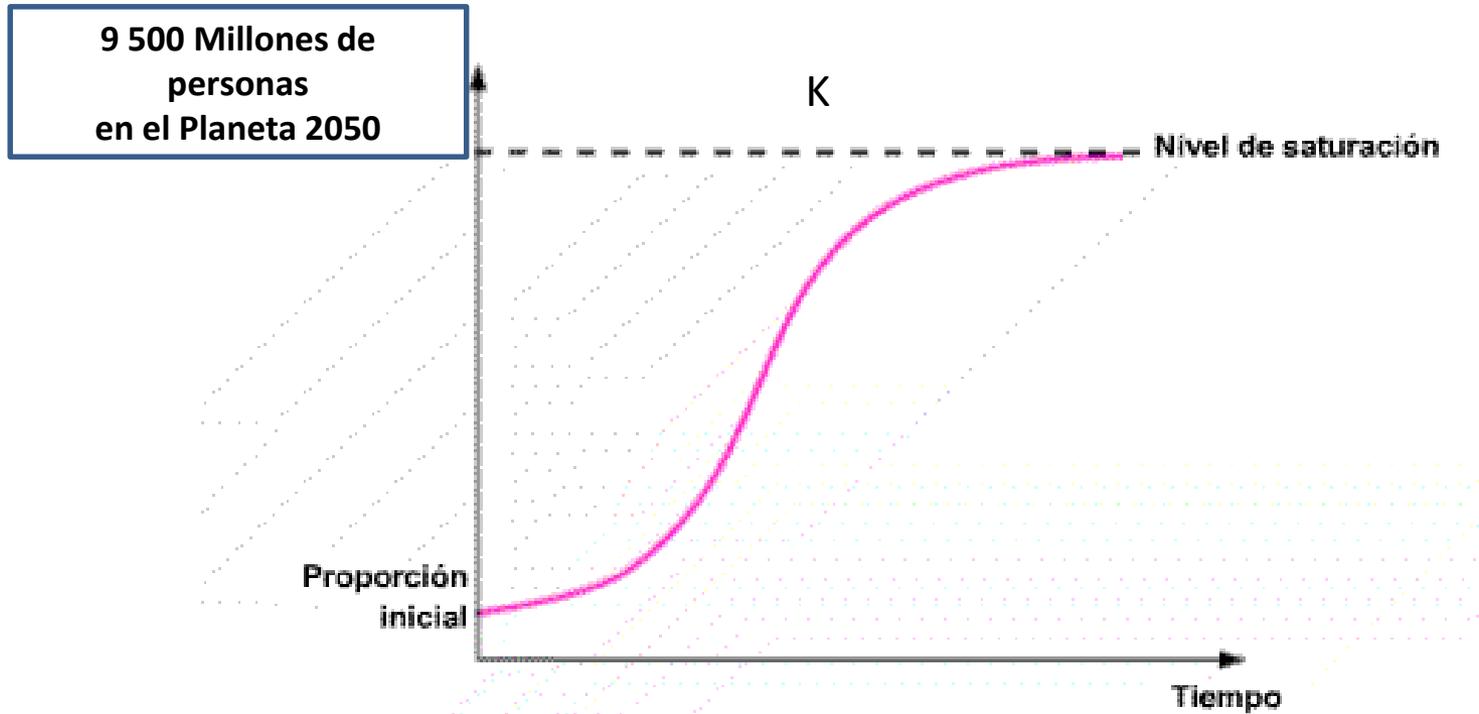


Con una demanda creciente de productos pesqueros, la acuicultura tendría un papel clave para satisfacerla en el futuro...



**CONTRIBUCIÓN A LA ALIMENTACIÓN
CON PROTEÍNAS ANIMALES
VALIOSAS**

La Curva Logística



LA POBLACIÓN MUNDIAL



Año	Ha/persona
1950	0,52
2010	0,20
2050	0,15

La acuicultura. Sostenibilidad

2. Impacto ambiental de la producción de harina de pescado

Biomasa peces > Biomasa harina de pescado

Necesidad de pesca para su fabricación



BÚSQUEDA DE FUENTES NO CONVENCIONALES DE PROTEÍNA



Contaminación de las fábricas de harina de pescado

Según la FAO, la contaminación de una planta de harina de pescado equivale a la contaminación que generan los residuos provenientes de una población de 1.000.000 de personas.

La acuicultura. Sostenibilidad

Búsqueda de fuentes no convencionales de proteínas

Características:

Sostenible	Harina de soja
Renovable	Harina de arroz
Disponible	Harina de maíz

Compiten con el consumo humano
Efectos negativos en el pez

Nueva alternativa: las algas

Rápido crecimiento

No compiten con consumo humano

Bajo coste de producción. Posibilidad de crecer en efluentes



La acuicultura. Sostenibilidad

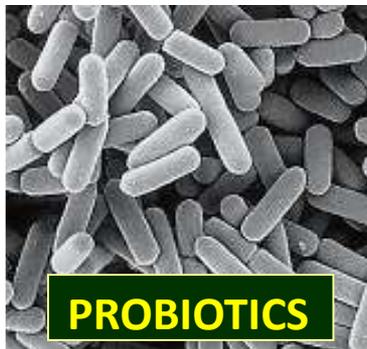
Sustitución harinas de pescado en la acuicultura supondría:

- El desarrollo acuicultura no se obstaculizase por limitaciones harinas de pescado y precios
- No causaría presión excesiva sobre poblaciones de pequeños pelágicos.





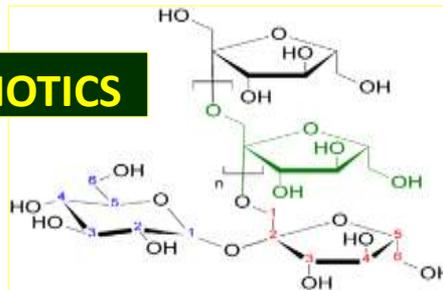
Development of functional feed for fish



**FUNCTIONAL
FEED**



PREBIOTICS



SYNBIOTICS



Development of functional feed for fish



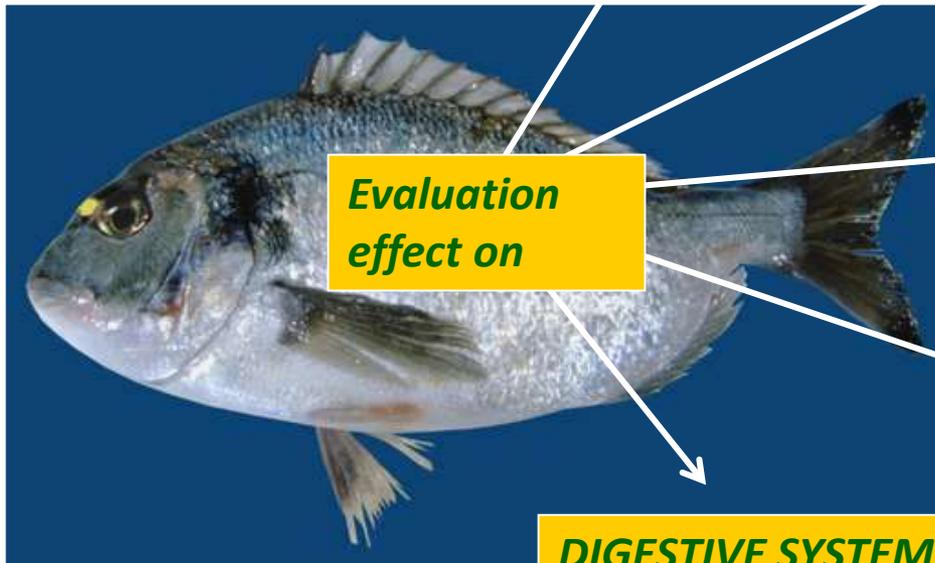
INFLUENCE OF FUNCTIONAL FEED ON HOST

GROWTH

IMMUNE SYSTEM

**FATTY ACIDS
PATTERNS**

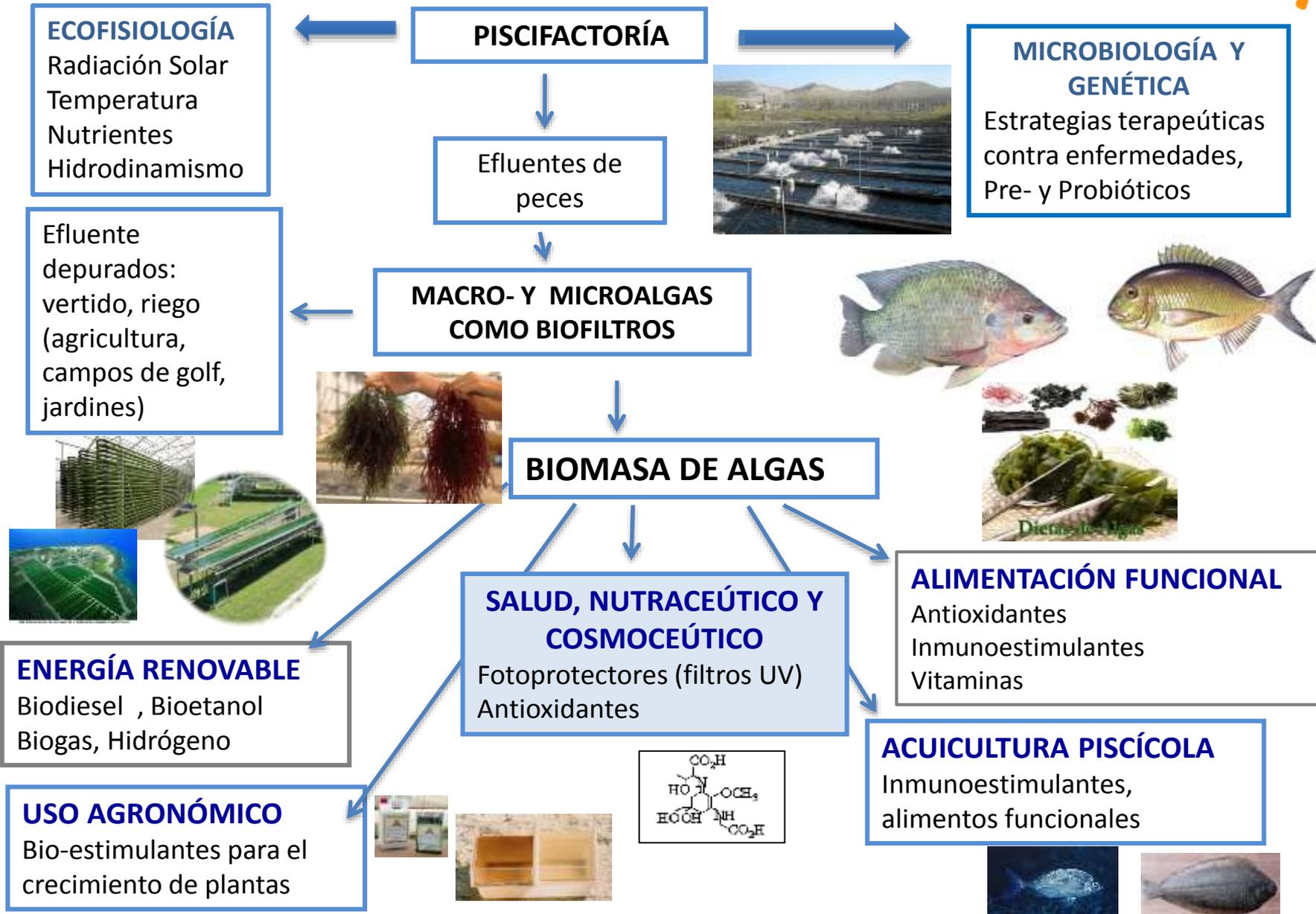
**METABOLIC
MARKERS**



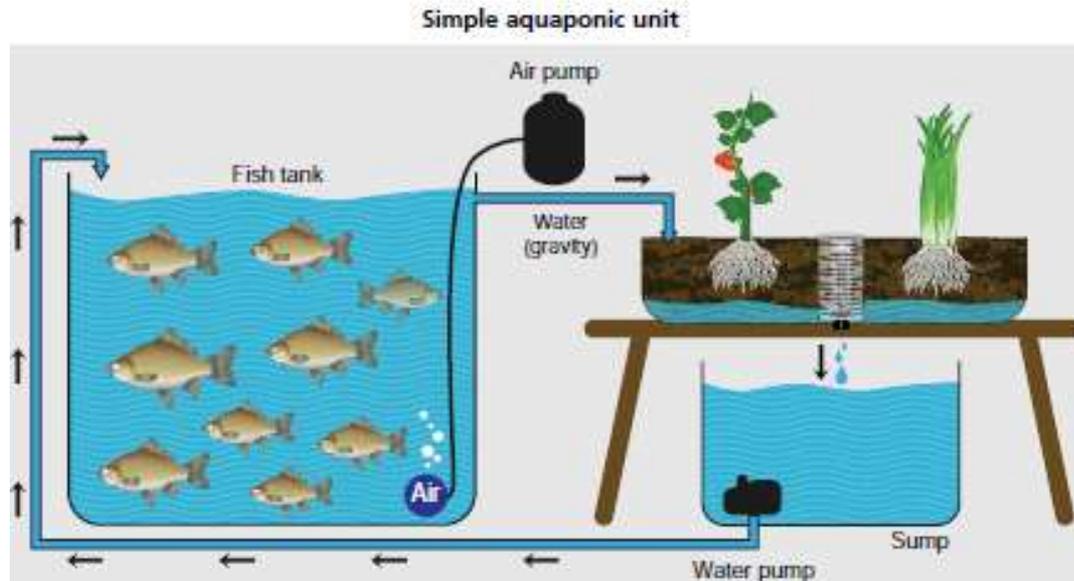
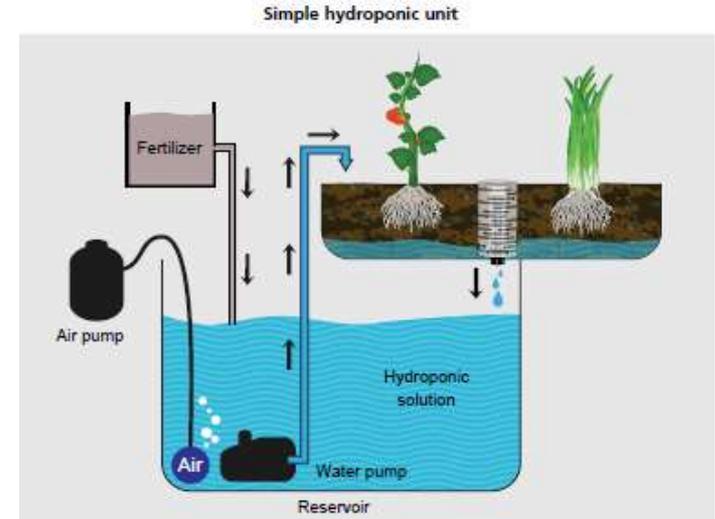
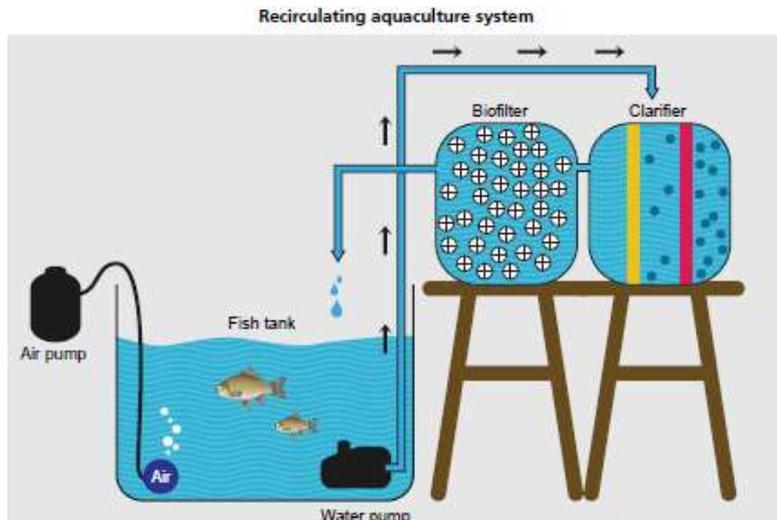
**Evaluation
effect on**

