
OBJETIVO 3.2

Mejorar la nutrición y alimentación de animales en cultivo mediante el uso de nuevas formulaciones de piensos basadas en mezclas de materias primas alternativas y suplementos dietéticos validados a lo largo del ciclo de producción con datos zootécnicos, de comportamiento y nuevas herramientas de biología molecular y de monitorización de la microbiota.

Conexión con las líneas de actuación del plan nacional

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

Actuación A2.12: Mejora de la nutrición y alimentación de peces mediante el uso de nuevas formulaciones de piensos basadas en mezclas de materias primas alternativas (proteínas de insectos, poliquetos, extractos de algas, levaduras, proteínas bacterianas, etc.) y suplementos dietéticos (probióticos, prebióticos, simbióticos, probióticos), validados a lo largo del ciclo de producción con datos zootécnicos, de comportamiento (ingesta, actividad física, ocupación del espacio, etc.) y nuevas herramientas de biología molecular y de monitorización de la microbiota como marcador del estado general del pez.

Descripción de tareas

Tarea 3.2.1 (M3-M40) - Nuevas formulaciones de piensos de dorada – Se evaluará a escala piloto la viabilidad de nuevas formulaciones de piensos de engorde de peces (Aquafeed Technology 3.0) con diferentes combinaciones de proteínas vegetales, proteínas de insectos, proteínas unicelulares de bacterias y levaduras, hidrolizados proteicos, aditivos y productos de descarte de acuicultura a lo largo de todo el ciclo de producción. La recogida de parámetros zootécnicos se complementará con tests de estrés ambiental (confinamiento, baja disponibilidad de oxígeno, alta temperatura, etc.) para evaluar los efectos de la dieta sobre la fisiología y robustez de los animales en un contexto de cambio global. Como indicadores de bienestar se utilizará una amplia gama de marcadores bioquímicos (GH, IGFs, glucosa, lactato, TG, capacidad antioxidante, etc.), moleculares (PCR-array, RNA-seq) y epigenéticos (metilación-DNA), además de los ya mencionados de microbiota, ADN ambiental, comportamiento y ácidos grasos y cortisol dérmicos (Tareas 3.1-3.3).

Responsable: CSIC1

Participantes: CSIC7, CSIC8

Colaboradores: CSIC2, UPV4, UMH1, UJI1

Resultado: Durante un ciclo de engorde de 24 meses (mayo 2022 - abril 2024), se evaluó el uso de una dieta control frente a dos formulaciones alternativas de alto contenido en proteínas animales (PAP) y proteínas unicelulares y de insectos (ALT). El engorde comenzó con juveniles de 8-10 g y continuó hasta alcanzar la primera madurez sexual en un porcentaje significativo de hembras. Los peces fueron alimentados con comederos automáticos 1-3 veces al día (3-5 días a la semana) según las tablas de ración y el comportamiento observado. A lo largo de todo el engorde, los peces se mantuvieron en condiciones de circuito abierto y fotoperiodo/temperaturas naturales con una densidad máxima de cultivo de 25 kg/m³ y [O₂] > 75% de saturación. De forma periódica se hicieron muestreos de biomasa y se tomaron muestras de agua, sangre y tejidos para análisis bioquímicos, de expresión génica, y del microbioma de agua, heces, piel e intestino. Todos los grupos mostraron un crecimiento rápido y con una alta tasa de conversión del alimento sin daño histopatológico en hígado e intestino. Por el contrario, se detectaron cambios a nivel transcripcional que muestran la convergencia temporal del transcriptoma hepático y muscular de los grupos CTRL y ALT que se observa en intestino y riñón anterior. A nivel metagenómico, están completados los análisis de muestras de agua e intestino, habiéndose observado que el transcriptoma intestinal del huésped acaba anticipándose a los cambios del microbioma intestinal. A nivel bioquímico destacan los niveles bajos de cortisol en los peces del grupo ALT, lo que está asociado a un comportamiento más reactivo en tests de confinamiento. Las muestras para la evaluación de los efectos de la dieta sobre la capacidad reproductiva (WP2; UPV4, CSIC2) y calidad y seguridad alimentaria (WP5; UMH1, UJI1) ya han sido generadas para su estudio y procesado.

