

OBJETIVO 3.1

Mejorar el conocimiento sobre el bienestar de los cultivos mediante el uso de nuevas herramientas e indicadores en un contexto de cambio global.

Conexión con las líneas de actuación del plan nacional

Líneas de actuación A2: Acuicultura sostenible, inteligente y de precisión

Actuación A2.11: Mejora del conocimiento sobre el bienestar de los cultivos y desarrollo de sistemas que permitan monitorizar, de modo continuo y fiable:

- I. Nuevos indicadores de bienestar en condiciones normales de cultivo y durante el proceso de sacrificio (cuando corresponda)
- II. Desarrollo de estrategias para mejorar la ingesta y el aprovechamiento del alimento, el crecimiento, la reproducción y el estado de salud (susceptibilidad a enfermedades) de los ejemplares cultivados.

Descripción de tareas

Tarea 3.1.1 (M1-M24) – Comportamiento y microbiota - Estandarización de la monitorización de parámetros de comportamiento y de la microbiota de piel e intestino para una mejor evaluación y adecuación del estado nutricional y de bienestar de peces en cultivo. Para la evaluación del comportamiento se utilizarán dataloggers (AEFishBIT v3) implantados en el pez para el registro con un alto nivel de resolución de la actividad física, la frecuencia respiratoria y la trayectoria espacial durante varios días (1-7 días). El dispositivo, desarrollado en el proyecto europeo AQUAEXCEL²⁰²⁰, está protegido por patente. Para la secuenciación de las muestras de microbiota se evaluará la conveniencia de diferentes plataformas de secuenciación (Illumina, PacBIO, MiniOn Oxford Nanopore) en base a criterios de coste, precisión e inmediatez de resultados. En paralelo, también se analizarán muestras de agua (ADN ambiental) para evaluar mediante técnicas de “metabarcoding” la abundancia de organismos en el medio de cultivo, así como el efecto de factores bióticos y abióticos sobre la presencia en el agua de ADN de la especie cultivada como indicador de biomasa, erosiones dérmicas y estado general de la población en cultivo.

Responsable: CSIC1

Resultado: Se han utilizado bio-loggers implantados externamente en el opérculo para la monitorización de la actividad física y frecuencia respiratoria de peces en cultivo. El dispositivo, inicialmente desarrollado en el Proyecto Europeo AQUAEXCEL2020 y protegido por patente (P201830305), ha mejorado notablemente sus prestaciones tras el desarrollo de un nuevo software de programación. El

sistema de anclaje del dispositivo, con pequeñas variaciones de acuerdo con el nivel de osificación del opérculo, ha sido validado en dorada, lubina, trucha y salmón. En todos los casos, los niveles basales de actividad física y respiratoria se recuperan rápidamente, lo que permite un inicio rápido de toma de datos (2.5-7 h post-anclaje).

Se ha validado el uso del 16 S Barcoding Kit en un dispositivo portátil MinION para el análisis en tiempo real y a bajo coste de la composición de la microbiota de muestras de agua y del mucus de la piel de peces en cultivo (dorada, lubina). En el caso de muestras de intestino, se ha evidenciado una pérdida sistemática de algunos grupos taxonómicos en comparación con los resultados de Illumina. Estos resultados confirman los ya publicados en colaboración con el Grupo de Patología del IATS (CSIC3) (Toxqui-Rodríguez et al., Aquaculture 2023). En base a ello, se recomienda la evaluación de nuevos cebadores y/o reservar el uso de la plataforma Illumina y aproximaciones “shotgun” para caso concretos en los que sea preciso caracterizar grupos taxonómicos específicos. En paralelo, se ha correlacionado la abundancia a nivel intestinal de *Brevinema* con el nivel de estrés térmico en dorada, lo que también es informativo de la eficacia de medidas correctoras a nivel nutricional, asociadas al uso de agentes emulsionantes. Asimismo, y en colaboración con el grupo CSIC2 (WP2), se han evaluado los efectos de la nutrición y la genética sobre la reversión sexual en dorada, lo que ha confirmado la idoneidad de la proporción de sexos en dorada como marcador retrospectivo del bienestar animal en un determinado sistema de producción (Holhorea et al., Frontiers in Vet. Science, 2023).