DIGESTIVE SYSTEM

BIOMASA DE ALGAS: BIOFILTROS Y FUENTE DE SUSTANCIAS DE INTERÉS ALIMENTARIO, AGRONÓMICO, ACUÍCOLA, COSMÉTICO Y ENERGÉTICO



LA ACUAPONÍA COMO ALTERNATIVA PARA UNA PRODUCCIÓN ACUÍCOLA Y AGRÍCOLA MÁS SOSTENIBLE



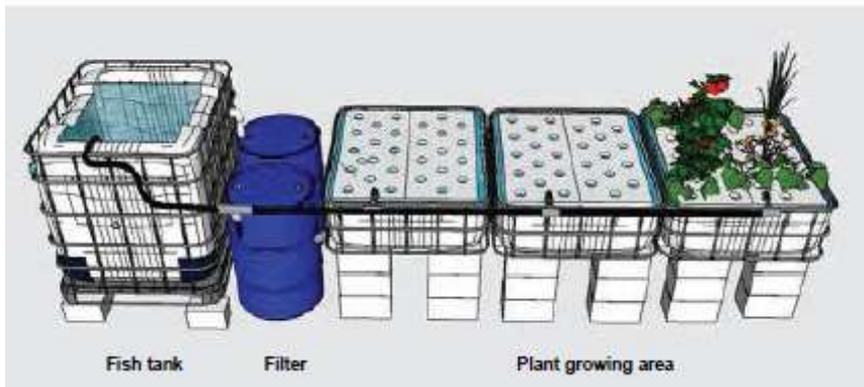
Ventajas

- Disminuye el consumo de agua
- Minimiza el vertido de desechos
- Valorización de los residuos
- Mayor control sobre patógenos: menor uso de antimicrobianos
- Apto para producción a pequeña y mediana escala
- Realizable mediante criterios de producción ecológica

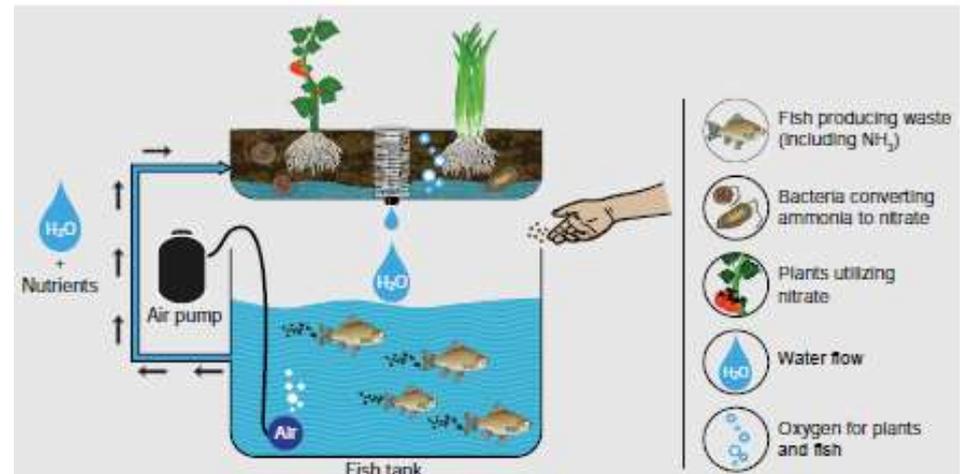
Desventajas

- Consumo energético de las instalaciones
- Mantenimiento complejo e intensivo
- Difícil llevar a gran escala

Illustration of a small deep water culture unit using standalone filtration

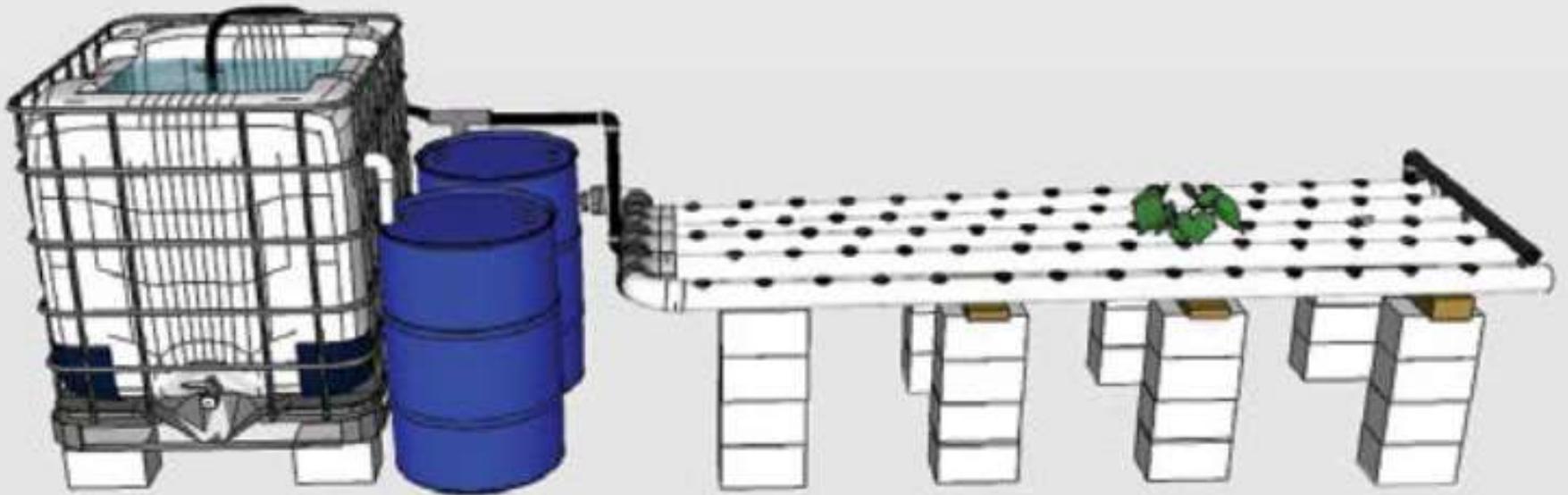


The biological components in the aquaponic process: fish, plants and bacteria

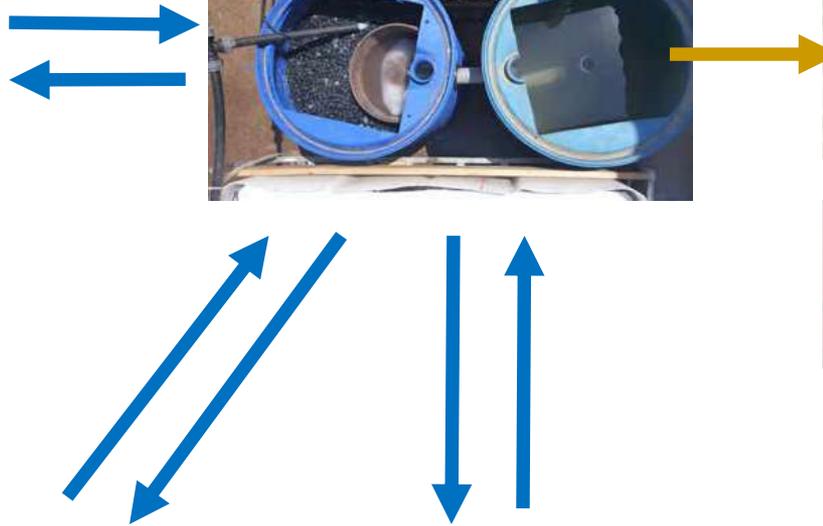
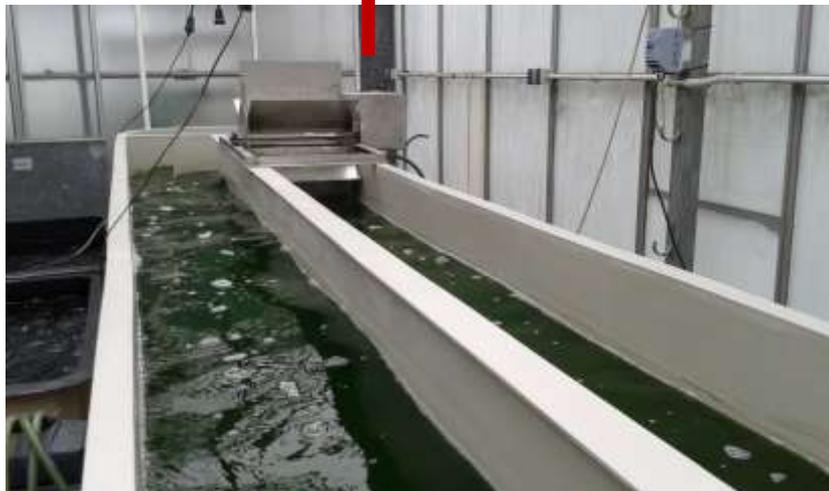


Objetivo general

Optimización de la producción acuapónica de lisas y fresas y/o lechugas y de los sistemas de biofiltración basados en consorcios bacterias-microalgas que serán empleados en la producción de piensos funcionales para los peces



ESQUEMA SIMPLIFICADO



La acuicultura. Sostenibilidad

ESPECIES
PROPUESTAS

Gracilaria cornea
(Rhodophyta)



Ulva rigida
(Chlorophyta)

- ✓ Buen perfil vitamínico y de minerales esenciales
- ✓ Ricas en ácido ascórbico o vitamina C, relacionada con el metabolismo lipídico y con el sistema inmune.
- ✓ Pueden elevar su contenido proteico si se cultiva en medios ricos en nitrógeno.

La acuicultura. Sostenibilidad

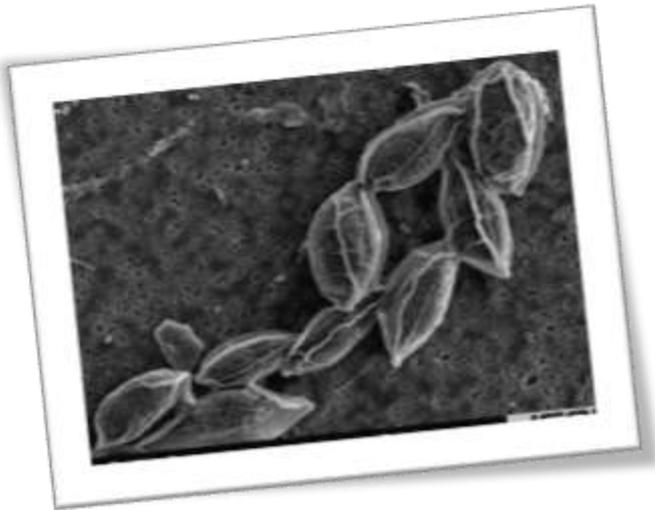
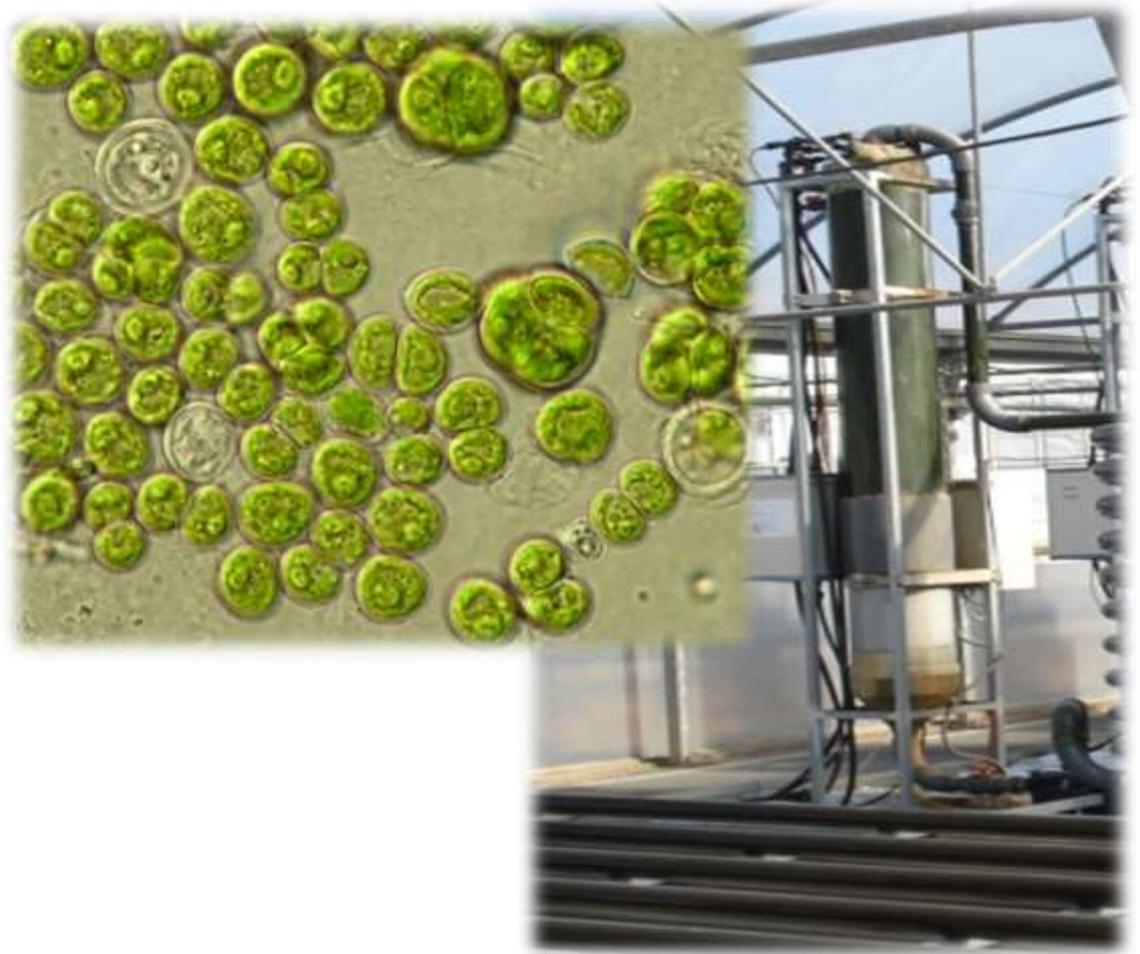
Scenedesmus almeriensis (Chlorophyta)

Rápido crecimiento

Alto contenido proteico

Alto contenido en vitamina C

Alto contenido en lípidos

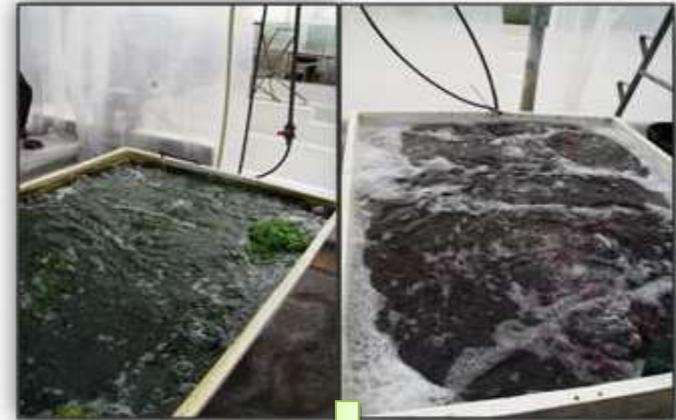


Cultivo de las algas y fabricación del pienso

Ulva rigida y Gracilaria cornea



Efluente
20-200 μM NH_4^+



Cosecha



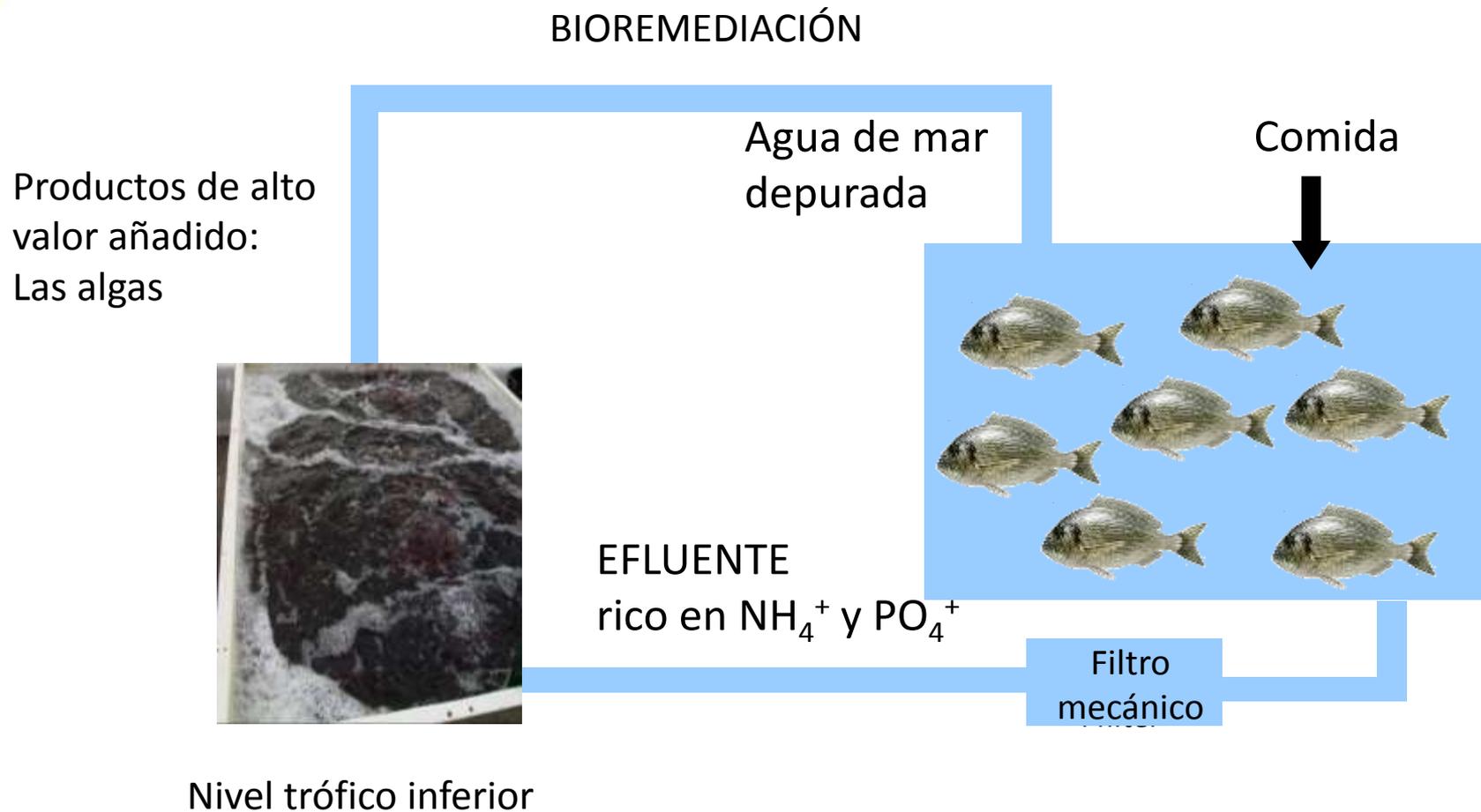
Pulverización
y mezcla para
obtención del
pienso