Grado de consecución: 90%

Impacto: Los resultados contribuyen a un enfoque más sostenible y eficaz en la acuicultura, alineado con las necesidades de la industria para mejorar la producción y reducir su impacto ambiental, particularmente en lo que se refiere a innovación de dietas de engorde, optimización de las condiciones de cultivo e interacción nutrición x genética x microbiota. Tesis doctoral en curso (Ricardo Domingo-Bretón)

Tarea 3.2.2. (M1-M45) - Desarrollo de piensos sostenibles para camarón – Tras la optimización del biofloc utilizando diferentes salinidades, densidades y la adición de diferentes estimulantes de las poblaciones bacterianas (prebióticos, probióticos y simbióticos), se evaluará la digestibilidad y biodisponibilidad de los posibles ingredientes alternativos que se caracterizan por su alta sostenibilidad (subproductos de la industria agroalimentaria, productos transformados o materias primas ecológicas). Gracias a los datos obtenidos de digestibilidad y biodisponibilidad, se formularán diferentes piensos con altos niveles de

sustitución de la harina de pescado, en algunos casos incluyendo aditivos, para comprobar su efecto en la calidad nutricional, sensorial y la salud del camarón (fisiología del tracto intestinal: microbiota, histología, etc...). Finalmente, las combinaciones que proporcionaron los mejores resultados (2 grupos experimentales) se escalarán en tanques de gran tamaño (4 m³), similares a condiciones comerciales, potenciando la transferencia de los resultados a la empresa privada.

Responsable: UPV9

Participantes: CSIC6

Resultado: Se ha llevado a cabo un ensayo de tasas de alimentación al objeto de adaptar las raciones a las particularidades del sistema biofloc. Para ello se procedió a alimentar camarones con una tasa de alimentación diaria (TAD) de 50, 60, 70, 80, 90 y 100% de las recomendaciones genéricas para la especie. Tras 125 días de ensayo, la TAD 80% fue considerada óptima. Asimismo, se han realizado pruebas preliminares para determinar el marcador más apropiado para los ensayos de digestibilidad, resultando que el Y₂O₃ es el más adecuado. Se han realizado dos pruebas de crecimiento con ingredientes vegetales ecológicos, soja, trigo y guisante, con camarones de 4 y 12 g, y no se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento. Se ha estudiado la digestibilidad de los piensos y se llevó a cabo un análisis organoléptico de los camarones. El análisis del microbiota intestinal está en marcha. En la actualidad se está llevando a cabo un ensayo con piensos a base de ingredientes animales ecológicos, subproductos de cerdo ibérico, carcasa y vísceras de pollo y subproducto de trucha, todos ellos sin harina de pescado, frente a un control con 12% harina de pescado. Tras 60 días de ensayo, solo aparecen diferencias significativas en el pienso con vísceras de pollo. Asimismo, se está realizando un ensayo de digestibilidad de los piensos con ingredientes animales. También se han desarrollado varias pruebas para evaluar la fermentación de ingredientes vegetales, soja y girasol, con *Bacillus subtilis*, y mejorar el perfil de aminoácidos esenciales. De momento se ha conseguido una mejora del nivel proteínico de un 5% en la soja fermentada. Finalmente, se están planificando ensayos de hidrólisis de los subproductos animales para su incorporación a los piensos experimentales. Así, en colaboración con CSIC6, se ha llevado a cabo un ensayo de digestibilidad con carcasa de pollo sometida a dos procesos de hidrólisis, y se está planificando un ensayo de crecimiento.

Grado de consecución: 60%

Impacto: Se ha optimizado la tasa de alimentación en camarones en un sistema biofloc, estableciendo la tasa de alimentación diaria del 80% como la ideal. Se han realizado pruebas de piensos elaborados con ingredientes ecológicos vegetales y animales, sin diferencias significativas en crecimiento. Se ha mejorado la digestibilidad y el perfil de aminoácidos de la soja fermentada, y se están evaluando subproductos animales para piensos.

