

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**



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

- **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.

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.
- Acercamiento en capturas, transporte y manipulación de peces al marino.
- Diseño y aplicación de técnicas de producción de cultivos acuícolas (Molplacion, molino, Armas).
- 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 huevos y alevines de langostino.
- Diseño y aplicación de técnicas de bioencapsulación probiótica en cultivos acuícolas (Molplacion, molino, Armas) 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 in vivo para cultivo de peces.

¿QUIÉNES SOMOS?



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



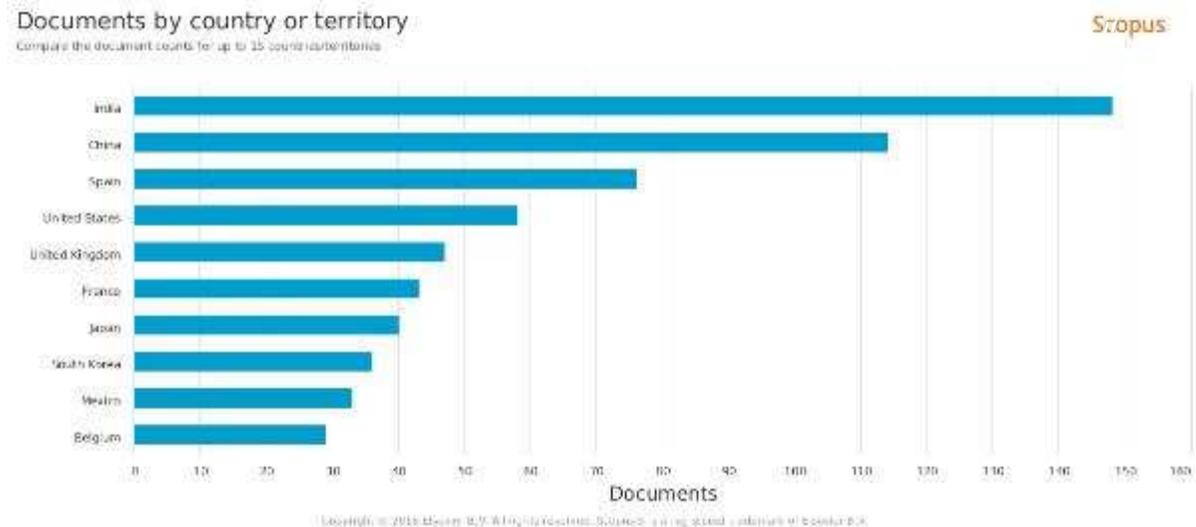
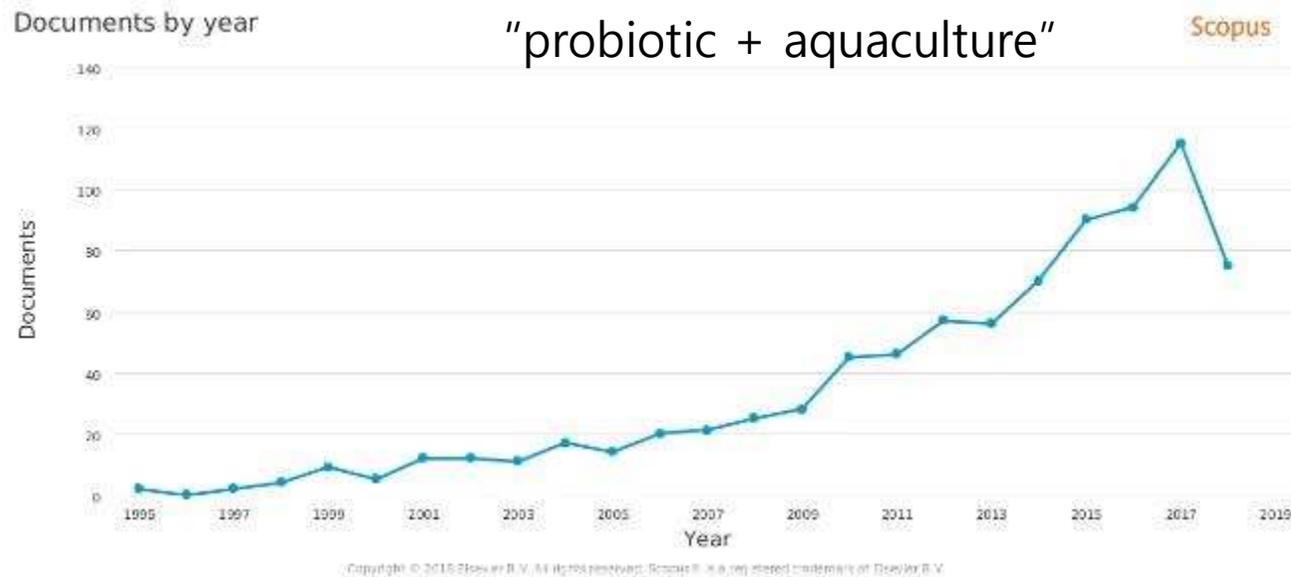
Centro Oceanográfico Gijón



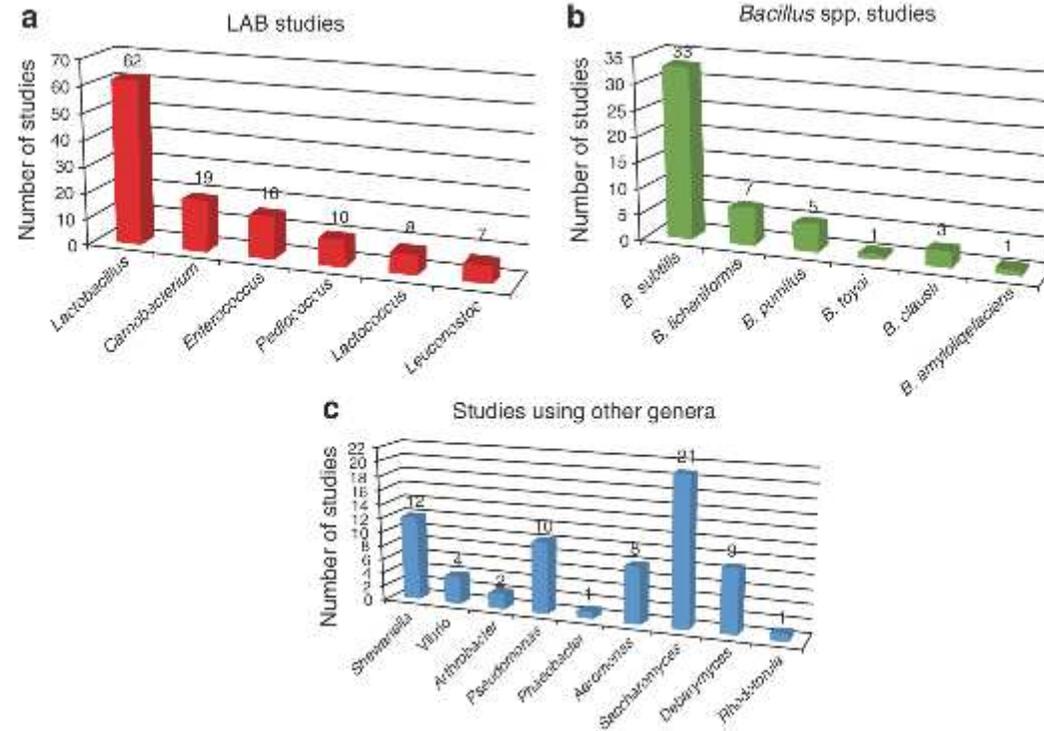
Planta de cultivo de Santander "El Bocal"



Número de publicaciones científicas



Número de estudios *in vivo*



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

- 200 estudios *in vivo* en 20 especies de peces:
- 122 estudios en BAL (*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