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La acuicultura. Sostenibilidad

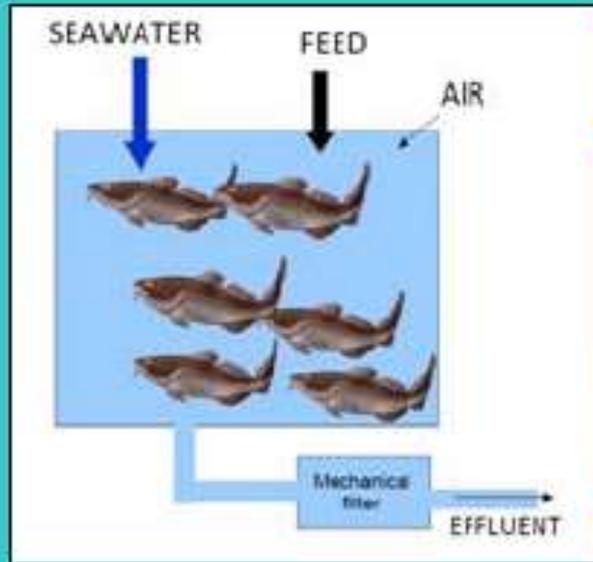
1. Impacto ambiental del vertido de efluentes de piscifactorías. Sistemas IMTA



PIENSOS FUNCIONALES A PARTIR DE MACROALGAS

BIOFILTRATION OF FISHPOND EFFLUENTS BY USING MACROALGAE AND THE USE ALGAL BIOMASS

AS FUNCTIONAL FEED



Ulva rigida
(Chlorophyta)

Hydropuntia cornea
(Rhodophyta)



PROXIMAL CHEMICAL COMPOSITION

Alga and food composition were determined following standard procedures (AOAC).

BIOFILTRATION OF THE EFFLUENTS

The biofiltration capacity of Ammonia and Phosphate was evaluated

NUE: Nitrogen uptake efficiency(%)

NUR: Nitrogen uptake removal ($\text{mmol m}^{-2}\text{h}^{-1}$)

PUE: Phosphate uptake efficiency (%)

PUR: Phosphate uptake removal ($\text{mmol m}^{-2}\text{h}^{-1}$)



•*Ulva rígida*

BIOFILTRATION OF THE EFFLUENTS

Yield

	<i>Ulva rigida</i>	<i>Hydropuntia cornea</i>
Algal yield (g DW m ⁻² d ⁻¹)	25.0 ± 5.0	49.0 ± 17.9



Nitrogen biofiltration

	<i>Ulva rigida</i>	<i>Hydropuntia cornea</i>
Ammonia flow (mmol h ⁻¹)	5.2 ± 3.1	3.6 ± 2.3
NUE (%)	91.2 ± 10.4	99.1 ± 2.4
NUR (mmol m ⁻² h ⁻¹)	27.0 ± 9.8	18.2 ± 11.4



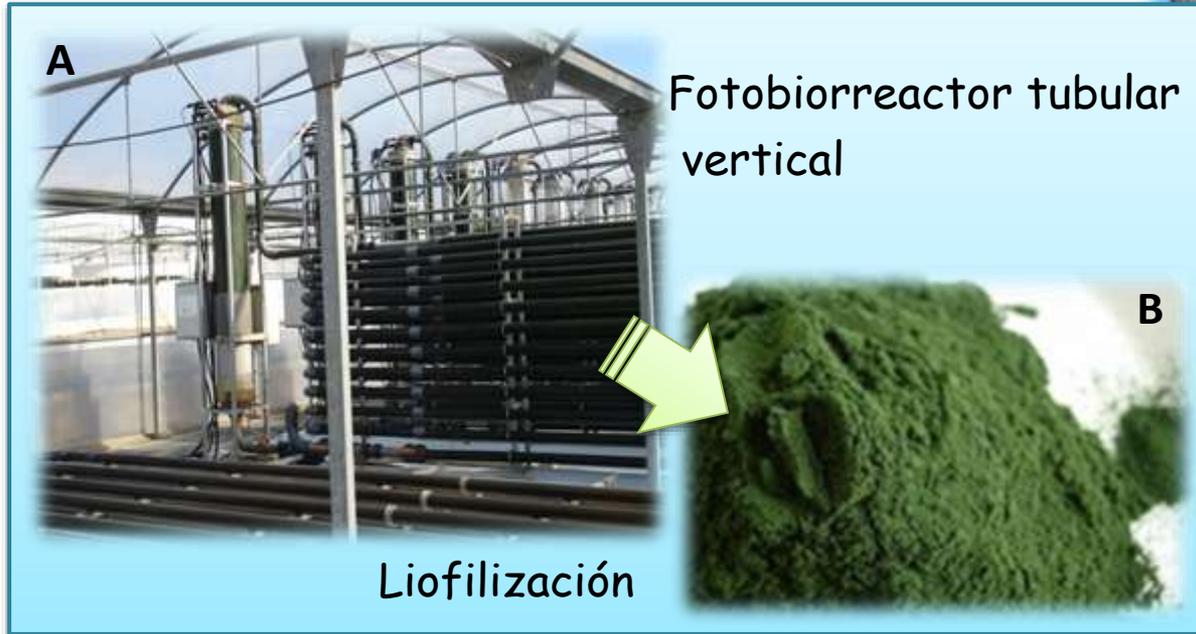
Phosphate biofiltration

	<i>Ulva rigida</i>	<i>Hydropuntia cornea</i>
Phosphate flow (mmol h ⁻¹)	0.7 ± 0.2	2.4 ± 0.8
PUE (%)	35.0 ± 5.5%	83.7 ± 2.4
PUR (mmol m ⁻² h ⁻¹)	2.2 ± 1.0	15.4 ± 0.1

The two species filtered both nutrients. Biofiltration capacity was higher in *H. cornea* than that in *U. rigida*. Ammonium biofiltration rates were significantly higher than that of phosphate. Nitrogen assimilated is used to maintain growth rate but it can be also store as N-compounds for metabolic activities.

Cultivo de las algas y fabricación del pienso

Scenedesmus almeriensis



Instalaciones de las Palmerillas
(Universidad de Almería)



Piensos para peces



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de las algas, dietas y peces

Métodos estándar oficiales de análisis (AOAC, 1995)

Se determinó:

- Carbono y Nitrógeno total
- Contenido en proteína (factor conversión 6,25)
- Humedad
- Ceniza



- Lípidos (Método de Folch, 1957)

Cloroformo-metanol

- Ácidos grasos (Método de Christie, 2003)

Separados por cromatografía gaseosa



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Toma de muestras

•Crecimiento

WG-incremento peso (%) = $[(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso inicial}] \times 100$

SGR-tasa crecimiento específico (% día⁻¹) = $100 \times [(\ln \text{ peso final}) - (\ln \text{ peso inicial})] / \text{periodo experimental}$

K-factor de condición (%) = $\text{peso pez} / \text{longitud del pez}^3 \times 100$

•Tasas de conversión del alimento

FCR-tasa de conversión del alimento = $\text{alimento seco ingerido} / \text{peso ganado}$

PER-tasa de eficiencia proteica = $\text{peso ganado} / \text{ingesta de proteína}$

•Índices somáticos

HSI-índice hepatosomático = $(\text{peso hígado} / \text{peso corporal}) \times 100$

VSI-índice víscero-somático = $(\text{peso vísceras} / \text{peso corporal}) \times 100$



Toma de muestras

Sistema inmune innato

Humoral:

Actividad hemolítica del complemento

Actividad lisozima *

Celular:

Actividad del estallido respiratorio *



* Solo en algunos experimentos



Hígado y músculo

Perfil ácidos grasos

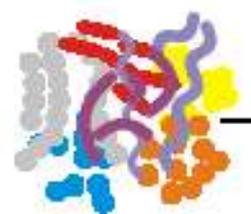
Intestino

Microbiota intestinal

Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante

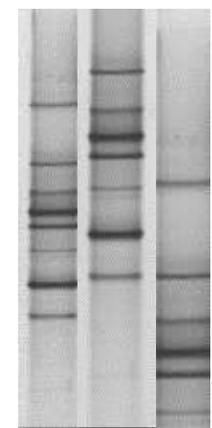
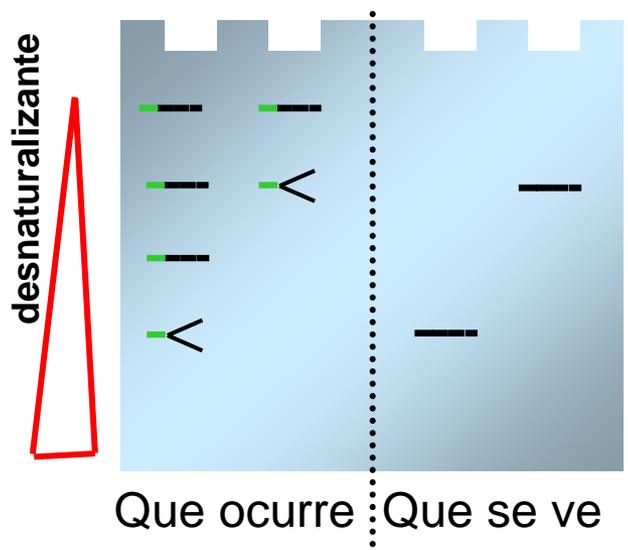
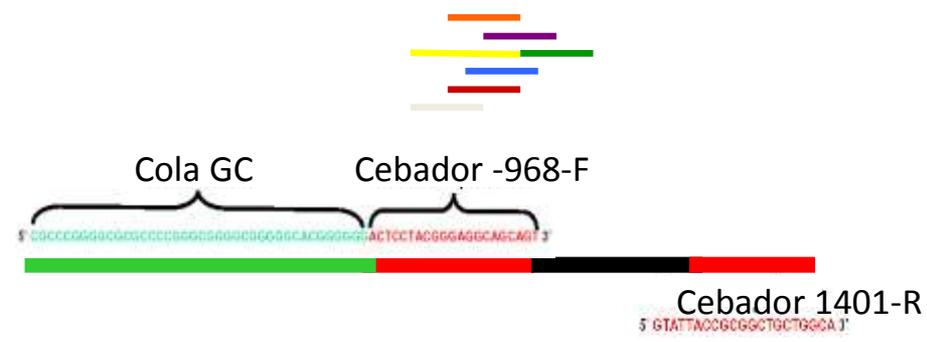
Extracción de ADN

Martinez et al. (1998)



PCR

DGGE



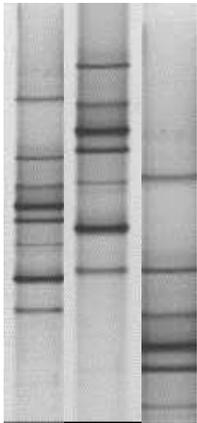
Producto de PCR: La separación de las bandas depende de la secuencia (contenido en GC). Las bacterias con alto contenido en GC llegarán a la parte inferior del gel

Índices

- 1.- Riqueza específica : número de bandas
- 2.- Riqueza de rango ponderado (Rr) (Marzorati *et al.*, 2008)

$$Rr = (N^2 \times D_g)$$

donde N representa el número total de bandas de la calle a analizar, y D_g representa el gradiente desnaturalizante comprendido entre la primera y la última banda de la calle analizada



- 3.- Curvas de Lorenz y coeficiente de Gini (Mertens *et al.*, 2005; Qi *et al.*, 2009)

$$G = 1 - [(N+1)/N] - [(2/\mu N^2) * \sum_{i=1}^N ix_i]$$

donde N = número de especies
 X_i = abundancia de especies
 μ = media de las abundancias

Concentración de amonio en heces

La concentración de amonio de las heces se determinó por cromatografía iónica a través del Servicio de Fotobiología de los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación (SCAI)



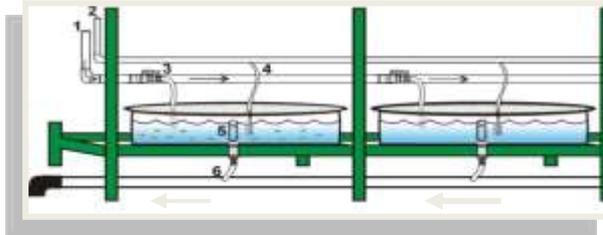
Resultados y Discusión

Experimento 1 (E1)

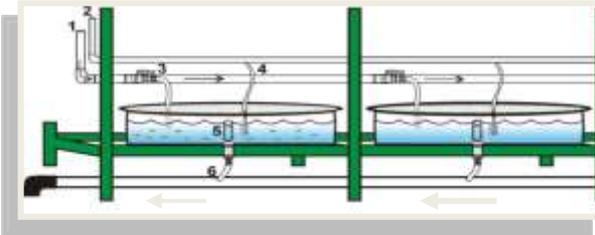


Dorada

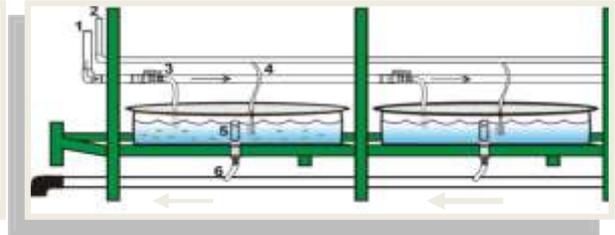
Ulva rigida



5%

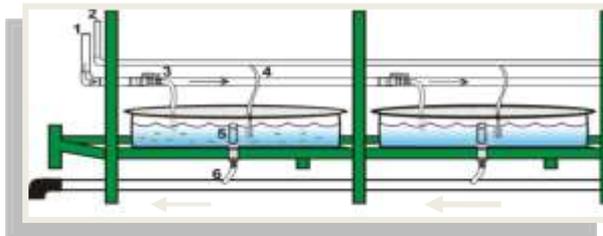


15%

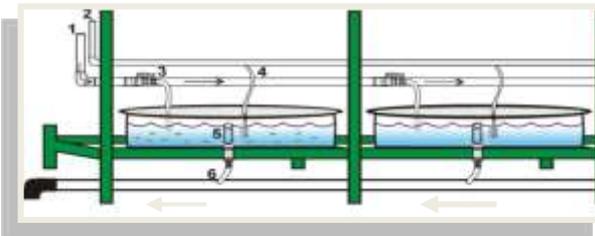


25%

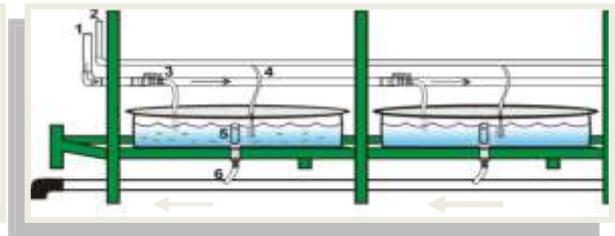
Gracilaria cornea



5%

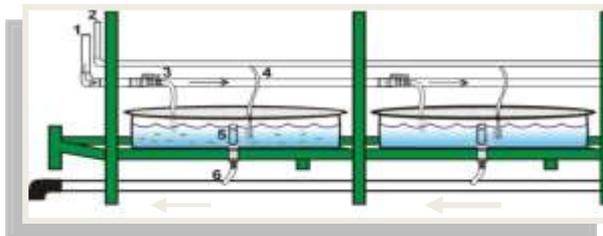


15%



25%

Control



- ✓ Duración: 60 días.
- ✓ Número de ejemplares por tanque: 15
- ✓ Toma de muestras: tiempo inicial y final
- ✓ Las macroalgas fueron crecidas en efluentes