Grado de consecución: 75%

Impacto: Se ha avanzado en la puesta a punto de la evaluación de la respuesta de peces en cultivo mediante el uso de bio-loggers, así como en el uso de nuevos e indicadores de bienestar basados en la proporción de sexos y en la estandarización de técnicas rápidas y de bajo coste de caracterización de la microbiota, lo que ha comportado la publicación de 3 artículos en revistas de alto impacto.

Tarea 3.1.2 (M1-M24) - Cortisol dérmico - Validación del uso de medidas de cortisol en escamas como indicadores de estrés crónico en especies mediterráneas (dorada, lubina, seriola y corvina) en cultivo. Se desarrollarán métodos para la determinación inmunoenzimática de cortisol que serán validados para los plasmas de las diferentes especies objetivo. Se validarán métodos químicos de extracción de la hormona a partir de las matrices tisulares mediante la utilización de diferentes solventes orgánicos, analizando los extractos obtenidos en ensayos de paralelismo. Se estudiará la zonación de acumulación hormonal en escamas y/o cartílago proveniente de diferentes regiones de la anatomía del animal y mediante experimentos de estrés crónico se validará el efecto de este sobre la acumulación de hormona en las zonas más críticas de las diferentes especies. Además, se realizarán comparaciones del nivel de acumulación con animales salvajes de talla similar. Una vez desarrollados estos métodos y validada la acumulación hormonal dependiente del estrés se estudiará la acumulación de cortisol durante el ciclo vital hasta la obtención de la talla comercial, así como el efecto de la densidad de cultivo de animales y variaciones de los parámetros ambientales sobre la dinámica de acumulación.

Responsable: CSIC7

Resultado: Se han desarrollado y validado métodos de extracción y de determinación inmunoenzimática de cortisol en escamas y/o cartílago (aletas) como indicadores de estrés crónico en dorada, lubina, seriola y corvina. Además, se ha estudiado la zonación de acúmulo, concluyendo que las aletas acumulan niveles hormonales más elevados que los registrados en las escamas, y que no existen diferencias en la acumulación en escamas de diferentes partes corporales. Se han realizado experimentos de estrés crónico para demostrar el acúmulo en dorada y corvina. Las muestras obtenidas están siendo ensayadas actualmente.

Adicionalmente (colaboración con WP1_UV4) se ha profundizado en la caracterización metabolómica de nuevos indicadores de estrés crónico en escamas de dorada, lubina y corvina. Hasta ahora se han realizado estudios “long range” para un análisis comparativo, utilizando diferentes métodos de procesado y extracción de las muestras. Se están analizando muestras de dos experimentos de estrés

crónico realizados en dorada y corvina.

Grado de consecución: 50%.

Impacto: Los resultados obtenidos en el grupo de investigación propiamente dicho o en colaboración (UJI-IRSLab, WP6_UJI2) han sido publicados en revistas de elevado índice de impacto situadas en los primeros cuartiles del área de investigación, y se han presentado en congresos internacionales.

Tarea 3.1.3 (M3-M20) - Seguimiento del perfil de ácidos grasos - Se aplicará un método de predicción y seguimiento del perfil de ácidos grasos de peces de acuicultura basado en el análisis de las escamas que se encuentra en la actualidad en proceso de estudio de patentabilidad. El método permite hacer el seguimiento de los perfiles de ácidos grasos durante el ciclo productivo de peces como la lubina, la dorada, la corvina, etc... Se aplicará en aquellos escenarios experimentales que impliquen un efecto de la dieta sobre la composición final del pez (efectos de piensos de sustitución), y durante el proceso de maduración y puesta (control de reproductores) para monitorizar el efecto de las dietas de maduración y los posibles eventos de movilización de ácidos grasos esenciales a lo largo del periodo de puesta. El seguimiento de los perfiles de ácidos grasos esenciales permitirá asimismo complementar el control del bienestar animal junto a las metodologías "ad hoc". En su caso, la metodología permitirá asimismo la trazabilidad del producto final en tareas de control de calidad y detección de fraudes.