Criteria de selección

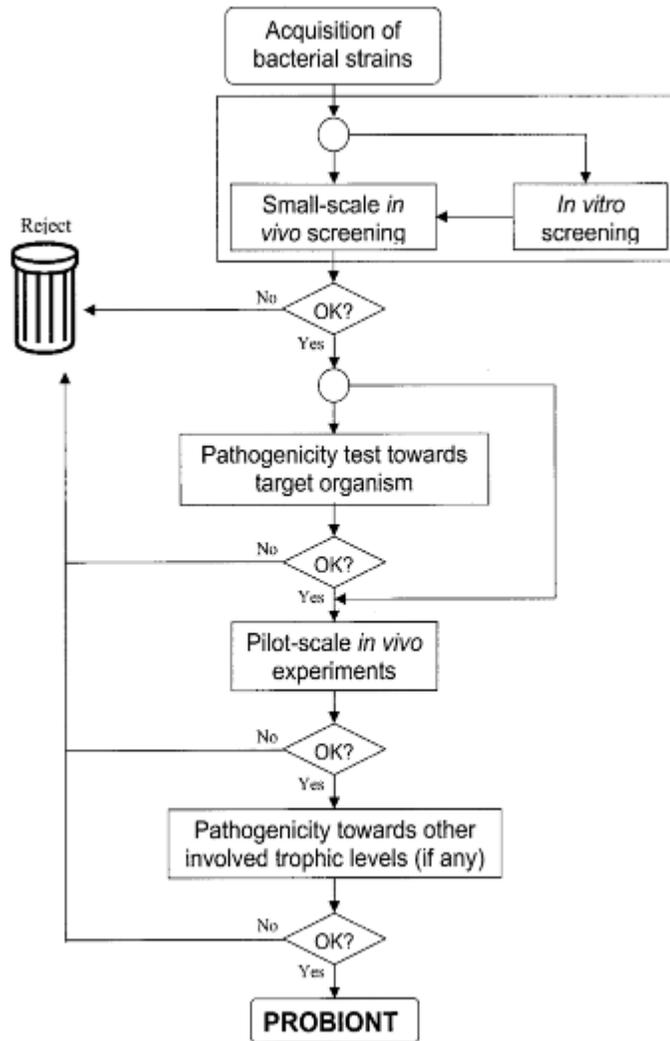
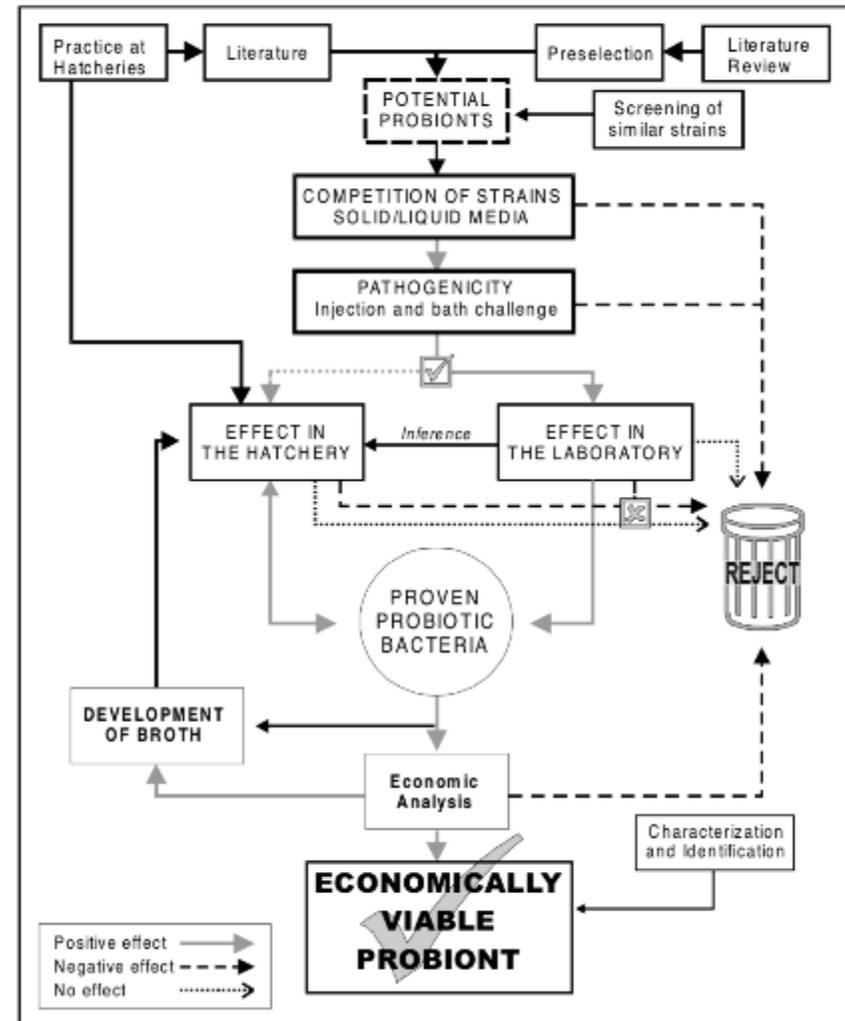


FIG. 1. Rationale for the research and development of probiotics as biological control agents in aquaculture.

(Verschuere *et al.*, 2000)

Figure 1. Flow diagram proposed to select probiotic microorganisms for use in the larval rearing of aquatic organisms.



(Gomez-Gil y Roque, 1998)

Criteria de selección

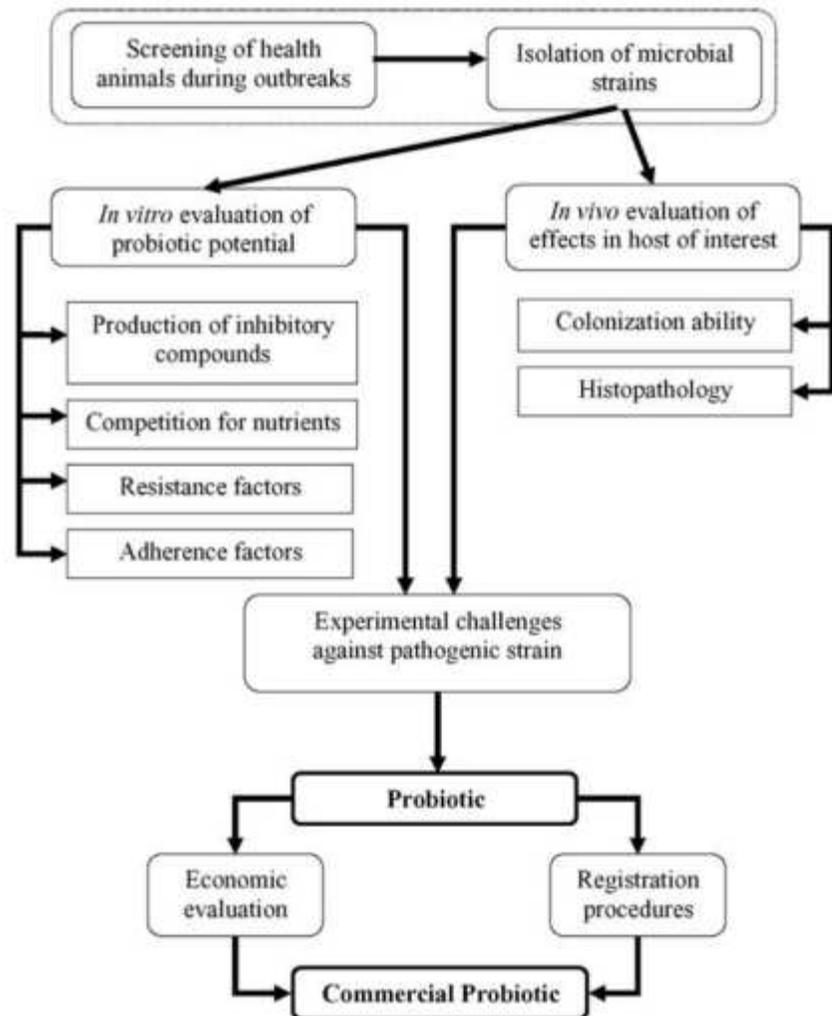
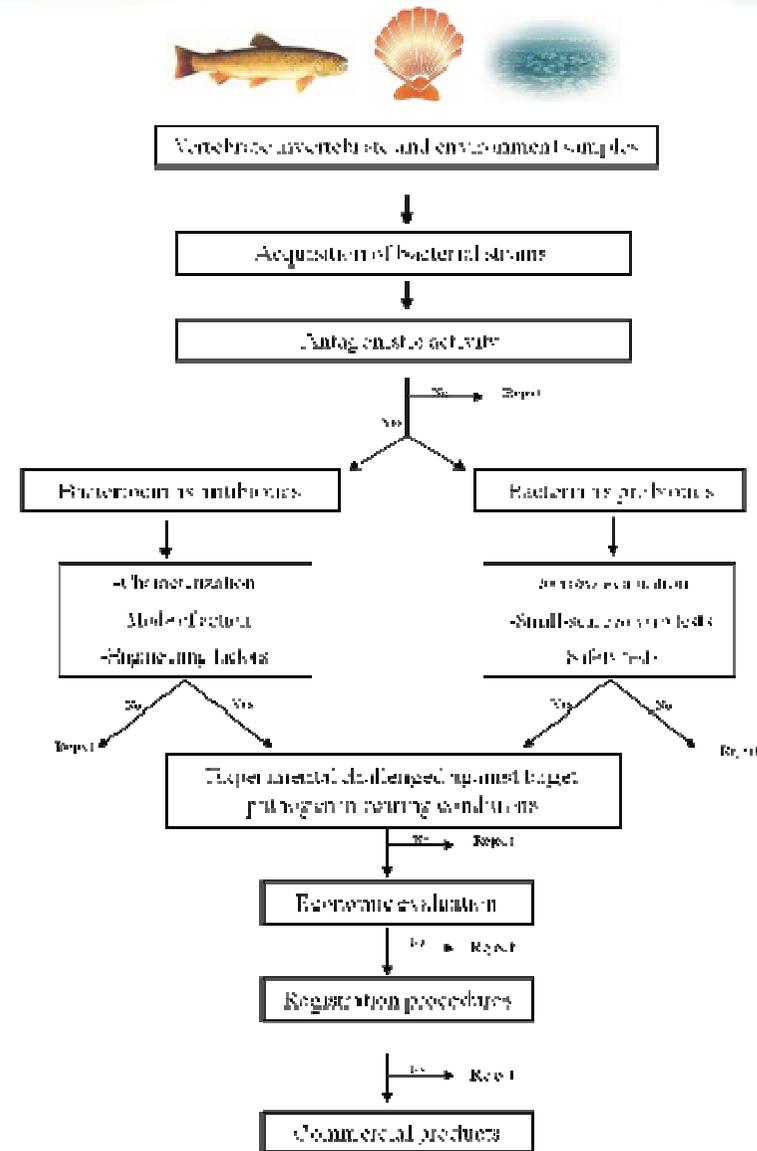