E1. Composición química de las algas

ALGAS	Humedad	Lípidos totales	Proteínas totales	Carbohidratos	Ceniza
<i>U. rigida</i>	14,35 ± 0,2	1,88 ± 0,04	16,91 ± 0,42	49,41 ± 0,13	17,45 ± 0,71
<i>G. cornea</i>	10,74 ± 0,05	1,43 ± 0,01	13,50 ± 0,30	41,66 ± 0,11	32,67 ± 0,95

U. rigida



Ácidos grasos

SFA	54,67 ± 0,13 ^a
C16:0	50,89 ± 0,13 ^a
MUFA	20,58 ± 0,3 ^b
C18:1n7	7,96 ± 0,10 ^b
PUFA	24,75 ± 0,31 ^a
C18:2n6	7,96 ± 0,03 ^b
C20:4n6	0,03 ± 0,01 ^a
C20:5n3	0,42 ± 0,3 ^a
C22:6n3	0,7 ± 0,05

G. cornea



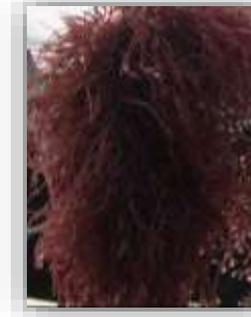
Ácidos grasos

SFA	65,09 ± 0,23 ^b
C16:0	55,40 ± 0,12 ^b
MUFA	17,22 ± 0,27 ^a
C18:1n9	7,64 ± 0,03 ^b
PUFA	16,46 ± 0,23 ^b
C20:4n3	6,10 ± 0,01 ^b
C20:4n6	0,48 ± 0,1 ^b
C20:5n3	0,71 ± 0,09 ^b
C22:6n3	0,83 ± 0,03

El perfil de ácidos grasos de ambas algas cubren las necesidades nutricionales de la dorada

E1. Perfil de ácidos grasos de las dietas

	Control	UL-5	UL-15	UL-25	GR-5	GR-15	GR-25
SFA	41,17±0,26	41,18±0,26	41,12±0,23	41,18±0,21	41,18±0,44	41,61±0,32	41,55±0,25
MFA	26,04±0,48	26,09±0,43	26,43±0,31	26,29±0,24	26,12±0,24	25,93±0,46	25,97±0,44
ARA	0,14±0,02	0,16±0,03	0,16±0,02	0,15±0,04	0,16±0,03	0,16±0,02	0,15±0,01
EPA	7,23±0,11	7,25±0,22	7,12±0,13	7,08±0,16	7,13±0,12	7,15±0,17	7,21±0,13
DHA	12,87±0,23	13,00±0,28	12,93±0,23	13,08±0,24	12,91±0,26	12,88±0,11	12,95±0,23
Σn-3	25,91±0,23	26,22±0,18	25,95±0,22	26,04±0,21	26,04±0,12	26,02±0,23	25,96±0,12
Σn-6	6,88±0,15	6,51±0,48	6,50±0,12	6,49±0,23	6,66±0,27	6,44±0,19	6,52±0,21
n-3/n-6	3,77±0,32	4,02±0,31	3,99±0,24	4,01±0,22	3,91±0,13	4,04±0,32	3,98±0,23
DHA/EPA	1,78±0,04	1,79±0,15	1,81±0,11	1,85±0,10	1,79±0,03	1,80±0,09	1,80±0,14



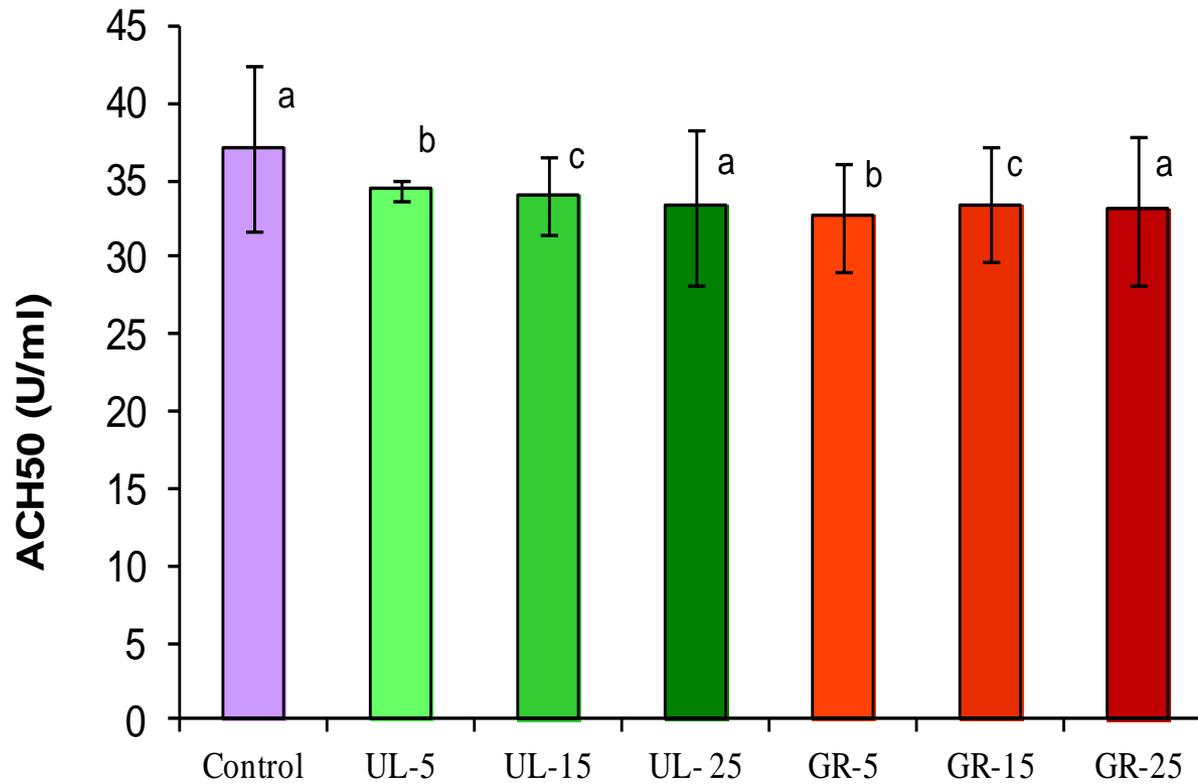
E1. Parámetros del crecimiento

	Tratamiento						
	Control	UL-5	UL-15	UL-25	GR-5	GR-15	GR-25
Peso inicial (g)	13,9 ± 0,2	13,6 ± 0,5	13,9 ± 0,8	14,7 ± 0,3	13,3 ± 0,1	13,9 ± 0,3	14,9 ± 0,1
Peso final (g)	28,7 ± 0,3 ^{ab}	26,6 ± 0,3 ^{ab}	25,6 ± 2,3 ^b	31,2 ± 1,1 ^a	26,6 ± 0,3 ^{ab}	27,7 ± 0,1 ^{ab}	27,8 ± 1,2 ^{ab}
Longitud final (cm)	11,5 ± 0,1	11,3 ± 0,1	11,2 ± 0,3	11,5 ± 0,7	11,3 ± 0,3	11,1 ± 0,7	11,5 ± 0,2
WG (%)	106,2 ± 0,1	95,9 ± 9,5	83,9 ± 6,4	112,3 ± 11,4	99,0 ± 20,1	99,2 ± 5,3	85,1 ± 8,1
SGR (%)	1,13 ± 0,01	1,05 ± 0,08	0,95 ± 0,05	1,17 ± 0,08	1,07 ± 0,16	1,08 ± 0,04	0,96 ± 0,07
FCR	1,60 ± 0,06 ^{ab}	1,73 ± 0,21 ^{ab}	1,90 ± 0,05 ^{ab}	1,81 ± 0,28 ^{ab}	1,99 ± 0,51 ^{ab}	1,87 ± 0,10 ^{ab}	2,13 ± 0,18 ^a
PER	1,44 ± 0,01 ^a	1,34 ± 0,08 ^{ab}	1,09 ± 0,12 ^b	1,35 ± 0,07 ^{ab}	1,28 ± 0,15 ^{ab}	1,20 ± 0,06 ^{ab}	1,08 ± 0,07 ^b
CY (%)	88,55 ± 5,11	90,70 ± 0,62	90,31 ± 1,0	90,64 ± 0,95	90,63 ± 1,15	90,03 ± 1,19	90,34 ± 1,09
K	1,88 ± 0,06	1,82 ± 0,03	1,83 ± 0,01	1,83 ± 0,03	1,83 ± 0,02	1,78 ± 0,07	1,83 ± 0,02
HSI (%)	1,79 ± 0,24 ^a	1,57 ± 0,18 ^b	1,34 ± 0,26 ^c	1,17 ± 0,17 ^d	1,55 ± 0,20 ^b	1,33 ± 0,17 ^c	1,16 ± 0,18 ^d
VSI (%)	6,79 ± 0,94	6,35 ± 1,21	6,34 ± 0,63	5,88 ± 0,83	6,72 ± 1,13	6,44 ± 0,78	6,13 ± 0,62

E1. Composición química de los peces

Composición química	Inicial	Control	UL-5	UL-15	UL-25	GR-5	GR-15	GR-25	SEM
Humedad (%)	69,5	68,5	68,3	68,4	68,5	68,8	68,2	69,5	0,36
Proteína (% MS)	55,2	54,3	54,2	53,9	53	55,6	54,1	55,5	0,45
Lípidos (% MS)	26,5	27,5 ^a	24,3 ^{ab}	24,2 ^{ab}	21,3 ^b	28,5 ^a	27,6 ^a	24,8 ^{ab}	0,99
Cenizas (% MS)	13,8	12,8	13,6	12,5	12,6	12,3	13,1	12,2	0,21

E1. Actividad hemolítica del complemento



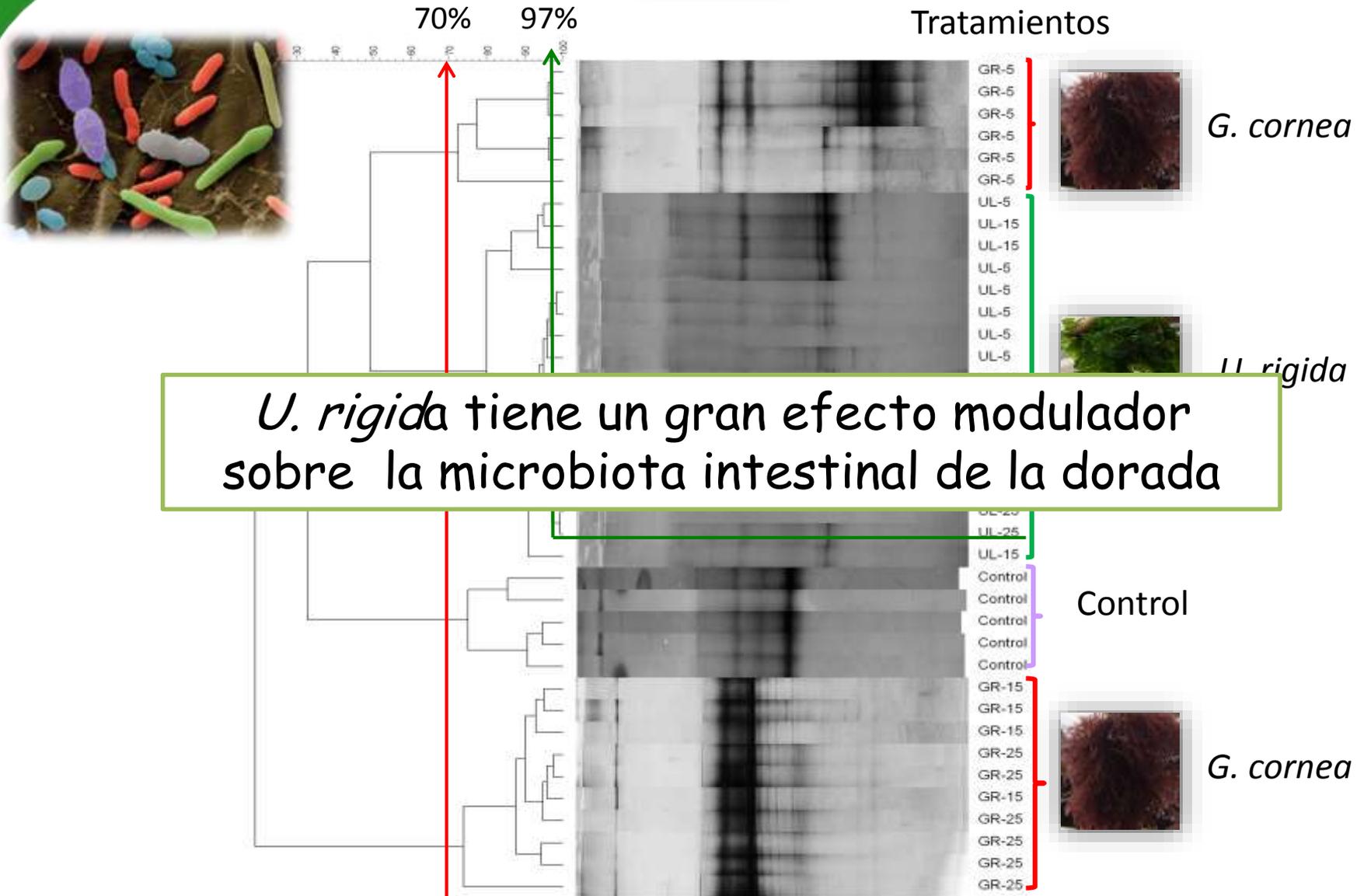
E1. Efecto sobre la microbiota intestinal

	Riqueza específica	Rango	Coefficiente de Gini	Rr
Control	17,2±4.6 ^b	14-24	0,22±0,02 ^a	38,44± 10,2 ^a
UL-5	17,8±4.76 ^b	13-25	0,25±0,02 ^{ab}	27,92± 12,1 ^{ab}
UL-15	36,75±9,2 ^d	28-47	0,27±0,01 ^b	78,80± 19,8 ^c
UL-25	9,5±1,3 ^a	8-11	0,24±0,04 ^{ab}	4,61±4,3 ^b
GR-5	19,20±3,42 ^b	14-23	0,23±0,02 ^{ab}	43,92±9,81 ^a
GR-15	28,3±1,7 ^c	26-30	0,25±0,03 ^{ab}	84,03±12,4 ^c
GR-25	20,0±2,12 ^b	17-22	0,21±0,02 ^{ab}	46,0±11,6 ^a

Rr: Índice de habitabilidad

Rr<10 = entornos muy adversos; Rr entre 10-30: poco habitables; Rr>30= entorno muy habitable

E1. Efecto sobre la microbiota intestinal



E1. Efecto sobre la microbiota intestinal

Clones obtenidos de los ejemplares alimentados con:

Dieta Control

Vibrionaceas

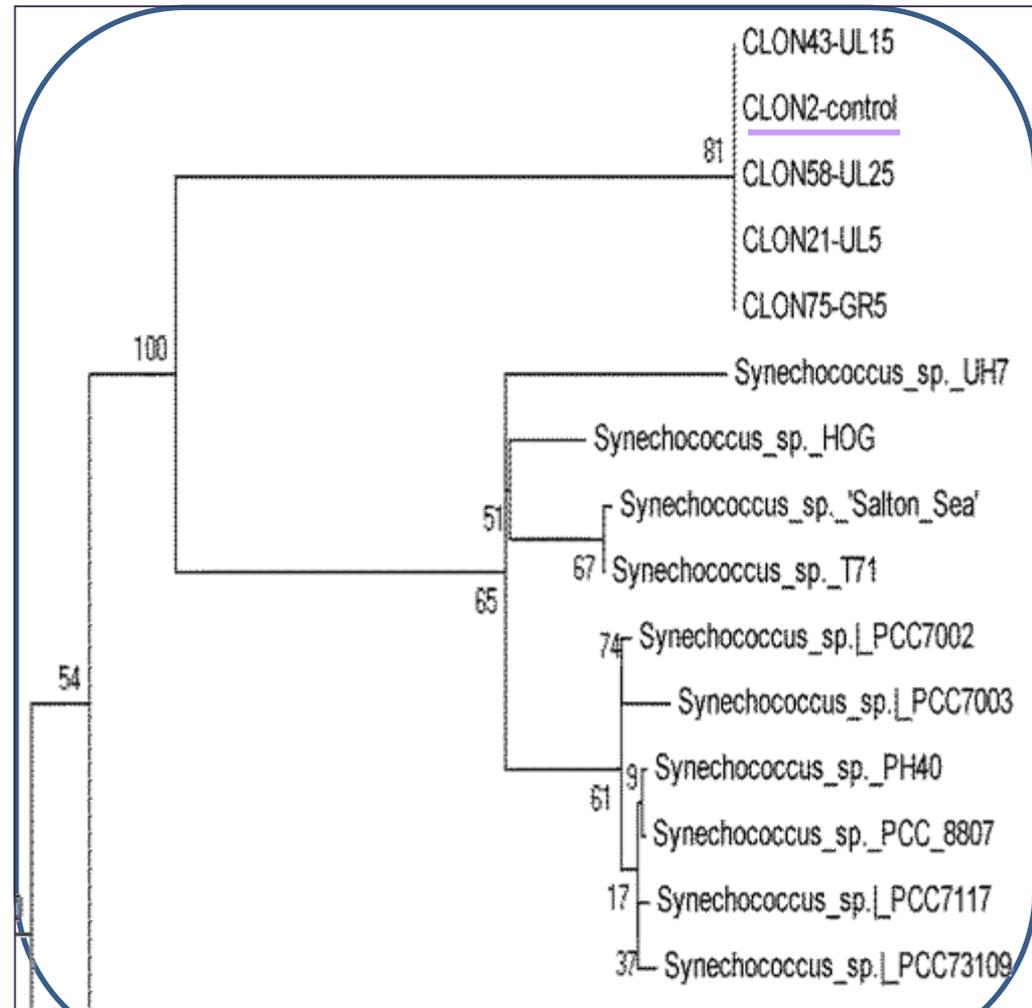
- *Vibrio chagasii*
- *Vibrio ordalii*

Photobacterium

- *Photobacterium ganghwense*

Cianobacteria incultivable

- *Synechococcus*



E1. Efecto sobre la microbiota intestinal

La microbiota intestinal de los ejemplares alimentados con UL-25 puede presentar problemas a la hora de adaptarse a modificaciones en el ambiente.

