



CHI (RI)CERCA TROVA

UN CICLO DI **WEBINAR** PER CONOSCERE

I RISULTATI DEI PROGETTI AGER

30 Aprile 2021

Qualità e sostenibilità economica del pesce allevato



*Fine Feed For Fish è un progetto sostenuto da **AGER - AGroalimentare E Ricerca**, Grant 2016-0101*

www.progettoager.it

Con il patrocinio



Ordine dei Medici Veterinari della provincia di Milano



CHI (RI)CERCA TROVA

UN CICLO DI **WEBINAR** PER CONOSCERE

I RISULTATI DEI PROGETTI AGER



Il microbioma acquatico e acquacoltura: quando l'invisibile fa la differenza

Antonia Bruno

antonia.bruno@unimib.it

Supervisor: prof. Massimo Labra

Dip. di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca

*Fine Feed For Fish è un progetto sostenuto da **AGER - AGroalimentare E Ricerca**, Grant 2016-0101*



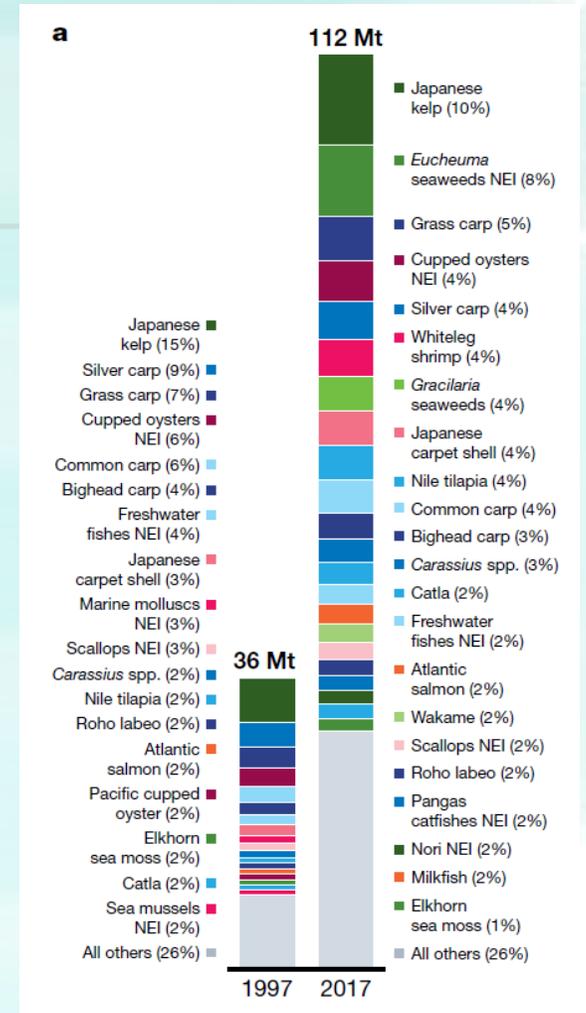
AQUACULTURE SUSTAINABILITY

L'acquacoltura è un settore in grande espansione, spesso oggetto di interventi tecnologici che mirando ad implementare le produzioni.

La produzione mondiale di acquacoltura è più che triplicata nel periodo che va dal 1997 al 2017.

La **sostenibilità** dell'acquacoltura è un argomento cruciale, ma al tempo stesso **complesso**.

> Più fattori concorrono, difficili da stimare



Composition and growth of global live-weight aquaculture production.