Fig. 1. Diagram for selection of probiotics as biocontrol agents in aquaculture.

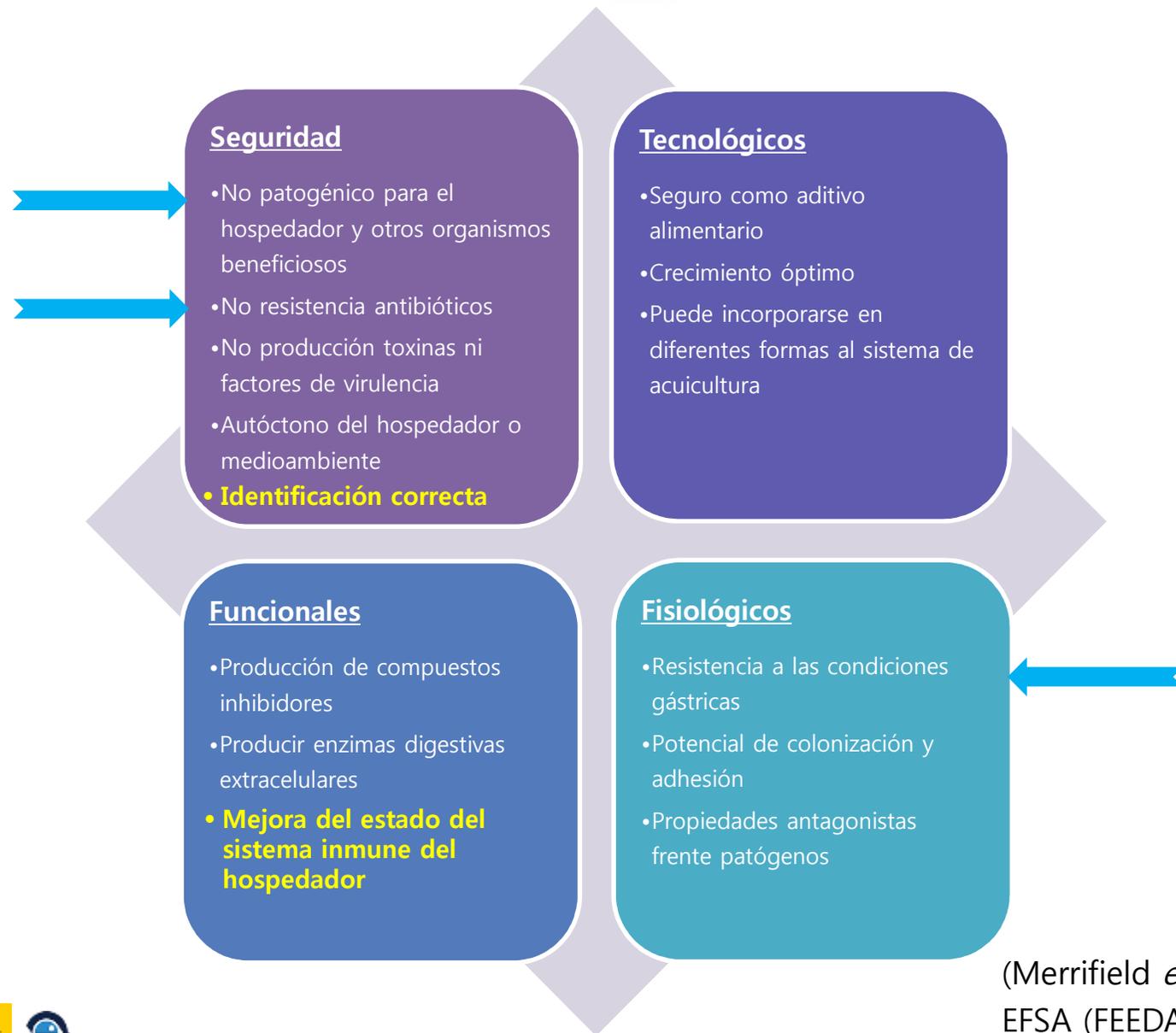


(Desriac et al., 2010)

Criterios de selección



CRITERIOS DE SELECCIÓN: recopilación de información disponible



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

Criterios de selección: Aislamiento de microorganismos

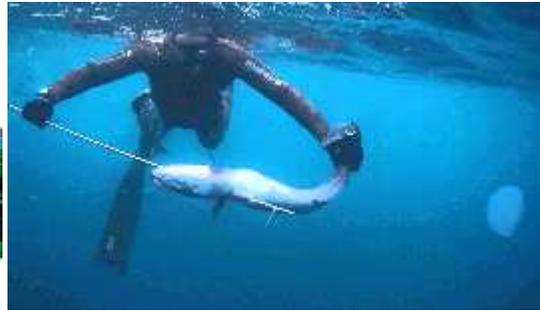
- **Fuentes de microorganismos:**
 - MEDIOAMBIENTE MARINO
 - MISMA ESPECIE ANIMAL
 - OTRO ORIGEN