Sin embargo, esta microbiota en nuestras condiciones de cultivo parece que funciona :

- Efecto positivo en el crecimiento
- No afectación de la actividad hemolítica del complemento

Para comprobar si el efecto de la dieta UL-25 a tiempos más cortos de administración es el mismo,

- Tiempo de ensayo fue menor, y toma de muestras a intervalos de tiempo más cortos.

Dieta
Vil

Ph
Cid

GR

La

GR

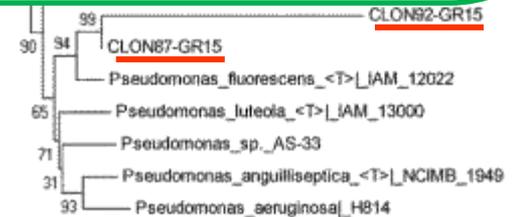
Pse

Pseudomonas fluorescens

GR-25

Lactobacillus delbrueckii

Desaparece *Photobacterium* sp.

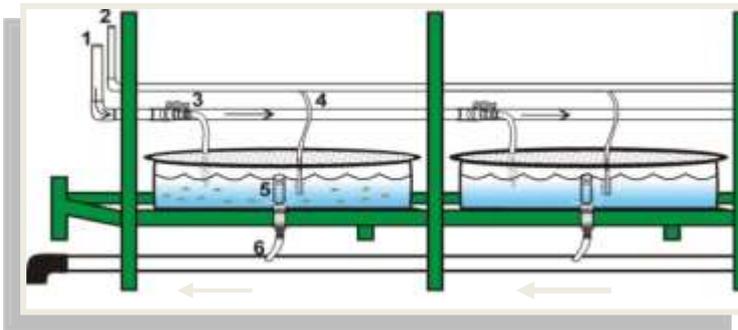


Experimento 2 (E2)

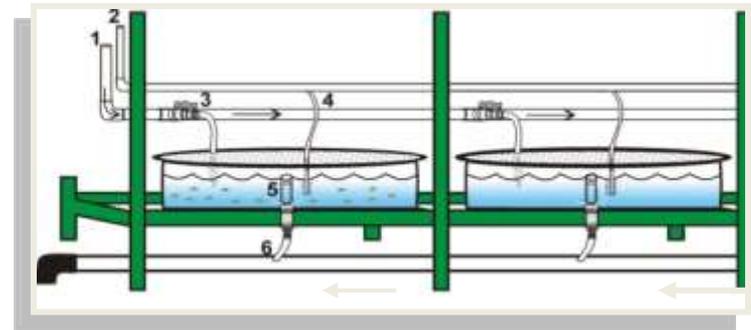


Dorada

Control



Ulva rigida



25%

- ✓ Duración: **30 días**.
- ✓ Número de ejemplares por tanque: **15**
- ✓ Toma de muestras a intervalos de tiempo inferiores: **2, 7, 15 y 30 días**

E2. Contenido lipídico y perfil de A. grasos de hígado

	Control	UL-25
<u>Lípidos totales</u>	7,21 ± 0,96	5,01 ± 0,64

Ácidos grasos (%)

	Control	UL-25
C18:1n9	16,68 ± 0,23	11,29 ± 0,44
C18:3n3	0,17 ± 0,01 ^a	0,66 ± 0,22 ^b
C18:2n6	4,46 ± 0,76 ^a	6,56 ± 0,13 ^b
C20:4n6(ARA)	0,08 ± 0,02 ^a	1,58 ± 0,17 ^b
C22:6n3(DHA)	1,61 ± 0,12 ^a	13,53 ± 0,09 ^b
C20:5n3(EPA)	0,87 ± 0,04 ^a	4,51 ± 1,32 ^b



Transporte de lípidos desde el hígado

E2. Perfil de ácidos grasos de músculo

	Control	UL-25
<u>Lípidos totales</u>	12,25 ± 0,45	12,72 ± 0,49

Ácidos grasos (%)

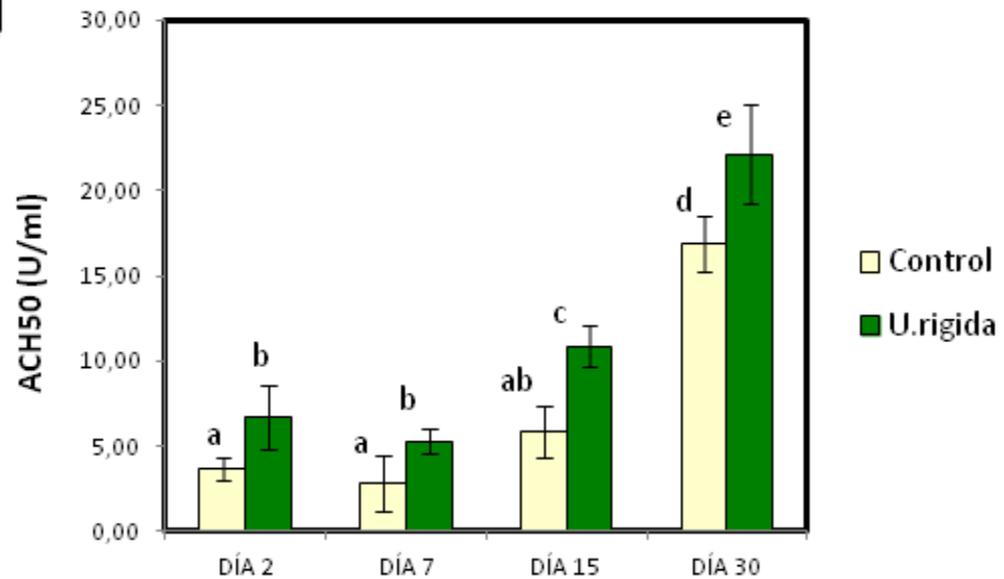
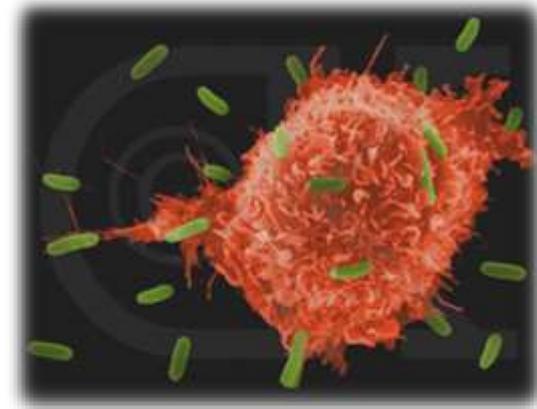
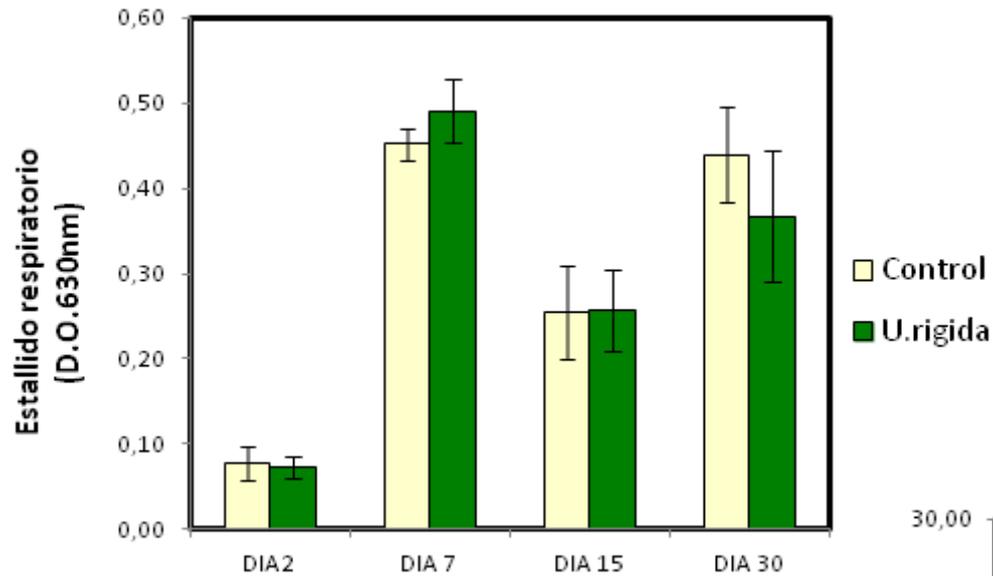
	Control	UL-25
C18:1n9	21,22 ± 1,85 ^b	8,48 ± 0,63 ^a
C18:3n3	1,00 ± 0,50 ^a	1,98 ± 0,15 ^b
C20:4n6(ARA)	8,99 ± 0,14 ^a	6,31 ± 0,11 ^b
C20:5n3(EPA)	7,20 ± 0,01 ^b	4,18 ± 0,03 ^a
C22:6n3(DHA)	14,52 ± 0,18 ^a	18,36 ± 0,21 ^b



El aumento del porcentaje de DHA en el músculo hace que mejore el valor nutricional de la carne de la dorada

E2. Sistema inmune innato

Estallido respiratorio y actividad hemolítica del complemento



E2. Efecto sobre la microbiota intestinal

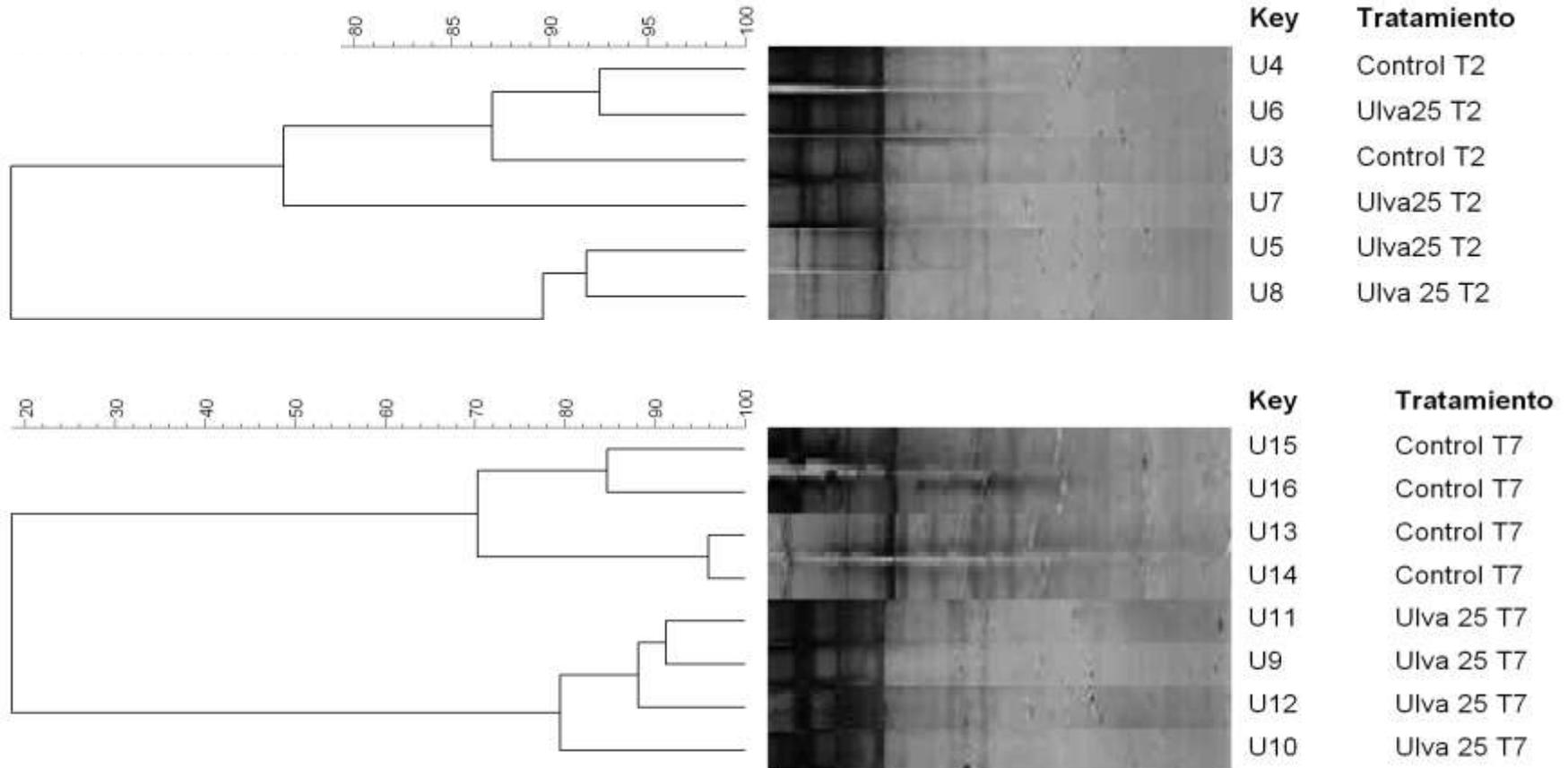
	Tratamiento	Riqueza específica	Rango	Coefficiente de Gini	Rr
Tiempo 2	Control	15,25 ± 3,30 ^a	12-19	0,21 ± 0,02 ^a	35,75 ± 3,89 ^a
	UL-25	15,00 ± 1,83 ^a	13-17	0,22 ± 0,05 ^a	56,77 ± 11,52 ^b
Tiempo 7	Control	16,50 ± 1,91 ^{ab}	15-19	0,28 ± 0,02 ^b	54,77 ± 10,54 ^b
	UL-25	16 ± 1,73 ^{ab}	15-18	0,20 ± 0,03 ^a	50,63 ± 2,21 ^b
Tiempo 15	Control	18,67 ± 2,89 ^{ab}	17-22	0,20 ± 0,05 ^a	84,52 ± 23,64 ^{bcd}
	UL-25	18,50 ± 3,00 ^{ab}	14-20	0,24 ± 0,04 ^a	91,98 ± 3,87 ^d
Tiempo 30	Control	18,50 ± 1,00 ^{ab}	17-19	0,26 ± 0,02 ^{ab}	76,78 ± 8,38 ^c
	UL-25	20,60 ± 1,53 ^b	19-22	0,27 ± 0,01 ^b	99,74 ± 16,40 ^d

Rr: Índice de habitabilidad

Rr < 10 = entornos muy adversos; Rr entre 10-30: poco habitables; Rr > 30 = entorno muy habitable