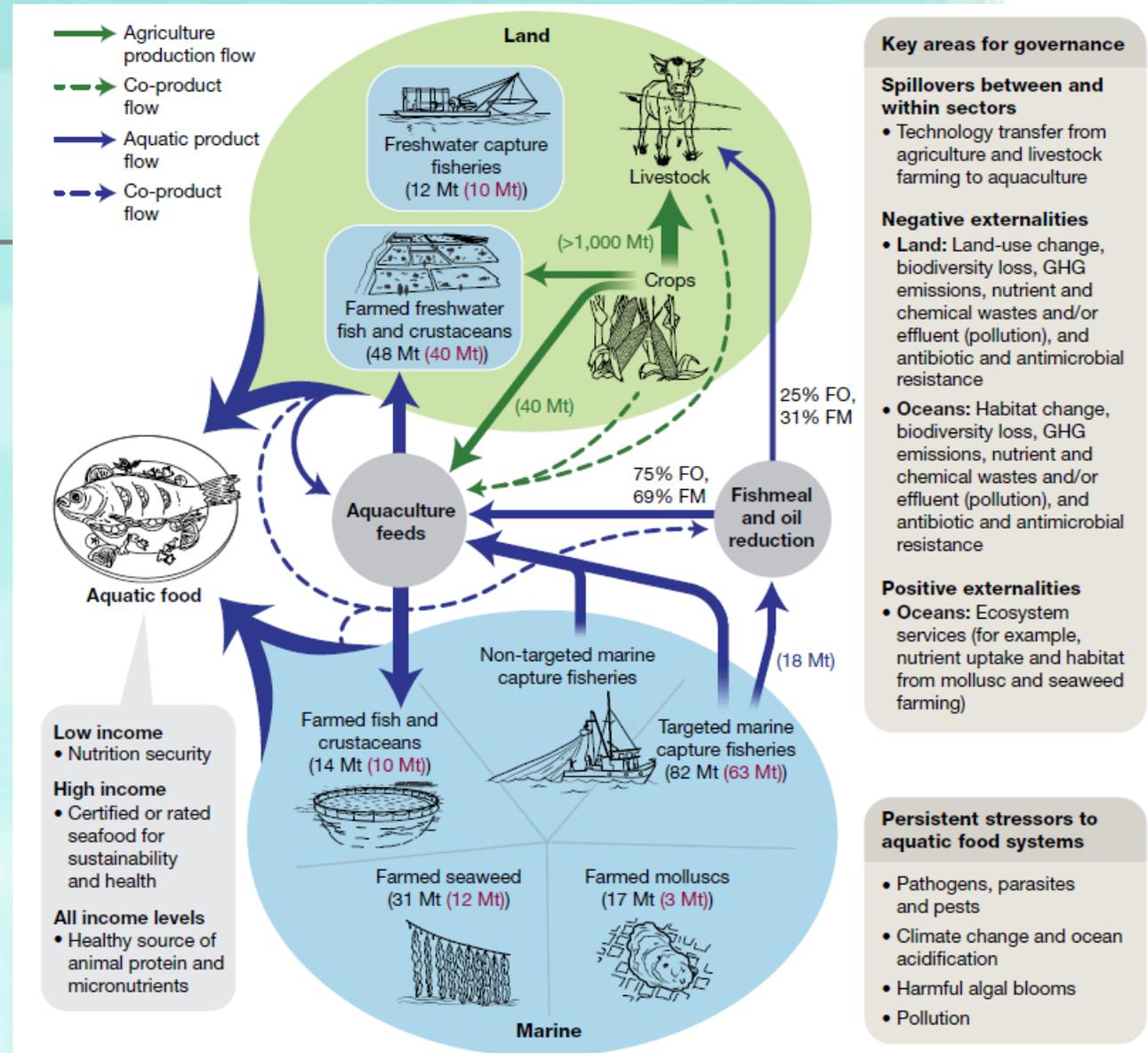
AQUACULTURE SUSTAINABILITY

➤ Stretta relazione tra risorse del suolo e idriche

“Continuing a long history of inland production, the share of freshwater fish raised on compound feed, which is made largely from terrestrial and some marine ingredients, has increased over the past two decades.

Meanwhile, the inclusion of **plant-based** ingredients in aquafeed has increased, and the production of extractive species (molluscs and seaweed) that filter nutrients from terrestrial and marine food systems has grown.