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



Crterios de seleccin: Aislamiento de microorganismos



TSA + 1,5% NaCl



198 colonias



1 – 7 d'as 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**

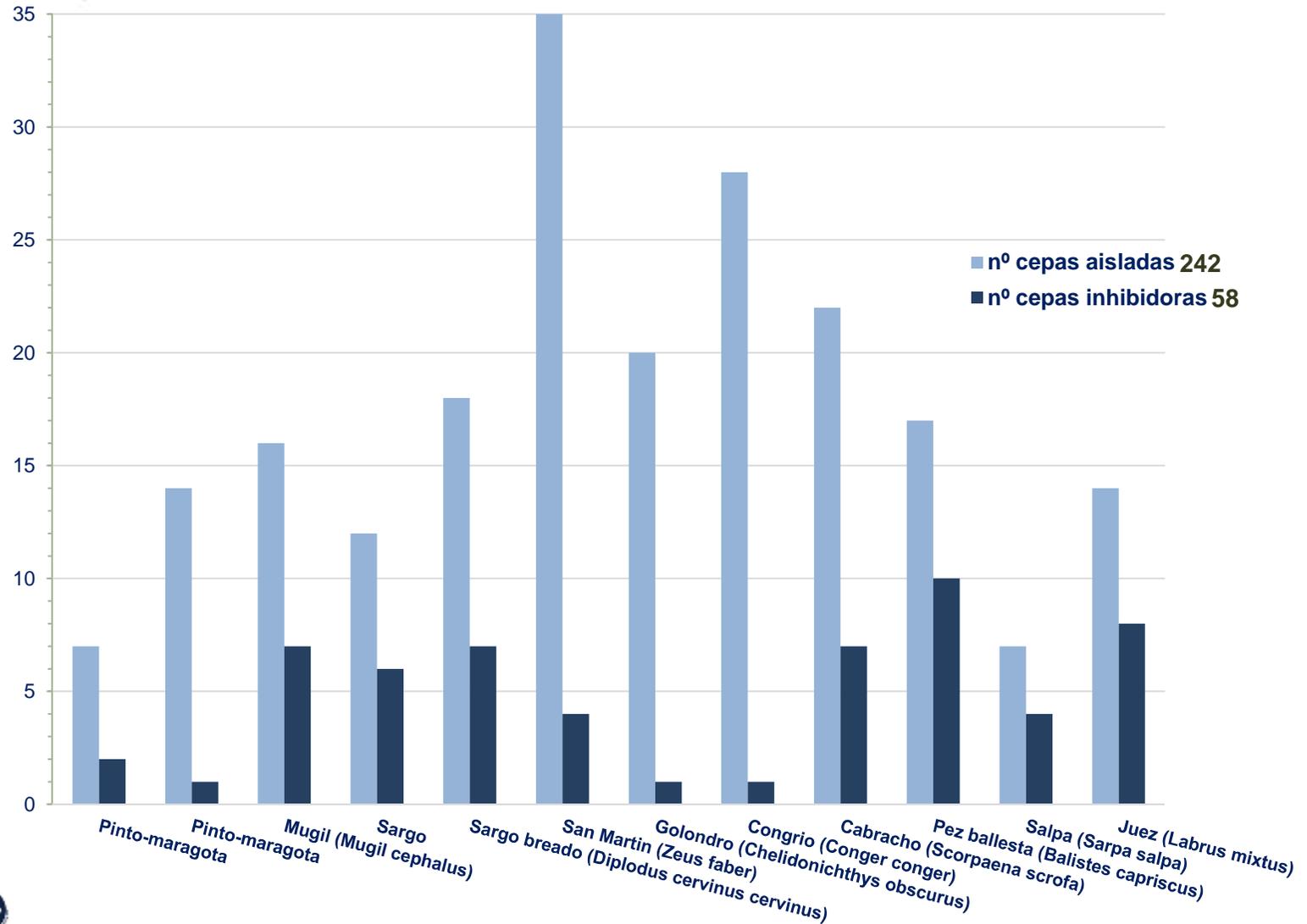
Criterios de selección: Ensayos *in vitro*





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



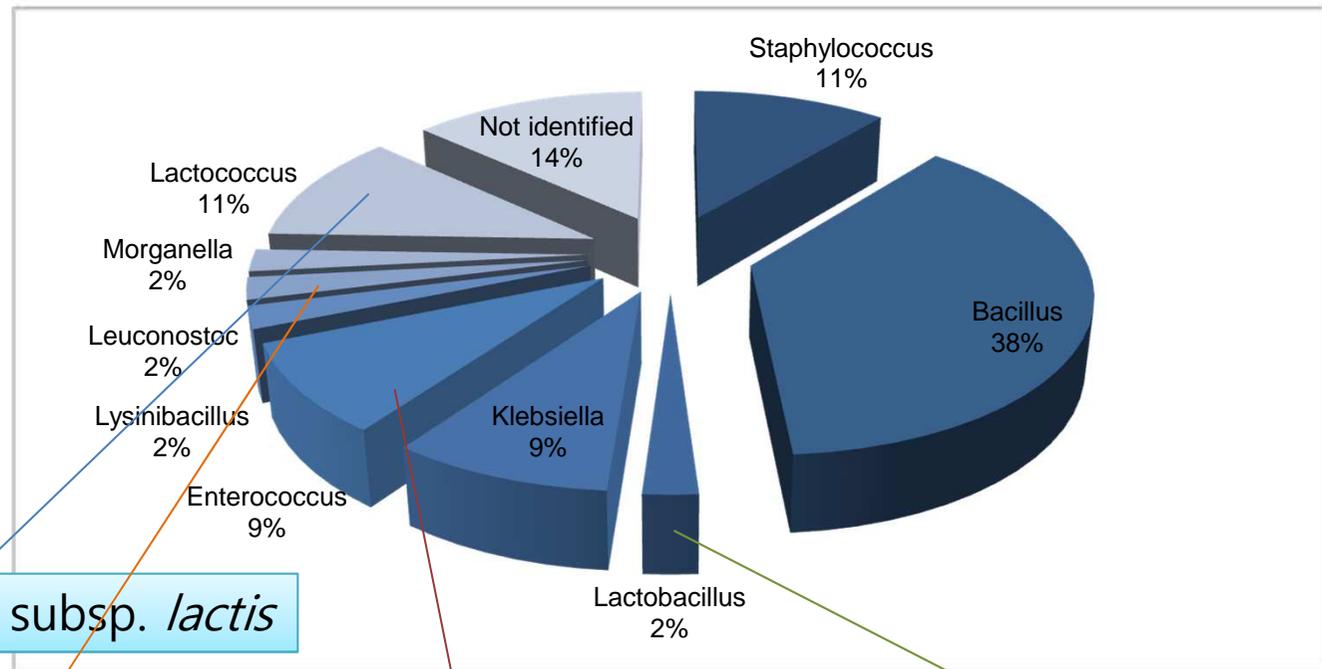


Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

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

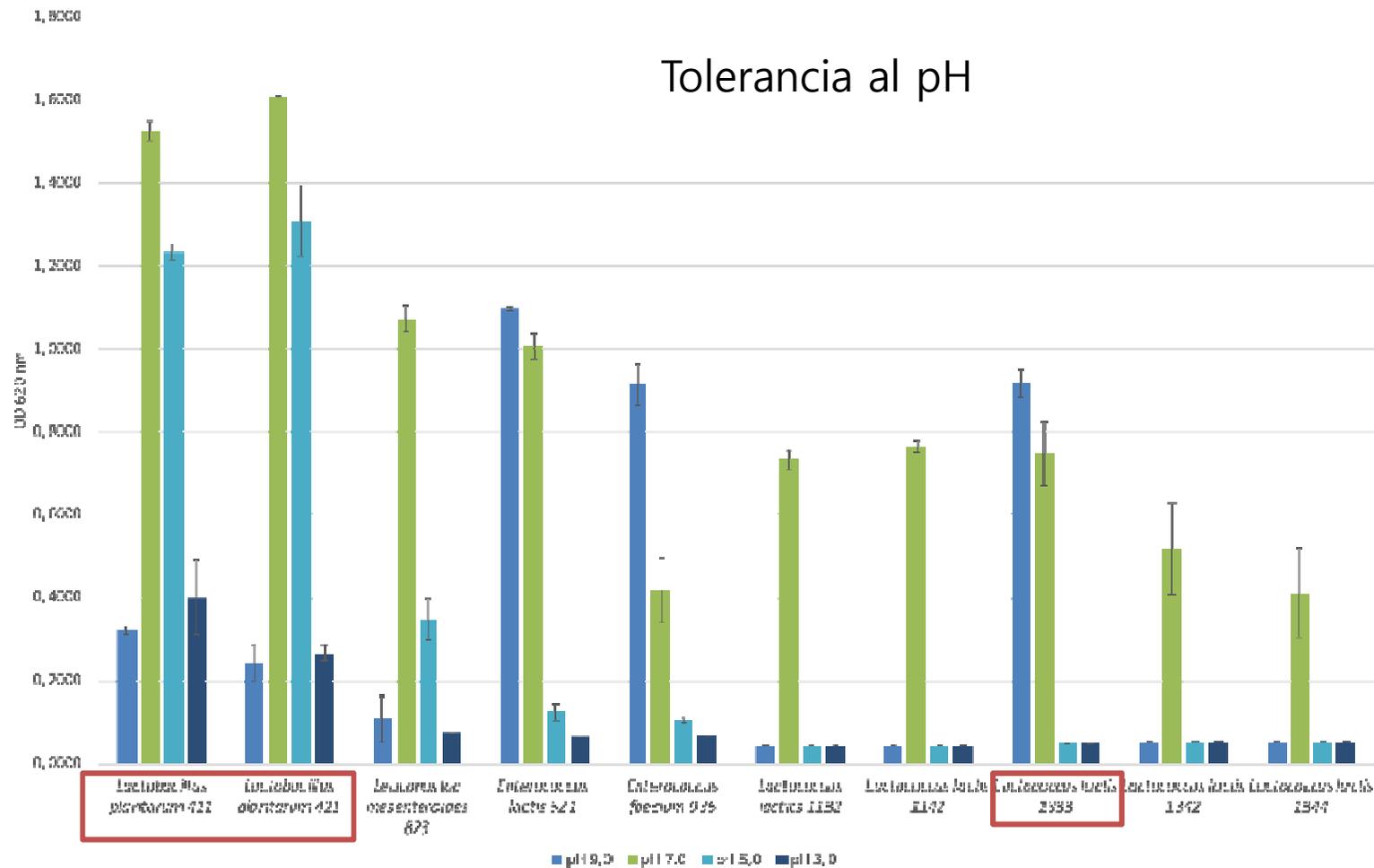


Isolation and Partial Characterization of Lactic Acid Bacteria from the Gut Microbiota of Marine Fishes for Potential Application as Probiotics in Aquaculture