E2. Efecto sobre la microbiota intestinal

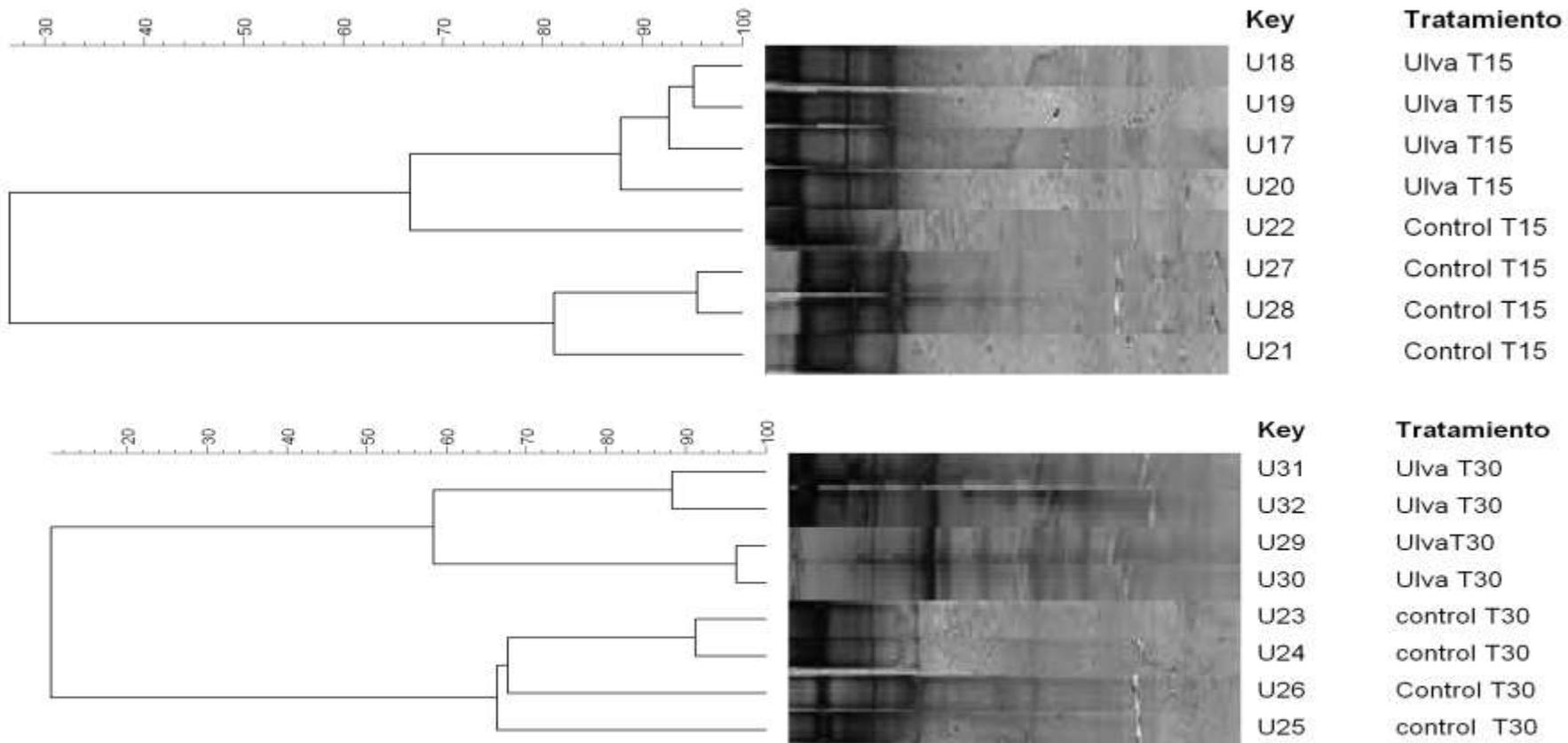
Análisis patrón PCR-DGGE



Tiempo 2 : No se diferencia ningún grupo. Todos los individuos aparecen mezclados

A partir del tiempo 7 aparecen dos grupos bien diferenciados en el patrón de PCR-DGGE, correspondiendo cada uno de ellos a una de las dietas administradas.

E2. Efecto sobre la microbiota intestinal



A partir del tiempo 7 aparecen dos grupos bien diferenciados en el patrón de PCR-DGGE, correspondiendo cada uno de ellos a una de las dietas administradas.

E2. Efecto sobre la microbiota intestinal

Clones obtenidos para los ejemplares alimentados con :

Dieta Control

Vibrionaceas

- *Vibrio chagasii*
- *Vibrio ordalii*

Photobacterium

- *Photobacterium ganghwense*

Enterobacteriaceae

- *Serratia proteomaculans*

Cianobacteria incultivable

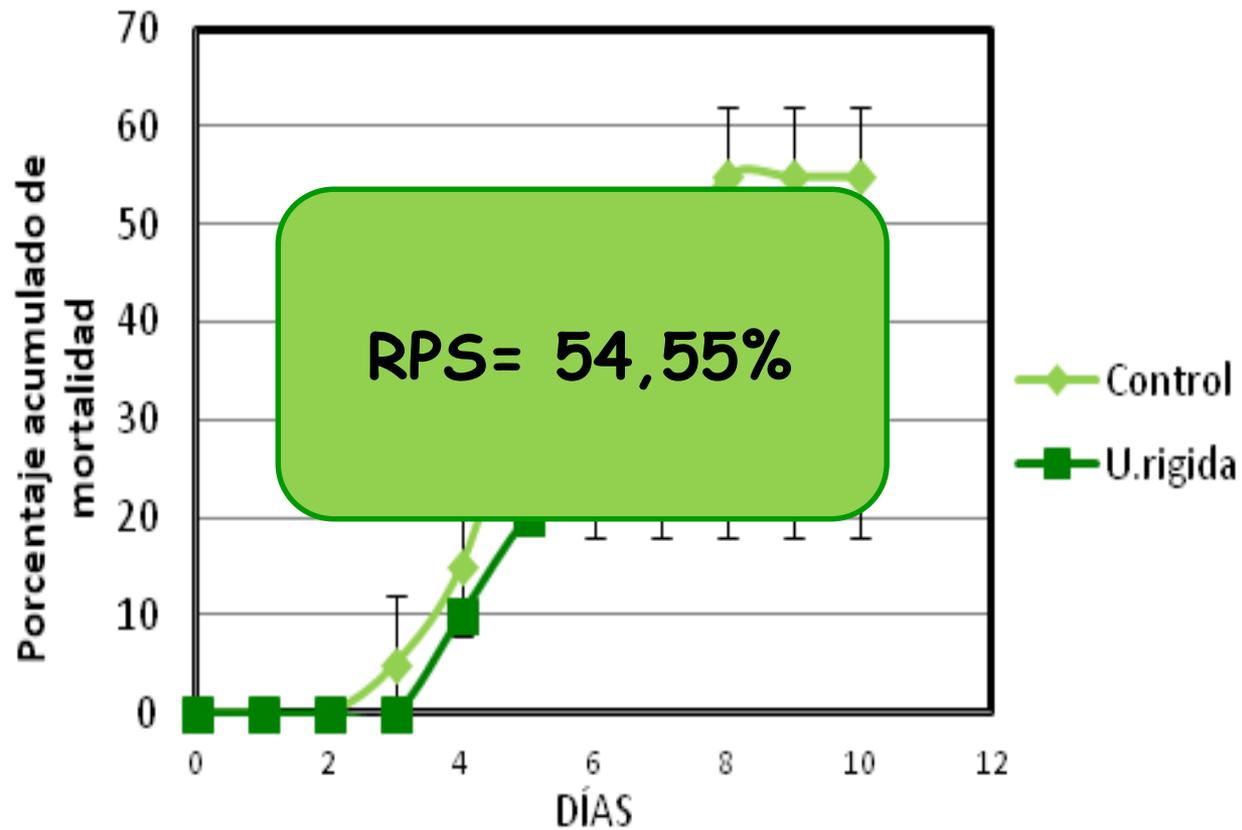
- *Synechococcus*

Dieta UL-25

- *Sphingomonas*
- *Comamonas aquatica*
- Bacterias del ácido láctico:
 - *Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii*
 - *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

E2: Infección experimental

P. damsela subsp. *piscicida*

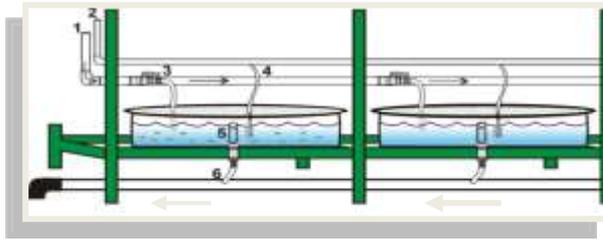


Experimento 3 (E3)

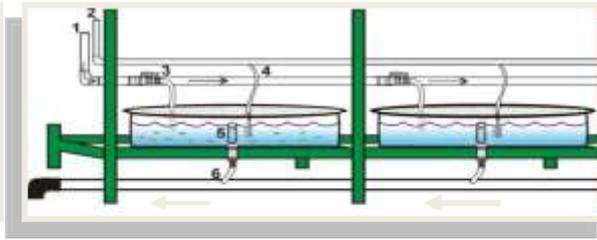
S. almeriensis



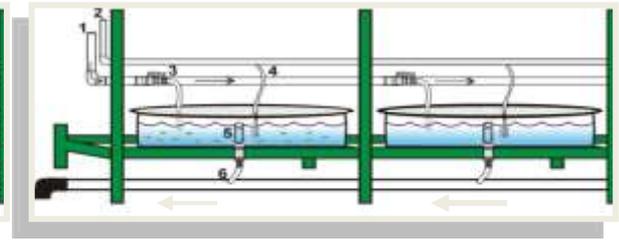
Dorada



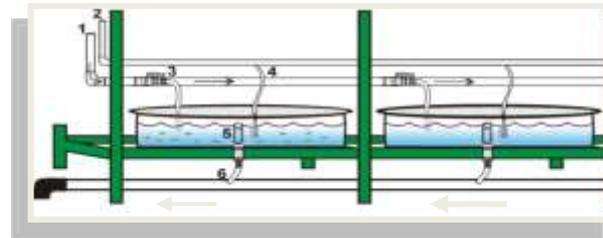
5%



15%



25%



Control

- ✓ Duración: **30 días.**
- ✓ Número de ejemplares por tanque: **15**
- ✓ Toma de muestras: **tiempo inicial, 7, 15 y 30 días**

E3. Composición química

Microalga	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Humedad	Ceniza
<i>S. almeriensis</i>	49,53± 0,01	12,58 ± 0,08	21,36 ±0,03	3,21 ± 0,20	13,32 ± 0,17

Dietas	Control	SC-5	SC-15	SC-25	<i>S. almeriensis</i>
SFA	59,69±2,98 ^c	42,7±1,87 ^b	41,9 ±1,65 ^b	36,29± 1,56 ^a	22,78± 0,86
MUFA	12,65± 0,81 ^a	25,81 ± 0,91 ^b	26,02± 0,78 ^b	27,24±0,91 ^b	28,38±0,12
C18:2n6c	5.93 ± 0.31 ^a	7,39± 0,44 ^{bc}	6,92±0,27 ^b	7,88±0,19 ^c	10,70±0,11
C18:3n3	0.81 ± 0.02 ^a	1,72± 0,07 ^b	1,91±0,05 ^c	2,14±0,02 ^d	5,18±0,02
C20:4n6 (ARA)	0.25 ± 0.01 ^a	0,38±0,09 ^b	0,41±0,21 ^b	0,39±0,09 ^b	2,44±0,05
C20:5n3(EPA)	8.17 ± 0.17 ^a	9,10± 0,14 ^b	9,26±0,31 ^b	10,48±0,16 ^c	12,88±0,07
C22:6n3(DHA)	12,10 ± 0.34 ^a	12,53± 0,21 ^a	13,20±0,21 ^b	15,09±0,19 ^c	16,33±0,09
PUFA	20,66±0,41 ^a	24,49±0,43 ^b	25,11±0,42 ^b	29,47±0,49 ^c	48,84±0,39

Conforme aumenta el porcentaje de inclusión de esta especie en las dietas, los perfiles de ácidos grasos se asemejan más al perfil de la microalga

E3. Composición química del pez

Músculo	Proteína	C/N	Lípidos
Control	81,8 ±1,4	3,51 ±0,02	16,26±0,32 ^b
SC-5	77,2 ± 2,5	3,74 ±0,17	25,02±0,11 ^a
SC-15	78,2 ± 1,8	3,68 ±0,08	17,09±0,16 ^a
SC-25	79,3 ± 0,8	3,74 ±0,06	21,44±0,25 ^{ab}

Corporal	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Humedad
Inicio	59,7 ± 2,0	11,6 ± 1,7 ^b	15,0 ± 0,9	13,7 ± 0,05	72,4 ± 0,5
Control	60,4 ± 0,7	19,0 ± 0,4 ^a	15,3 ± 0,2	5,3 ± 0,05	71,5 ± 0,6
SC-5	59,3 ± 0,4	19,8 ± 1,6 ^a	15,4 ± 0,7	5,5 ± 0,03	73,0 ± 5,9
SC-15	59,9 ± 0,6	12,5 ± 1,4 ^b	15,6 ± 0,4	12,0 ± 0,08	71,2 ± 6,5
SC-25	59,0 ± 1,6	15,4 ± 1,7 ^{ab}	15,1 ± 0,7	10,3 ± 0,03	67,7 ± 7,5

E3. Perfil de ácidos grasos

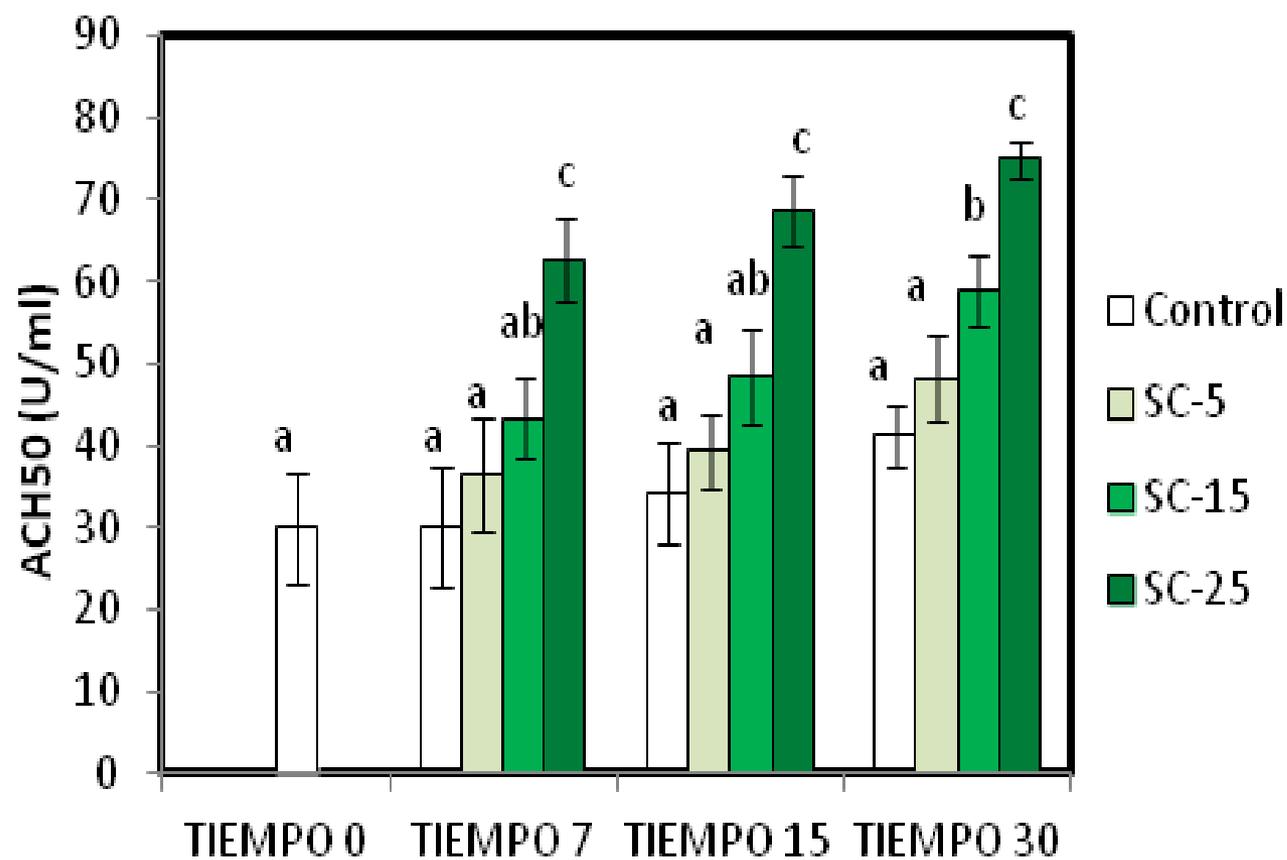
Hígado

	Control	SC-5	SC-15	SC-25
SFA	44,38 ± 0,34 ^b	43,92 ± 0,38 ^b	39,28 ± 1,03 ^a	37,75 ± 0,93 ^a
MUFA	20,19 ± 0,55 ^a	19,3 ± 0,55 ^a	22,53 ± 1,47 ^b	23,04 ± 1,11 ^b
PUFA	35,43 ± 0,65 ^a	36,78 ± 0,65 ^a	38,19 ± 0,35 ^b	39,21 ± 0,28 ^c
C18:2 n - 6	5,88 ± 0,21	5,74 ± 0,19	5,79 ± 0,96	5,73 ± 0,43
C20:4 n - 6 (ARA)	7,45 ± 0,11	7,67 ± 0,09	8,14 ± 1,25	8,15 ± 0,99

Conforme aumenta el porcentaje de inclusión de *S. almeriensis* en las dietas, los perfiles de ácidos grasos de hígado y músculo se asemejan más al perfil de dichas dietas