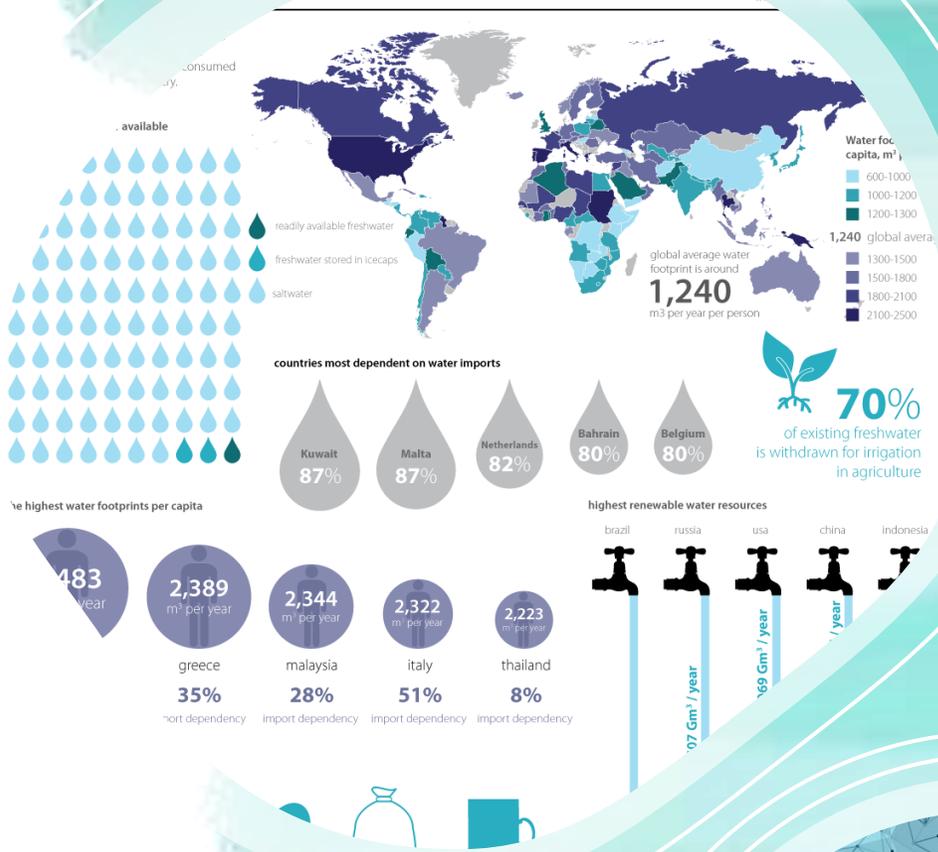
Aquaculture has thus become more **integrated into the global food system**, with rapid growth in production and major transformations in feed ingredients, production technologies, farm management, and value chains.”



WATER FOOTPRINT

L'impronta idrica è un indicatore del consumo di **acqua dolce** che include sia l'uso diretto che indiretto di acqua da parte di un consumatore o di un produttore.