Tarea 3.2.3. (M3-M45) - Metabolismo lipídico – Se estudiará el metabolismo lipídico de organismos acuáticos de interés en acuicultura alimentados con diferentes formulaciones para su uso como producto final. Se abordará el estudio de los mecanismos moleculares que explican la biosíntesis de lípidos fisiológicamente esenciales, como LC-PUFAs y VLC-PUFAs, en animales acuáticos objeto de acuicultura, mediante el desarrollo de herramientas efectivas que permitan identificar sus requerimientos y poder así, entre otras cosas, formular óptimamente las dietas que satisfagan tales requerimientos. Se explorarán estrategias de alimentación que ayuden a optimizar la biosíntesis de LC-PUFAs en organismos objeto de cultivo, mediante la caracterización del repertorio de genes desaturasa y elongasa implicados en la biosíntesis de LC-PUFAs, la activación de las vías biosintéticas en condiciones de cultivo optimizadas, y la evaluación de la suplementación de la dieta con potenciadores eficaces de la biosíntesis de LC-PUFAs.

Responsable: CSIC8

Participantes: CSIC1

Resultado: Se ha contribuido al estudio del repertorio de genes que codifican las enzimas implicadas en el metabolismo lipídico de invertebrados: elongasas y desaturasas "front-end" y "methyl-end", con especial énfasis en los anélidos, pero también en crustáceos. En anélidos se han caracterizado las funciones de las enzimas codificadas en especies representativas seleccionadas, demostrando que se ha

producido una amplia diversificación funcional durante su expansión en ecosistemas tanto terrestres como acuáticos. Los resultados apuntan hacia el hecho de que los anélidos poseen el equipo enzimático necesario para convertir los precursores de C18 en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) fisiológicamente relevantes, tales como los ácidos eicosapentaenoicos (EPA) y araquidónico (ARA), pero no el ácido docosahexaenoico (DHA). Algunos crustáceos como los copépodos harpacticoides pueden sintetizar EPA y ARA, pero también de DHA. Se están llevando a cabo estudios similares en crustáceos caprélidos dado que se han reportado niveles elevados de LC-PUFA en estos organismos en la literatura científica. Además, se está trabajando en el estudio de los efectos de plásticos biodegradables de polihidroxitirato-co-valerato, en el perfil de ácidos grasos de invertebrados, utilizando el microcrustáceo *Artemia* como modelo. Finalmente, se han aplicado las metodologías desarrolladas al estudio del metabolismo lipídico de vertebrados, en este caso peces Osmeriformes, demostrando que *Plecoglossus altivelis* posee la capacidad enzimática completa para sintetizar LC-PUFA a partir de sus precursores de 18 carbonos.

Grado de consecución: 80%

Impacto: Se ha ampliado el conocimiento sobre el metabolismo lipídico en invertebrados, destacando la capacidad de anélidos y crustáceos para sintetizar ácidos grasos esenciales. Se está investigando el impacto de plásticos biodegradables en el perfil lipídico de invertebrados. Además, los hallazgos sobre la capacidad enzimática de ciertos peces para sintetizar LC-PUFA abren nuevas oportunidades en acuicultura y ecología.

Tarea 3.2.4. (M12-M45) -Caracterizar los efectos paliativos de la inclusión de probióticos dietarios sobre el estrés crónico y el bienestar animal en cultivo de especies mediterráneas (dorada, lubina, corvina, seriola) – Tanto *Lactobacillus rhamnosus* como *Bifidobacterium longum* reducen la ansiedad en el pez cebra regulando la respuesta de los animales al estrés. La hipótesis de partida es que la modulación de la microbiota mediante la administración de probióticos puede reducir el estrés crónico en las especies de cultivo. Esta hipótesis llevará a desarrollar experimentos en los que animales sometidos a un estrés crónico sean alimentados con suplementos probióticos. Utilizando los métodos desarrollados anteriormente y los conceptos alcanzados se compararán los valores de acumulación de hormonas y/o metabolitos en las estructuras objetivo con los de animales sometidos al mismo protocolo de estrés, alimentados con el mismo pienso, pero sin suplemento de probióticos. El efecto de los probióticos se valorará también sobre grupos de animales a los que no se aplica el protocolo de estrés.

Responsable: CSIC7

Resultado: El desarrollo del experimento se vio impedido por la infección de los animales experimentales debido a un proceso de linfocistis. Actualmente, se han obtenido nuevos animales para el desarrollo de la experimentación, y se han formulado los piensos pertinentes en colaboración con de la empresa "Life Bioencapsulación". Los piensos serán manufacturados en función de del desarrollo de los experimentos para los cuales son necesarias unas condiciones ambientales optimas (temperatura y fotoperiodo).

Grado de consecución: 40%

Impacto: Se han formulado piensos con probióticos para realizar ensayos de estrés.