SFA	33,25 ± 1.01 ^c	32,58 ± 0.36 ^c	30,39 ± 0.74 ^b	27,87 ± 0.53 ^a
MUFA	24,49 ± 1.11	24,82 ± 0.83	24,39 ± 1.11	25,21 ± 1.05
PUFA	42,26 ± 1.1 ^{ab}	41,69 ± 0,97 ^a	44,51 ± 1.62 ^{bc}	46,92 ± 1.44 ^c
C20:4 n - 6 (ARA)	8.63 ± 0.11 ^b	8.29 ± 0.12 ^a	11.95 ± 0.79 ^c	11.82 ± 0.82 ^c
C20:5 n - 3 (EPA)	7.68 ± 0.22	7.29 ± 0.16	7.01 ± 0.51	7.56 ± 0.30
C22:6 n - 3 (DHA)	19.19 ± 0.99 ^a	19.08 ± 0.89 ^a	21,57 ± 0.97 ^b	23.01 ± 1.29 ^b

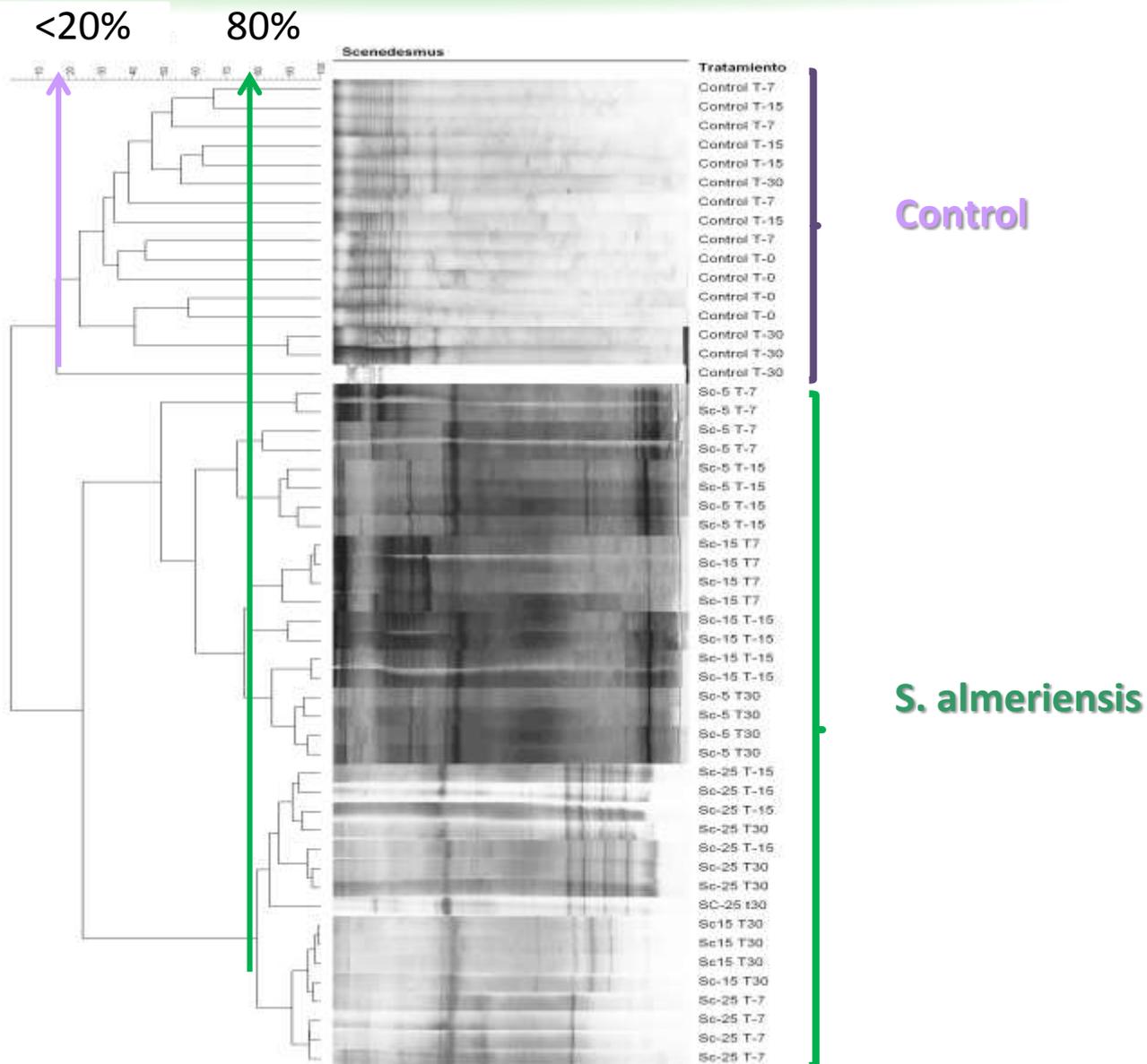
E3. Actividad hemolítica del complemento



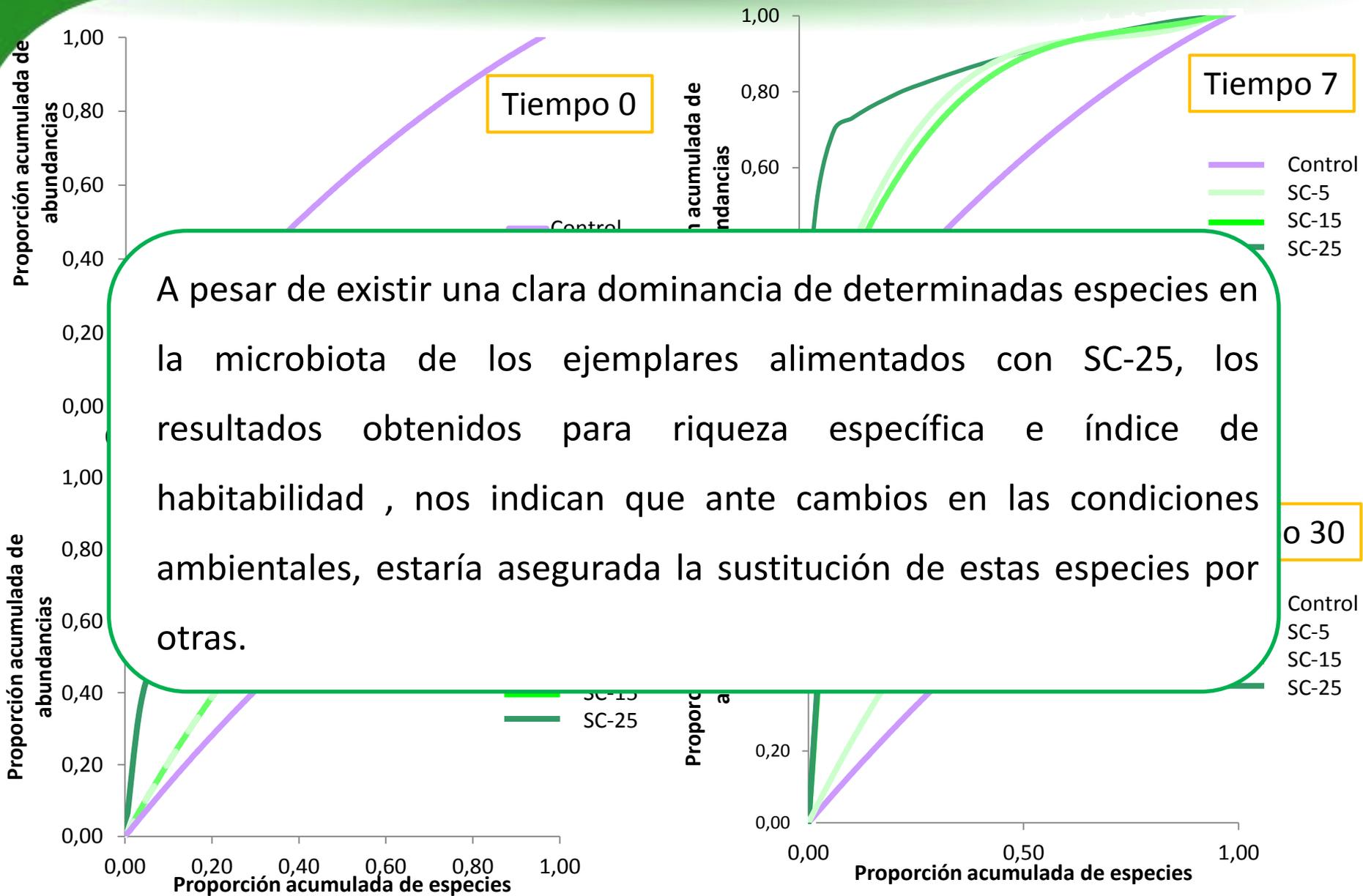
E3. Efecto sobre la microbiota intestinal

	Tratamiento	Riqueza específica	Rango	Coefficiente de Gini	Rr
Tiempo 0	Control	13,25±1,26 ^b	12-15	0,27±0,01 ^c	10,44 ±3,15 ^{ab}
Tiempo 7	Control	13,25±2,63 ^b	11-17	0,23±0,08 ^b	7,97±2,65 ^a
	SC-5	12,66±3,79 ^b	10-17	0,21±0,03 ^b	20,16±2,84 ^c
	SC-15	11,50±4,04 ^{ab}	8-17	0,18±0,03 ^b	22,28±10,18 ^{bc}
	SC-25	23,33±4,04 ^d	12-27	0,25±0,09 ^b	136,29±10,74 ^f
Tiempo 15	Control	15,50±1,29 ^{bc}	14-17	0,23±0,05 ^b	24,72±6,01 ^c
	SC-5	11,25±3,86 ^{ab}	7-14	0,25±0,02 ^{bc}	51,22±4,99 ^d
	SC-15	7,75± 2,22 ^a	5-10	0,18±0,05 ^b	14,96±5,88 ^{bc}
	SC-25	25,00±5,57 ^d	20-31	0,25±0,05 ^{bc}	292,33±15,03 ^h
Tiempo 30	Control	13,00±1,00 ^b	12-14	0,23±0,08 ^b	14,56±3,83 ^{bc}
	SC-5	17,75±2,63 ^c	14-20	0,27±0,03 ^c	87,79±5,41 ^e
	SC-15	27,25±3,59 ^d	24-32	0,11±0,04 ^a	161,67±5,10 ^g
	SC-25	36,50±6,40 ^e	30-42	0,25±0,05 ^{bc}	374±18,47 ⁱ

E3. Efecto sobre la microbiota intestinal



E3. Efecto sobre la microbiota intestinal



A pesar de existir una clara dominancia de determinadas especies en la microbiota de los ejemplares alimentados con SC-25, los resultados obtenidos para riqueza específica e índice de habitabilidad , nos indican que ante cambios en las condiciones ambientales, estaría asegurada la sustitución de estas especies por otras.

Tiempo 30
Tiempo 60
Control
SC-5
SC-15
SC-25

E3. Efecto sobre la microbiota intestinal

Dieta Control

Vibrionaceas

- *Vibrio alginolyticus*
- *Vibrio parahaemolyticus*
- *Vibrio harveyi*
- *Vibrio gigantis*
- *Vibrio ordalii*

Photobacterium

- *Photobacterium ganghwense*

Enterobacteriaceae

- *Serratia proteomaculans*

Dietas con *S. almeriensis*

Shewanella sp.

SC-5

Pseudomonas

SC-15 y SC-25

Desaparece:

Pseudomonas

Aparecen:

V. communis

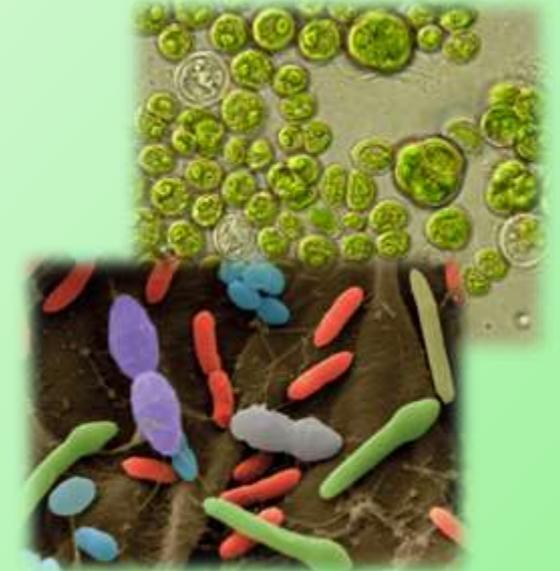
V. ichthyenteri

V. natriegens

Bacterias ácido lácticas (LAB):

Lactococcus

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*

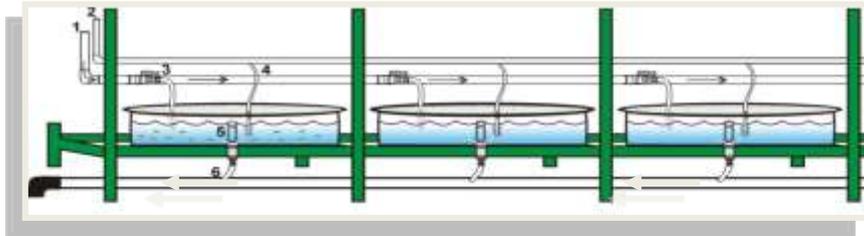


Experimento 4 (E4)

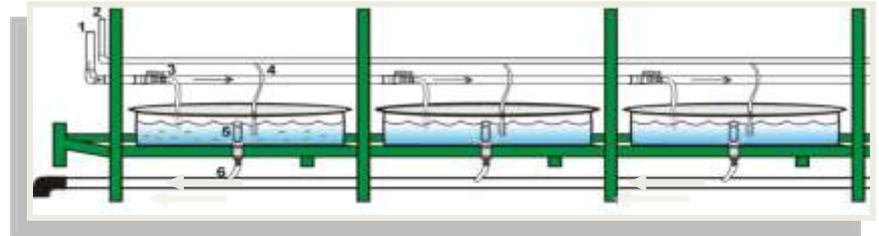


Tilapia

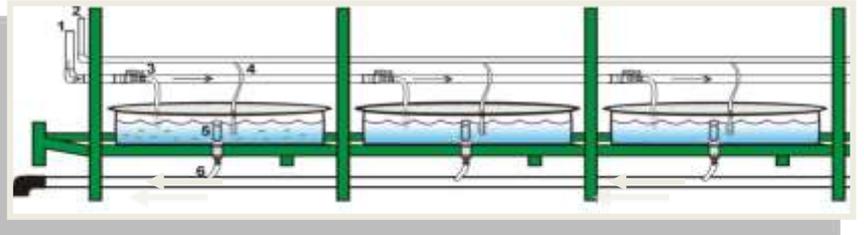
Control



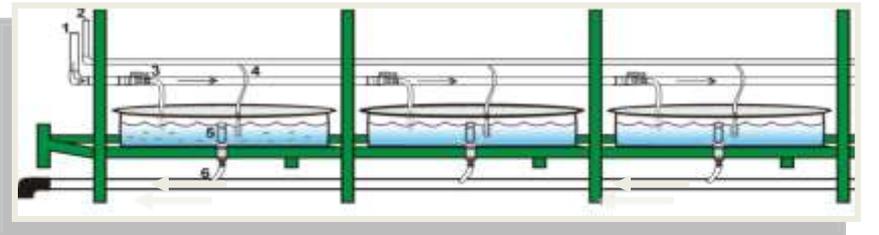
U. rigida



G. cornea



S. almeriensis



- ✓ Tanques :200 litros capacidad
- ✓ **25% de harina de alga**
- ✓ Número de ejemplares por tanque: 11
- ✓ Toma de muestra: **tiempo inicial, 7 ,15 y 30 días.**

E4. Perfil de ácidos grasos de las dietas

	Control	UL-25	GR-25	SC-25
C18:2n6c	8,09 ± 0,81 ^a	8,04 ± 0,86 ^a	8,53 ± 0,72 ^a	9,89 ± 0,32 ^b
C18:3n3	1,26 ± 0,04 ^a	1,11 ± 0,15 ^a	1,05 ± 0,19 ^a	1,86 ± 0,18 ^b
C20:4n6 (ARA)	0,56 ± 0,1 ^a	0,44 ± 0,13 ^a	0,51 ± 0,15 ^a	1,04 ± 0,23 ^b
C20:5n3(EPA)	5,18 ± 0,14 ^b	5,23 ± 0,11 ^b	5,14 ± 0,08 ^b	2,32 ± 0,13 ^a
C22:6n3 (DHA)	12,33 ± 1,14	12,98 ± 0,93	12,02 ± 0,99	11,31 ± 1,95

Las dietas UL-25 y GR-25 no presentan diferencias significativas con respecto al Control, Mientras que la dieta SC-25 es la que mayor impacto tiene sobre el perfil de ácidos grasos