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



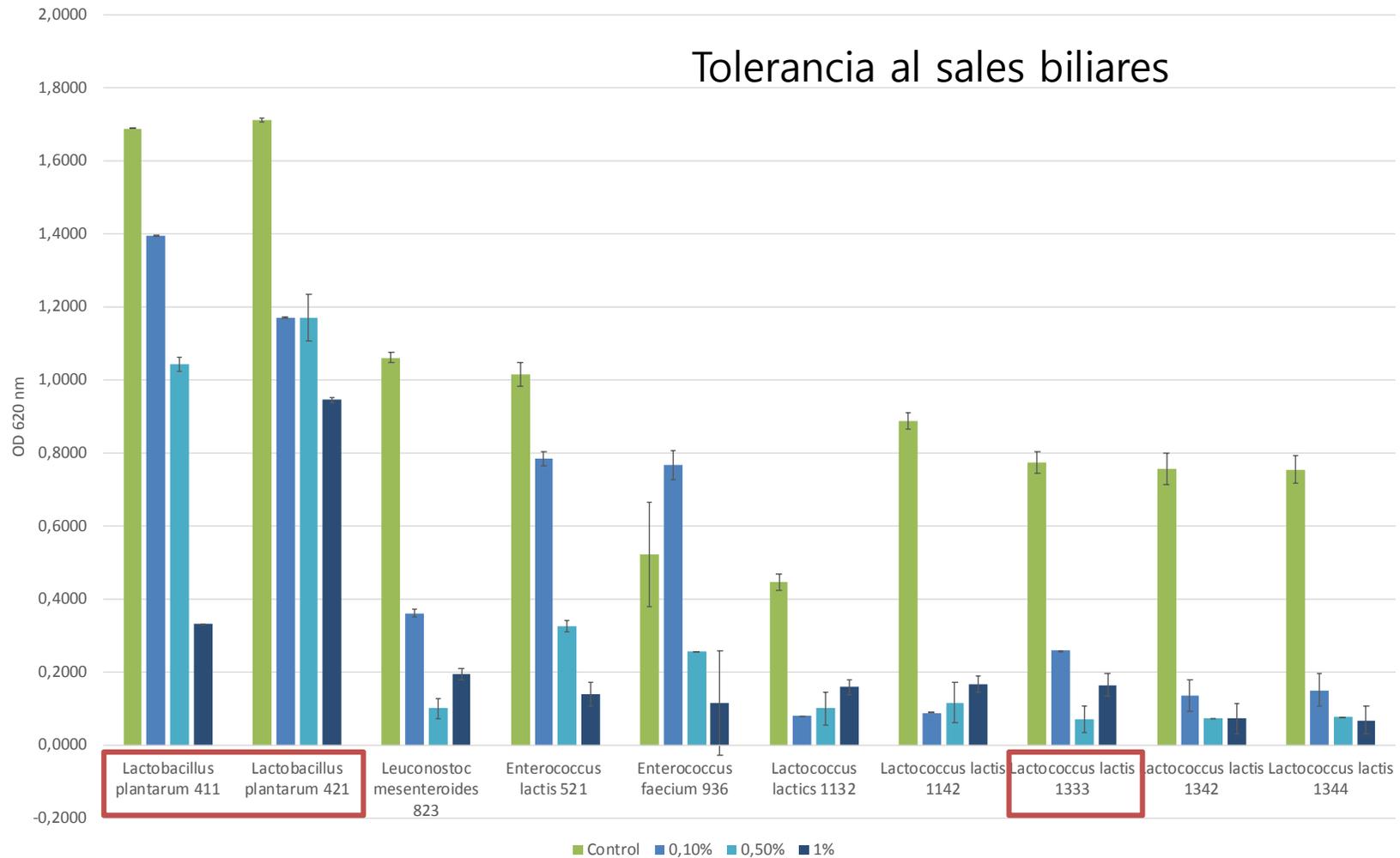
Tolerancia al pH





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

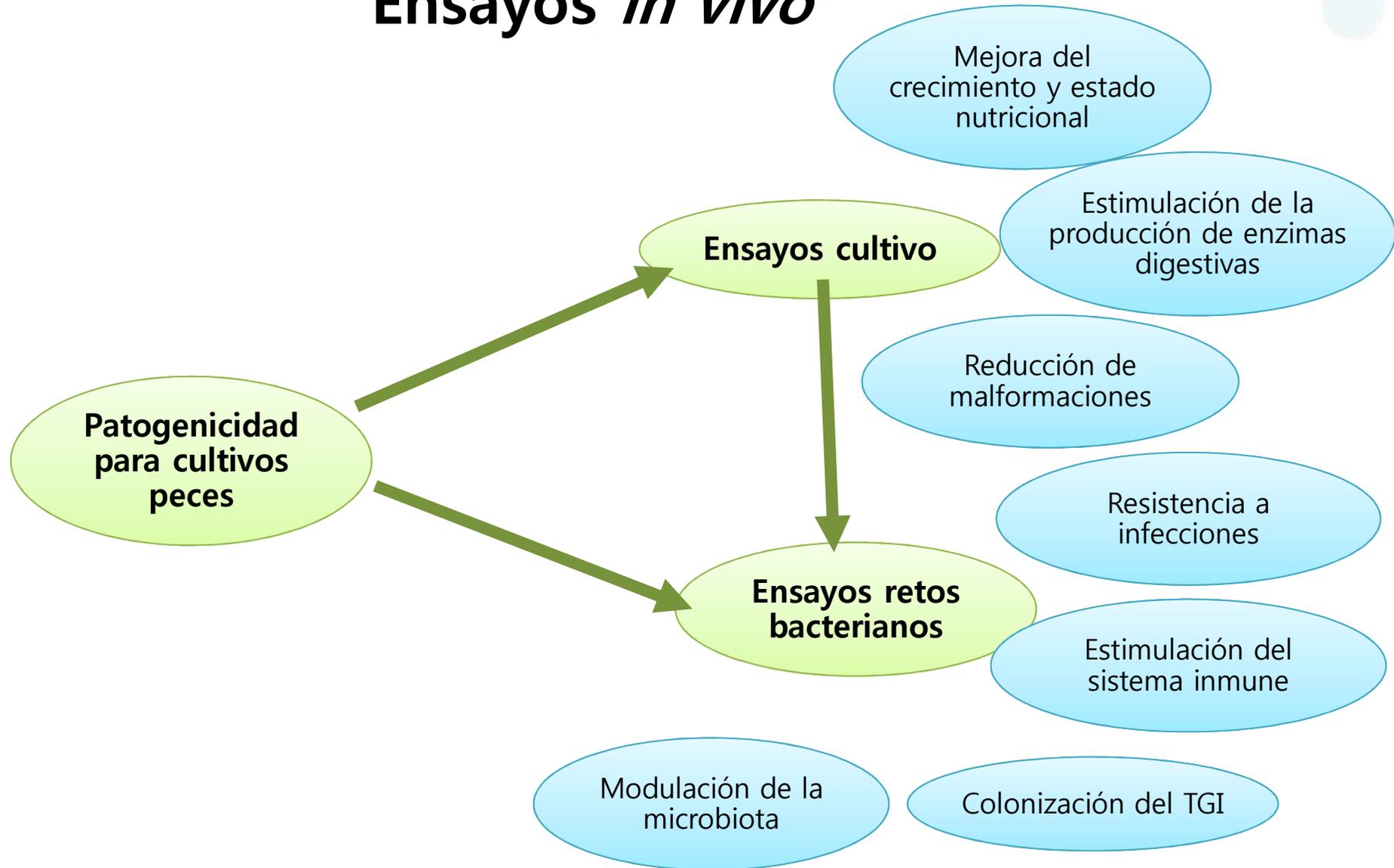


Criterios de selección: Ensayos *in vivo*