Responsable: CSIC8

Participantes: CSIC1

Resultado: Se ha efectuado la solicitud de la patente: Navarro et al. (2022). Procedimiento no invasivo para predecir el perfil de ácidos grasos en músculos de peces (España núm. de patente: 202231056). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Oficina Española de Patentes y Marcas, habiéndose iniciado contactos con entidades interesadas en la comercialización de la misma. Esta invención hace referencia a un método rápido, no invasivo e incruento para predecir el perfil de ácidos grasos en el músculo de peces sin necesidad de sacrificarlos, así como a las aplicaciones de dicho procedimiento. Se basa en el análisis rápido de los perfiles de ácidos grasos de las escamas de peces y en el paralelismo de los mismos con el del músculo. En esta tarea se ha afinado el método y se ha trabajado en la elaboración de la solicitud de patente del mismo. En coordinación con la Tarea 2.1.4 (WP2_CSIC2), se ha estudiado la calidad en términos de su composición en ácidos grasos del filete de la lubina, teniendo en cuenta tanto el sexo de los animales como el grado de madurez.

Grado de consecución: 40%

Impacto: El desarrollo de un método incruento para hacer el seguimiento del perfil de ácidos grasos en peces ha resultado en una patente que en la actualidad está en vías de comercialización por parte del CSIC. No es descartable que en función de intereses estratégicos se opte por otro modelo de explotación industrial. En cualquier caso, se ha generado una herramienta que puede facilitar el trabajo y a la adquisición de información en multitud de escenarios tanto del ámbito productivo, como también, por ejemplo, en trabajos de campo a nivel ecológico.

Tarea 3.1.4 (M6-M36) - Inteligencia Artificial - Se desarrollarán y evaluarán modelos y simuladores de sistemas virtuales para explorar diferentes escenarios evolutivos que permitan maximizar la probabilidad de éxito de los cultivos en un contexto de cambio climático. El sistema integrará parámetros de monitorización ambiental y animal (individuales y poblacionales) generados en el proyecto ThinkInAzul y en otros proyectos nacionales y europeos (PERFORMFISH, AQUAEXCEL3.0, AQUAIMPACT).

Responsable: CSIC1

Participantes: Colaboración CSIC3

Resultado: Se ha desarrollado una herramienta informática denominada SAMBA (Structure-Learning of Aquaculture Microbiomes Using a Bayesian Approach), basada en Redes Bayesianas, diseñada para integrar parámetros de monitorización ambiental y animal de los peces en cultivo, con el fin de generar escenarios virtuales con los que predecir los cambios ante diferentes escenarios de los cultivos, y

maximizar la probabilidad de éxito de los mismos. La herramienta se ha entrenado y validado inicialmente con datos de composición microbiana de la mucosa de dorada obtenidos en experiencias realizadas en el presente proyecto y en otros europeos para correlacionar la composición microbiana con diversos factores bióticos y abióticos. SAMBA es capaz no solamente de definir cómo los diferentes factores modulan el microbioma, y de identificar las condiciones experimentales óptimas para obtener un panmicrobioma determinado y un metagenoma asociado, sino que también establece las relaciones causales existentes entre los diferentes taxones microbianos. Paralelamente a la validación de SAMBA con datos de microbioma, se ha trabajado en el desarrollo de herramientas para la integración de datos de otras tecnologías ómicas.

Grado de consecución: 60%

Impacto: Se han desarrollado herramientas bioinformáticas para estudiar la respuesta (incluyendo escenarios de cambio global), de especies de peces en cultivo, mediante aproximaciones holísticas que han permitido a su vez la estandarización de metodologías analíticas y de procesado de datos en base a técnicas de aprendizaje y tomas de decisiones. Fruto de todo ello, ha sido una presencia relevante en el congreso de la EAS2023 (Viena), la publicación de dos artículos en revistas de impacto, además de la defensa de una Tesis Doctoral (B. Soriano).