E4. Parámetros del crecimiento

	Tratamiento			
	Control	UL-25	GR-25	SC-25
Peso inicial (g)	29,02 ± 0,03	38,43 ± 0,15	55,93 ± 1,21	49,86 ± 0,14
Peso final (g)	40,43 ± 3,02	52,10 ± 2,31	75,86 ± 3,48	66,24 ± 0,58
Longitud final (cm)	12,25 ± 0,12	14,12 ± 0,50	15,59 ± 0,59	14,98 ± 0,02
WG (%)	33,42 ± 2,78	35,55 ± 6,01	35,63 ± 2,76	32,84 ± 1,16
SGR (%)	0,96 ± 0,07	1,01 ± 0,15	1,02 ± 0,07	0,95 ± 0,03
FCR	0,68 ± 0,12 ^c	0,80 ± 0,20 ^b	1,04 ± 0,05 ^a	1,10 ± 0,03 ^a
PER	4,95 ± 1,31 ^c	3,64 ± 0,57 ^b	2,74 ± 0,13 ^a	2,60 ± 0,09 ^a
K	2,14 ± 0,01 ^b	1,86 ± 0,19 ^a	1,90 ± 0,04 ^{ab}	1,97 ± 0,01 ^{ab}
HSI (%)	6,46 ± 0,13 ^c	3,28 ± 0,54 ^a	3,30 ± 0,27 ^a	4,92 ± 0,48 ^b
VSI (%)	13,55 ± 0,63 ^b	9,61 ± 0,42 ^a	9,23 ± 1,20 ^a	12,33 ± 0,53 ^b

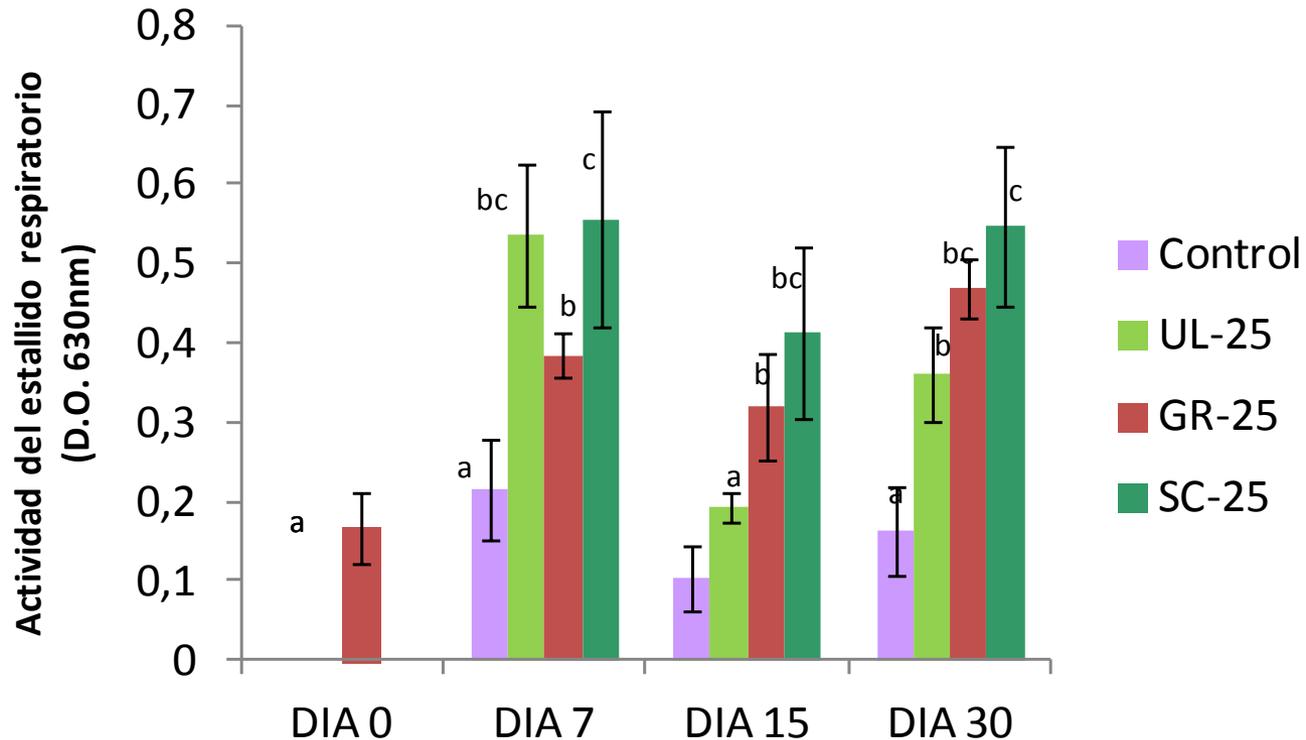
E4: Perfil de ácidos grasos

Hígado	Tratamientos			
Ácidos grasos (%)	Control	UL-25	GR-25	SC-25
C18:1n9	20,72 ± 0,56 ^a	20,45 ± 2,54 ^a	20,63 ± 2,01 ^a	32,16 ± 2,95 ^b
C18:2n6	4,28 ± 0,54	4,95 ± 1,25	4,95 ± 1,58	4,78 ± 0,18
C18:3n3	0,20 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,10 ^a	0,25 ± 0,14 ^a	0,79 ± 0,13 ^b
C20:4n6(ARA)	1,56 ± 0,2	1,44 ± 0,15	1,48 ± 0,13	1,65 ± 0,13
C20:5n3(EPA)	1,06 ± 0,02 ^a	1,10 ± 0,02 ^a	1,11 ± 0,15 ^a	2,14 ± 0,12 ^b
C22:6n3 (DHA)	2,67 ± 0,20 ^b	2,98 ± 0,65 ^b	2,13 ± 0,30 ^b	1,64 ± 0,80 ^a

Músculo	Tratamientos			
Ácidos grasos (%)	Control	UL-25	GR-25	SC-25
C18:1n9	22,19 ± 2,60 ^a	23,4 ± 2,05 ^a	22,11 ± 3,33 ^b	31,97 ± 1,06 ^c
C20:4n6 (ARA)	2,67 ± 0,89 ^a	3,04 ± 0,12 ^a	3,22 ± 0,34 ^a	7,35 ± 0,97 ^b
C20:5n3(EPA)	0,57 ± 0,12 ^a	0,70 ± 0,06 ^a	0,69 ± 0,09 ^a	2,41 ± 0,29 ^b
C22:6n3 (DHA)	12,32 ± 1,45 ^c	10,47 ± 1,16 ^{bc}	10,58 ± 0,95 ^{ab}	16,38 ± 1,19 ^d

E4. Sistema inmune innato

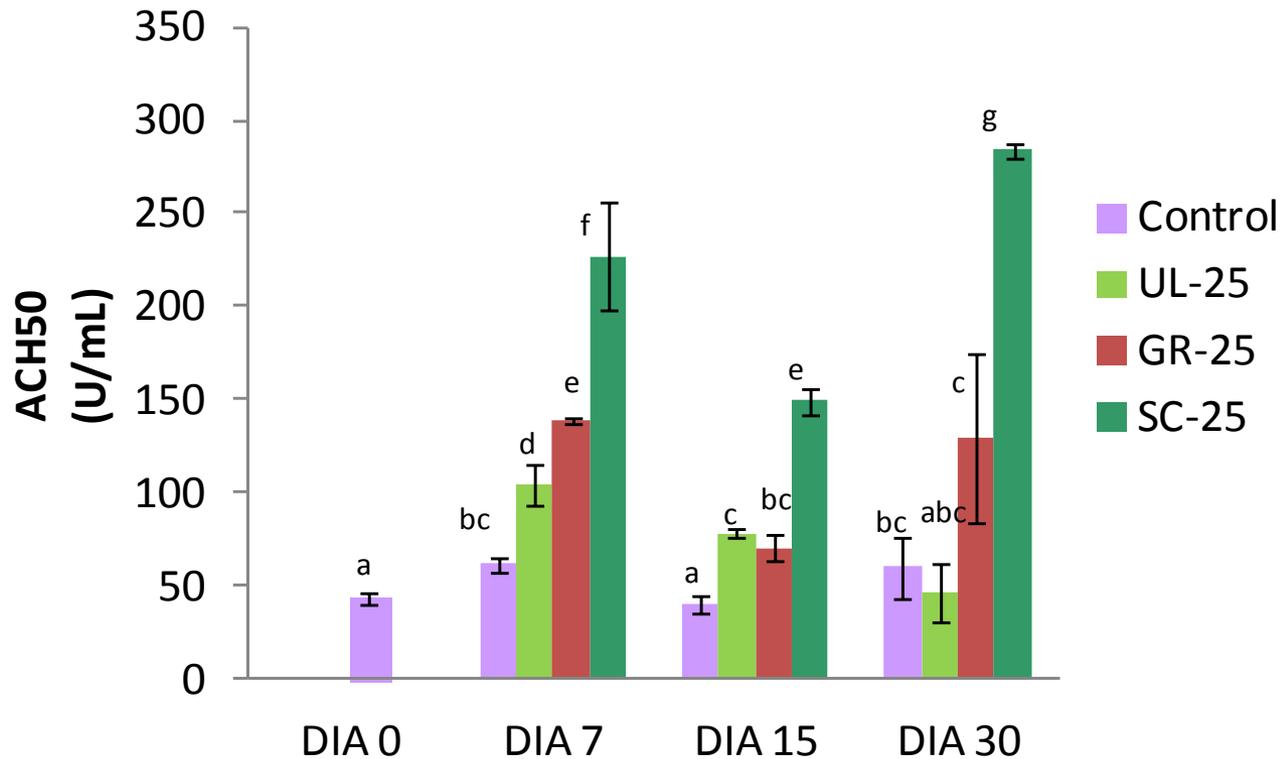
Estallido respiratorio



Todas las dietas y a todos los tiempos muestran una activación significativa de la actividad del estallido respiratorio, destacando *S. almeriensis*.

E4. Sistema inmune innato

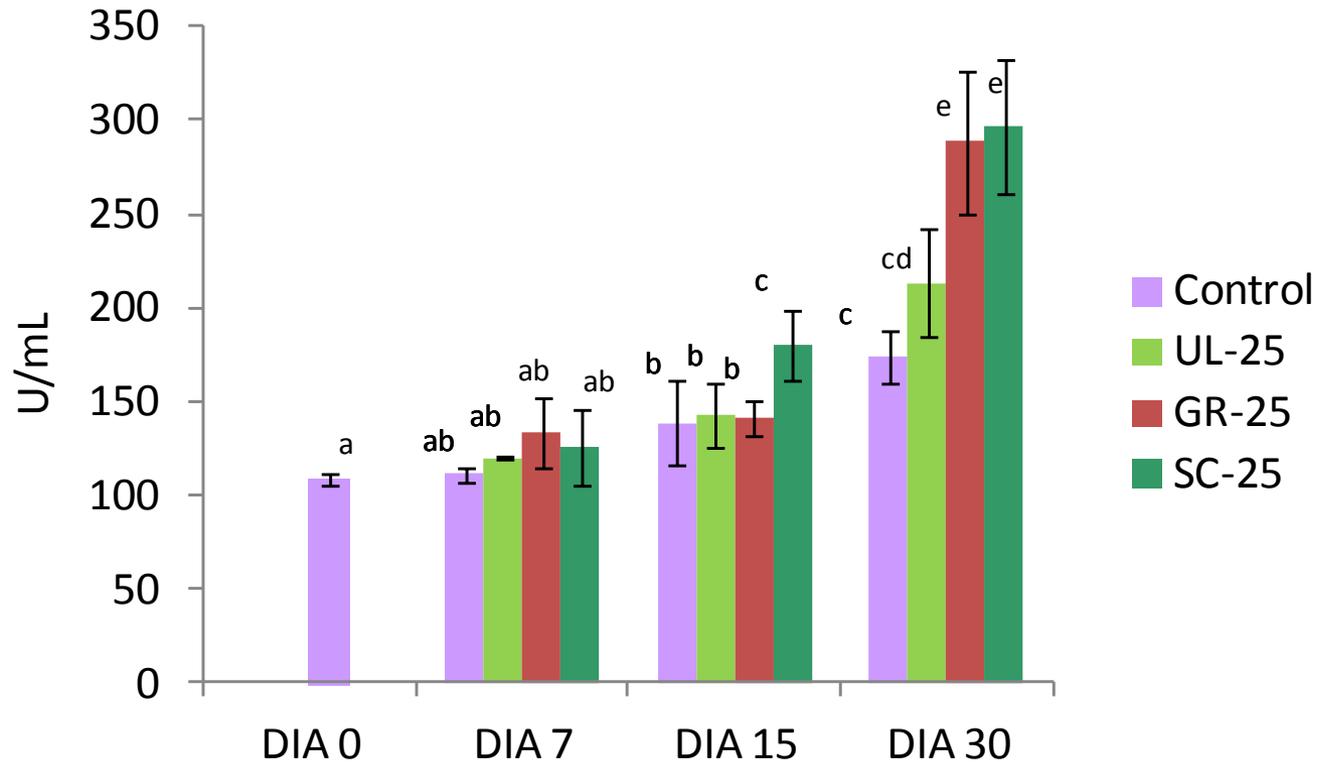
Actividad hemolítica del complemento



Todas las dietas y a todos los tiempos muestran una activación significativa de la actividad del complemento, destacando *S. almeriensis*.

E4. Sistema inmune innato

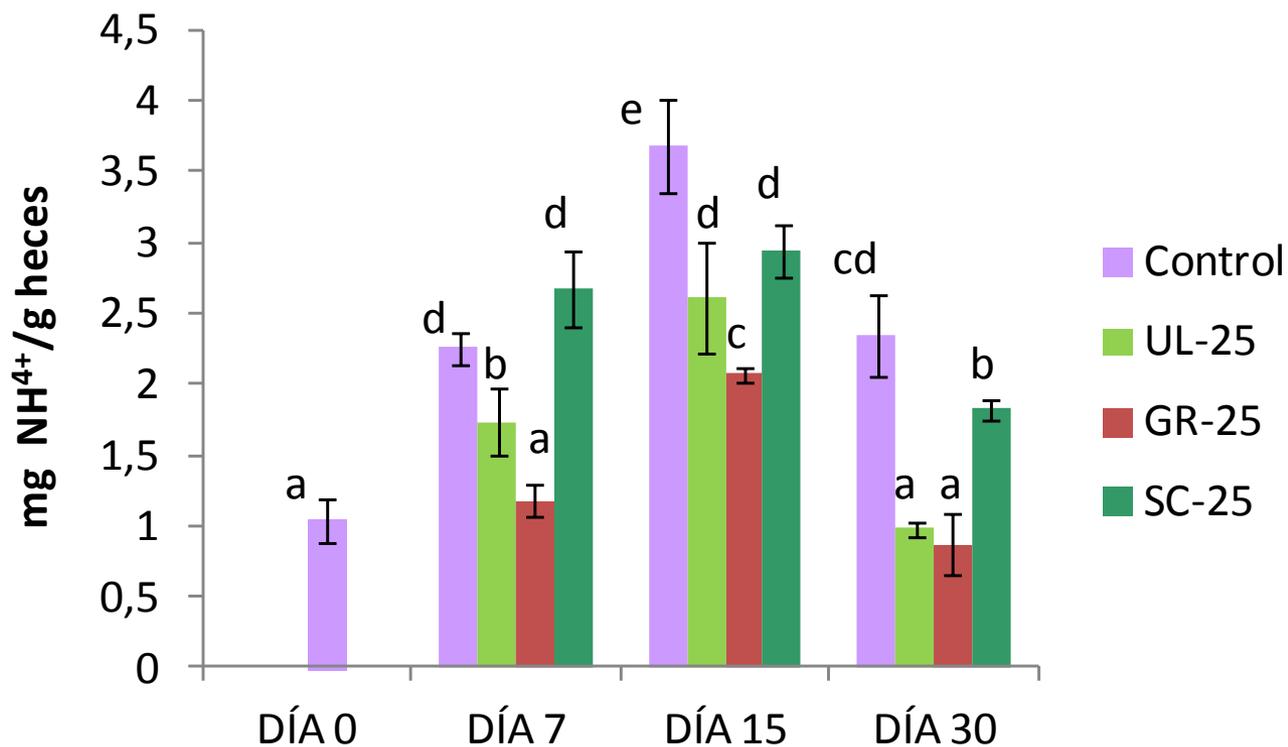
Actividad lisozima



Solo muestran diferencias significativas SC-25 para tiempo 15 y 30, y GR-25 para tiempo 30.

E4. Excreción de amonio

Evaluación del posible impacto ambiental de las dietas



CONCLUSIONES

1. Se recomienda la sustitución de parte de la harina de pescado por un 25% de *Ulva rigida* y *Scenedesmus almeriensis* y su administración a dorada (*Sparus aurata*)

2-. Se ha demostrado que la alimentación durante 30 días de doradas con una dieta que contenía el 25% de *U. rigida* produce un incremento de la actividad del complemento, así como una mayor resistencia al patógeno *Photobacterium damsela* subsp *piscicida*.

CONCLUSIONES

3. *Gracilaria cornea* posee un efecto inmunoestimulador sobre tilapia, en tanto que *Scenedesmus almeriensis* lo tiene sobre dorada y tilapia.

4. Se ha demostrado un fuerte efecto modulador de las algas estudiadas sobre la diversidad y estructura de la microbiota intestinal de dorada. Efecto que se ha comprobado es altamente dependiente del tiempo de administración de la dieta.

20.0 μm

© UT-Austin

Muchas Gracias

UTEX #343
Chlorella fusca var. *fusca*