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

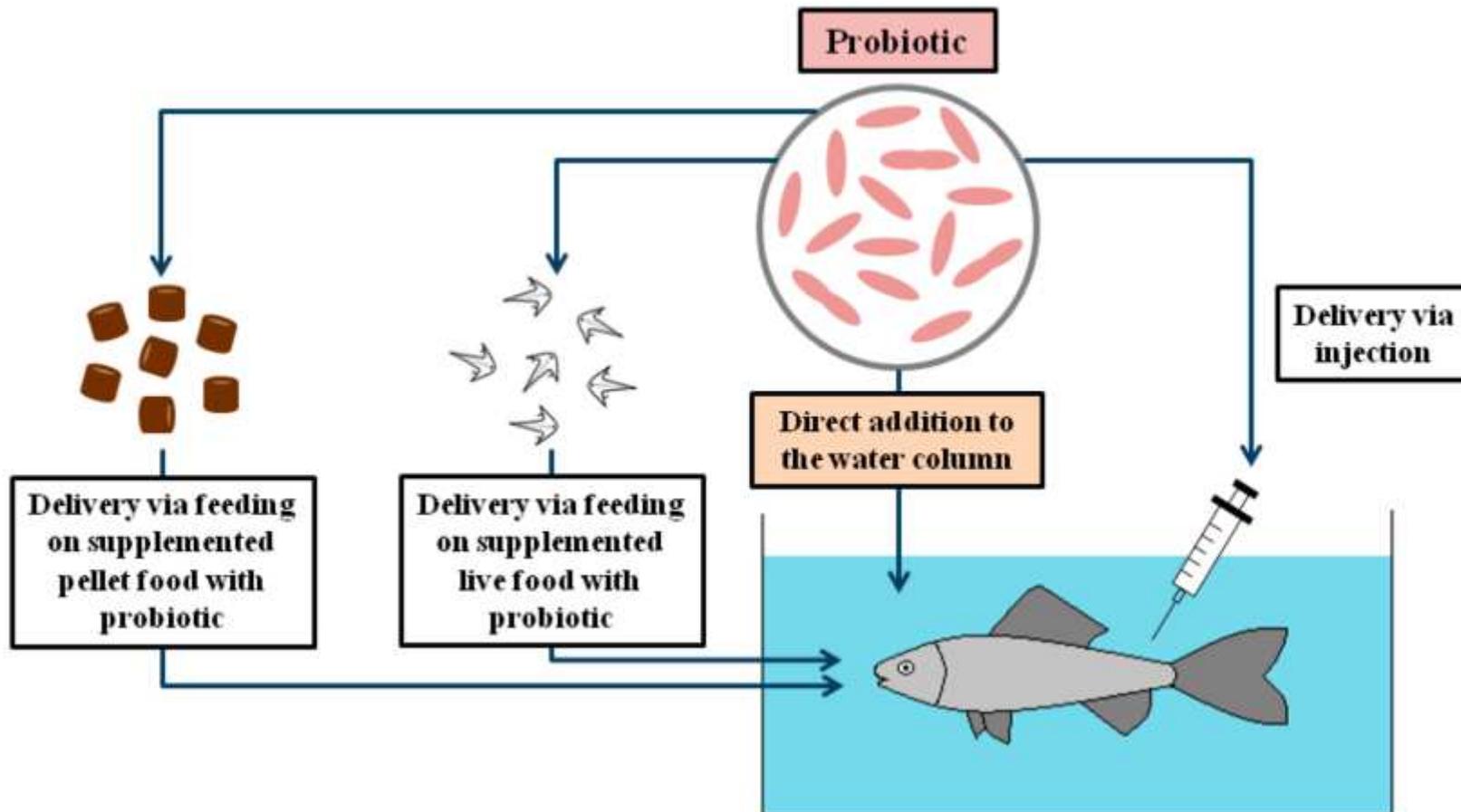
CRITERIOS DE ADMINISTRACIÓN

¿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**

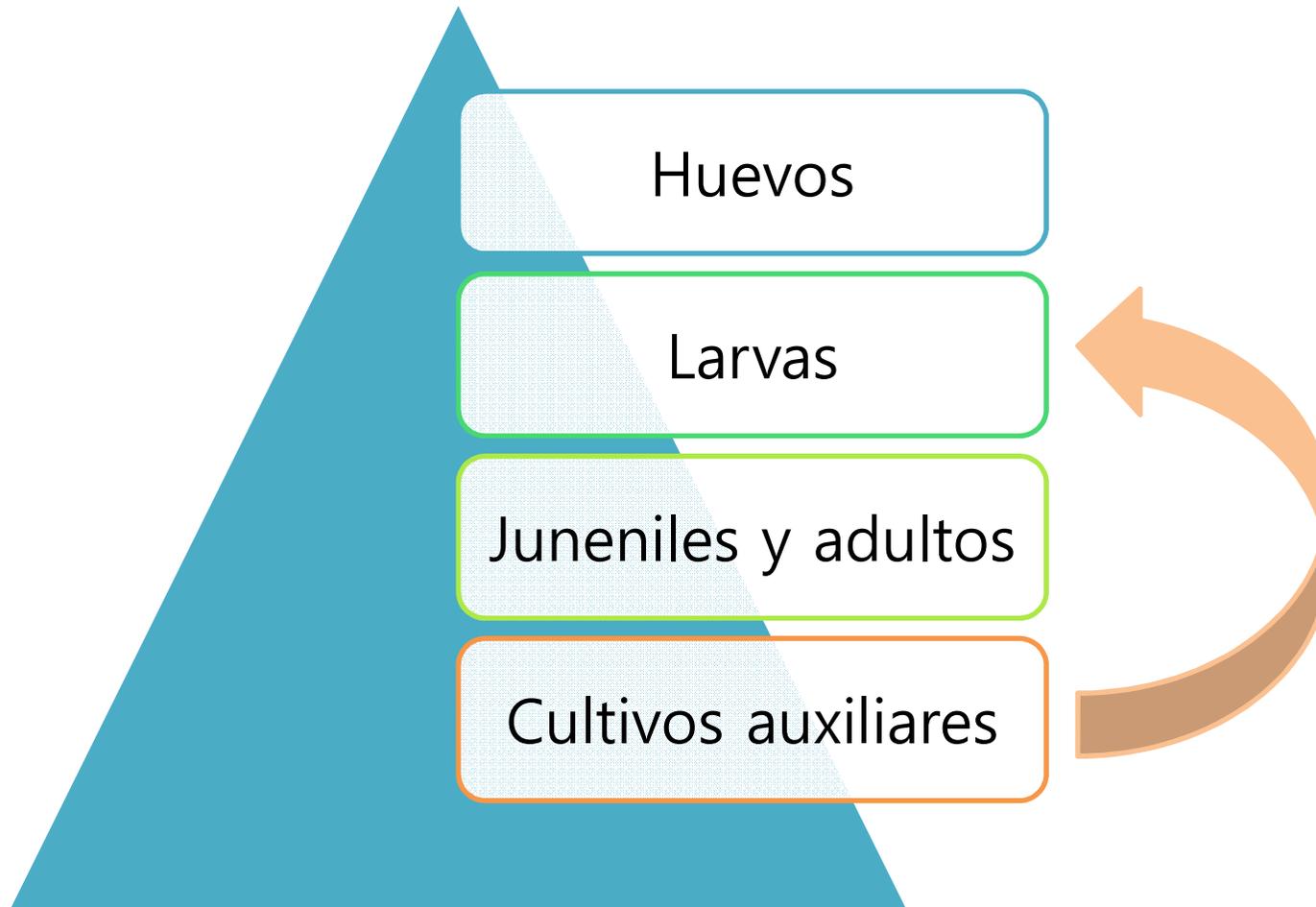
CANTIDAD DE CEPAS/MICROORGANISMOS:

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

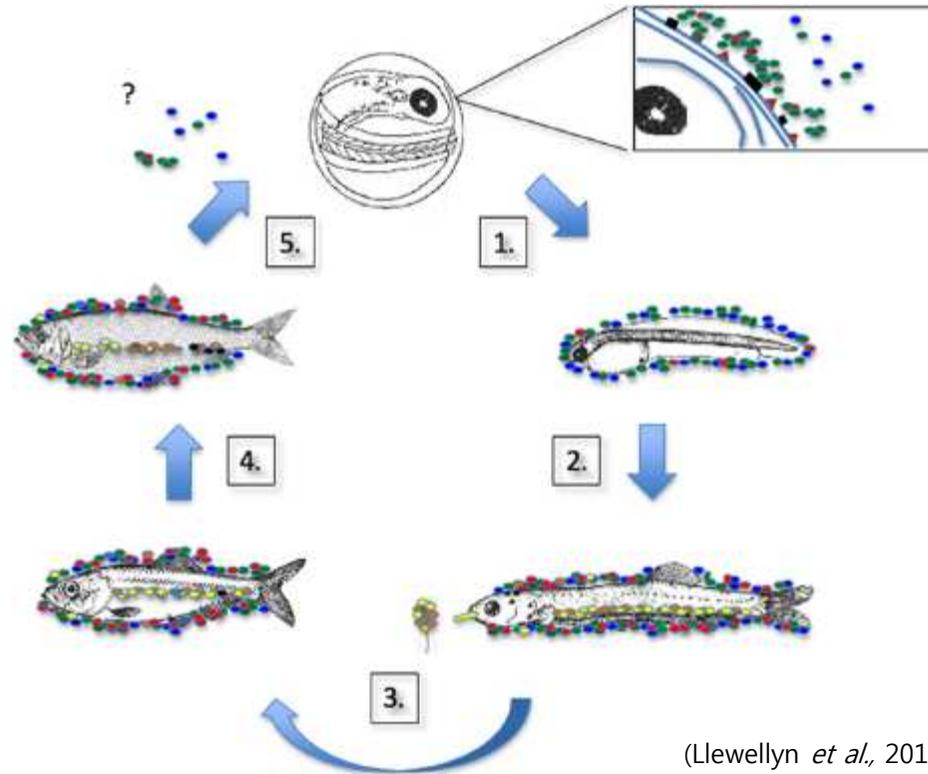
ESTADO DEL PROBIÓTICO:

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

Criterios de administración: ¿cuándo?



Criterios de administración: ¿cuándo?



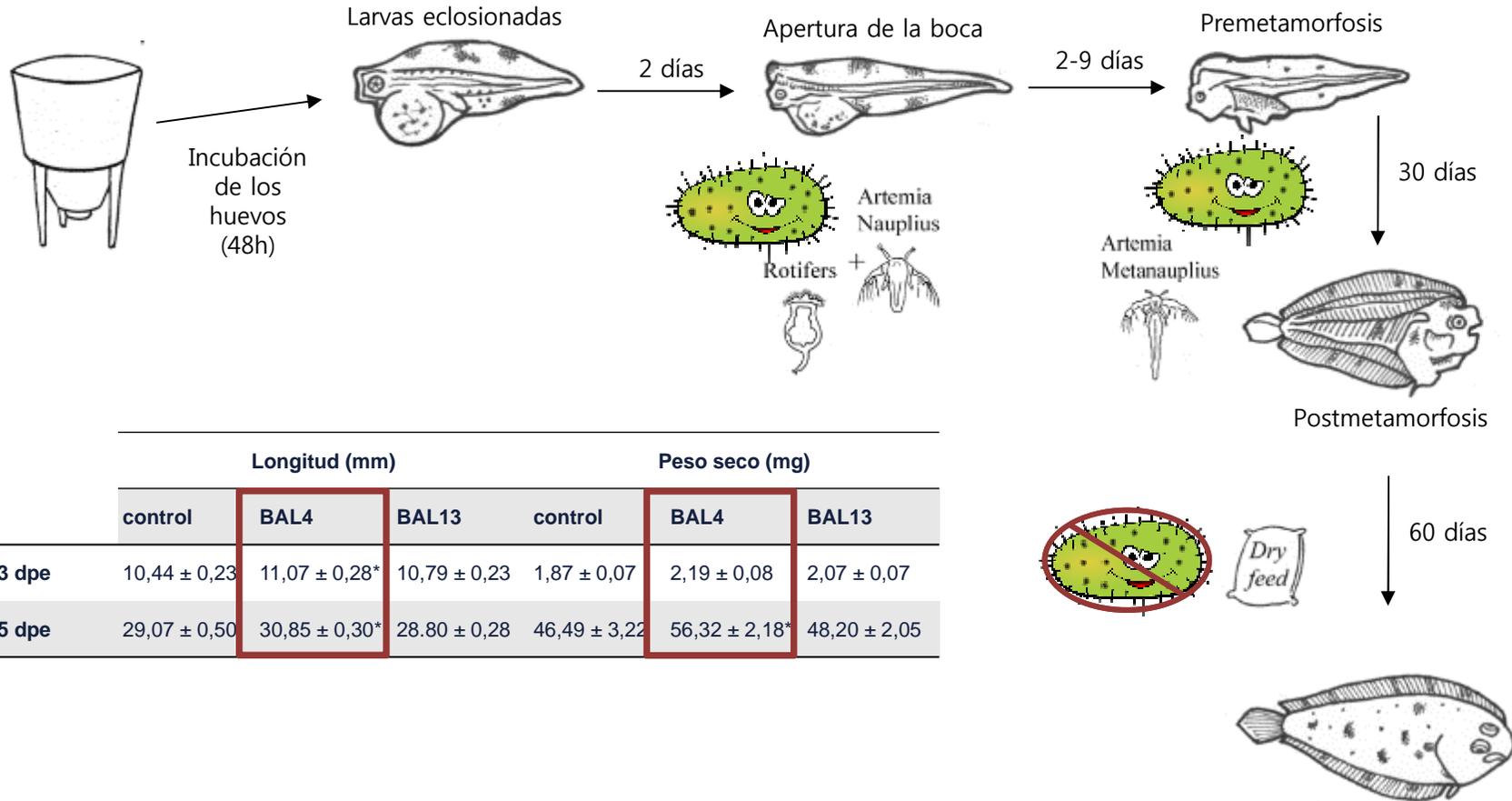
(Llewellyn *et al.*, 2014)

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:

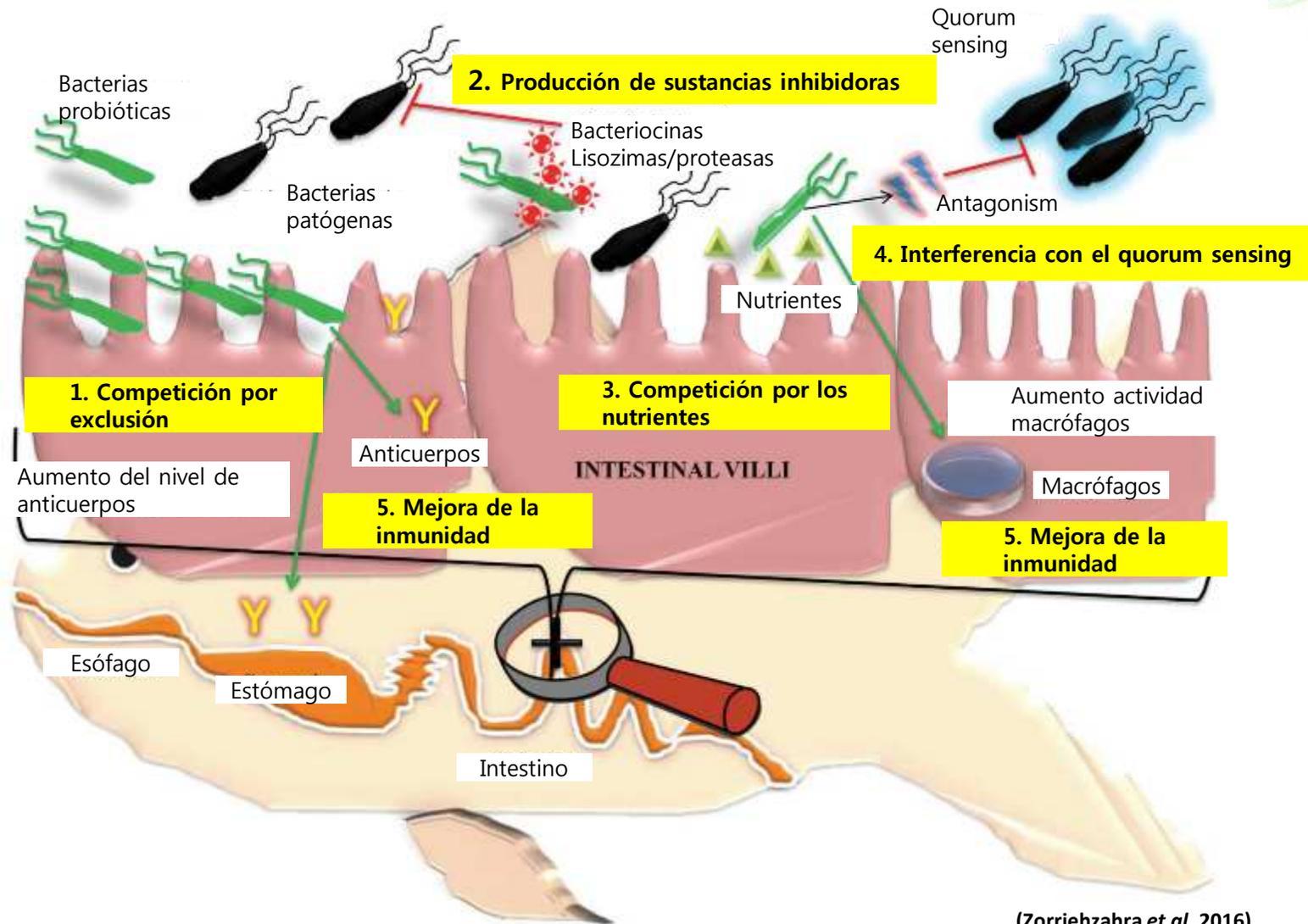
- **MODO DE ACCIÓN DE LOS PROBIOTICOS**
- **MICROBIOMA DE LOS HOSPEDADORES**

Estudio económico de viabilidad

Aprobación y comercialización

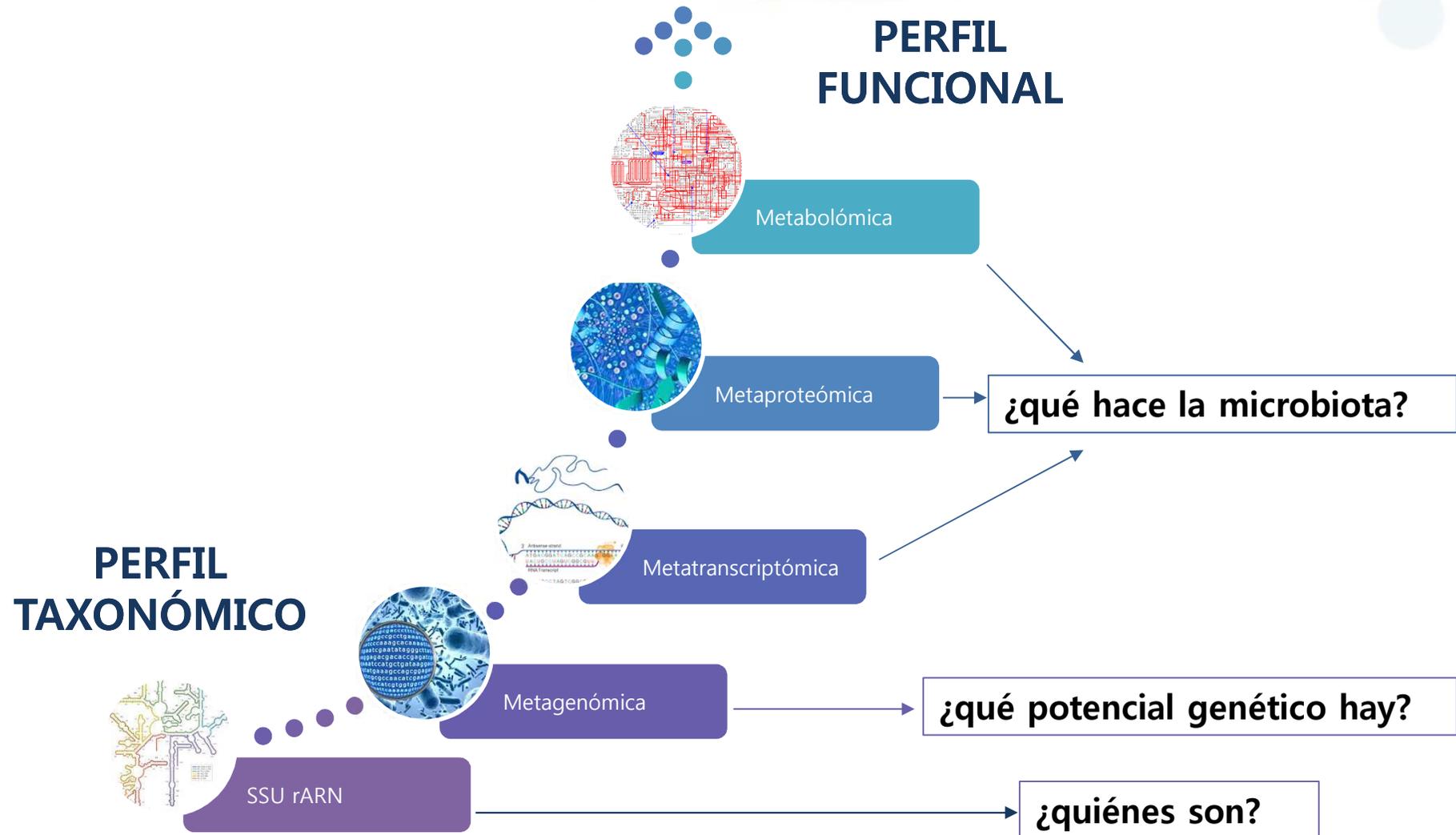
¿Cuánto?

Estudio del modo de acción



(Zorriehzahra *et al.* 2016)

Estudio de la microbiota

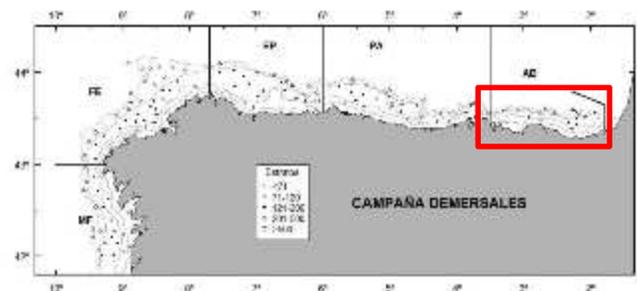


ESTUDIO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE *Solea solea* SALVAJE

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

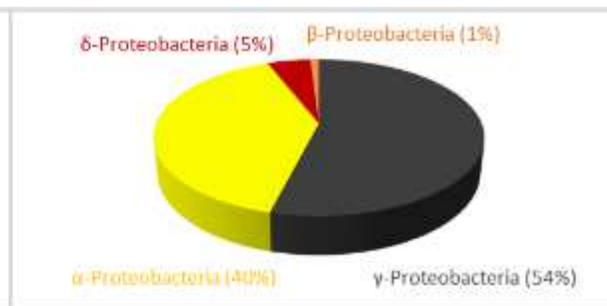
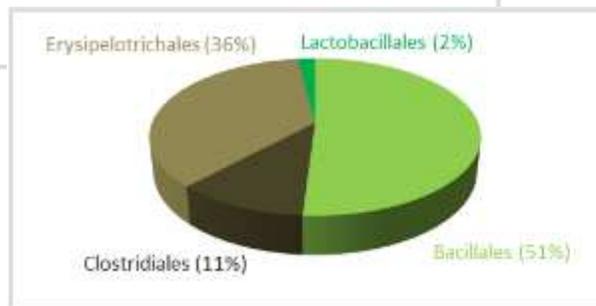
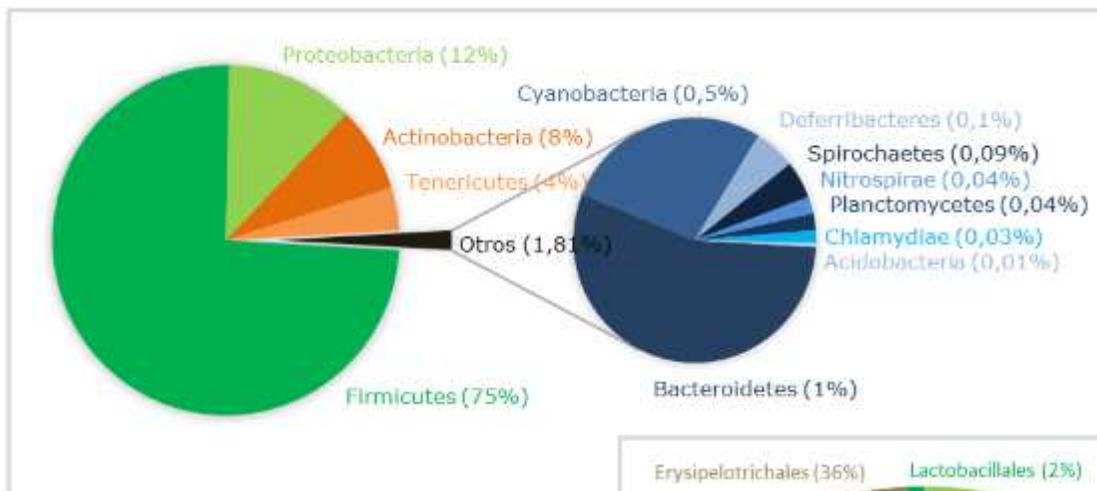


CO DEMERSALES 2017

- 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