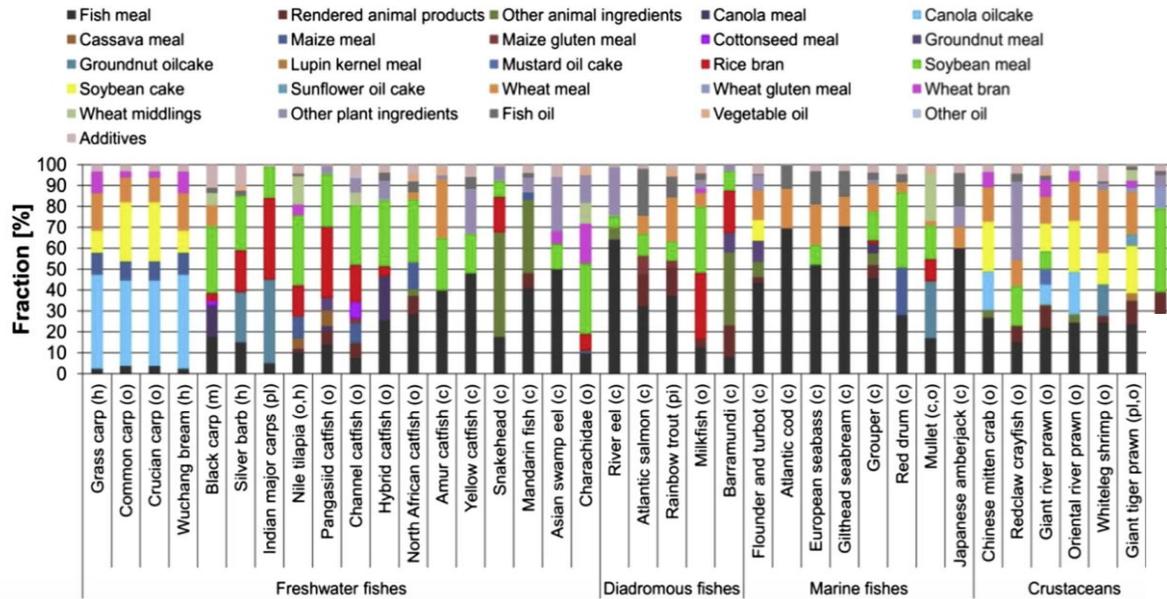
> il volume totale di acqua dolce utilizzata per produrre beni e servizi, misurata in termini di volumi d'acqua **consumati (evaporati o incorporati in un prodotto) e inquinati** per unità di tempo.



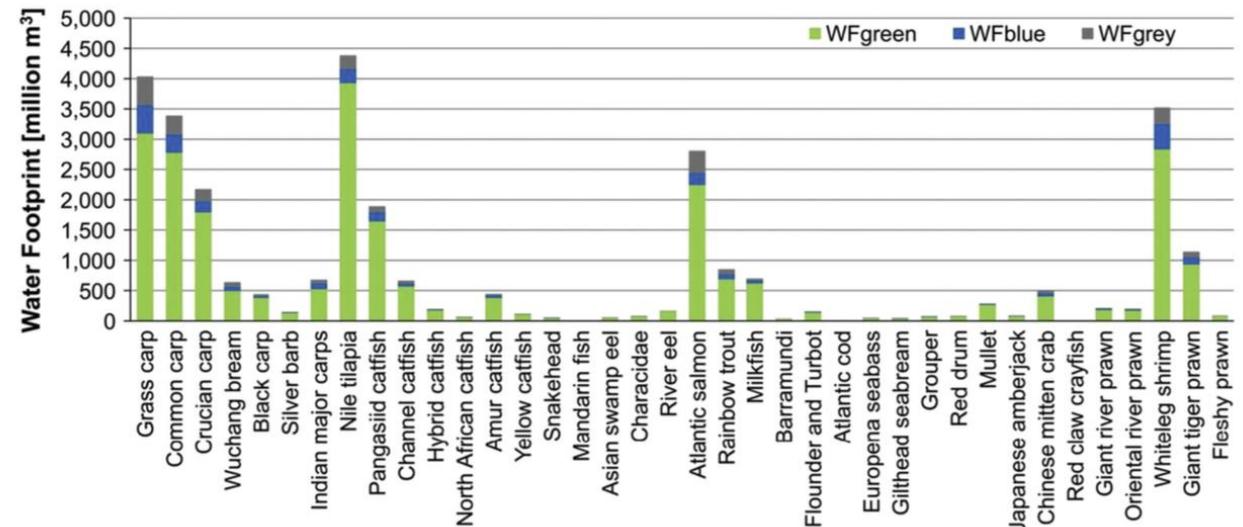
WATER FOOTPRINT

> In acquacoltura è correlata con la dieta del pesce

M. Pahlow et al. / Science of the Total Environment 536 (2015) 847–857



M. Pahlow et al. / Science of the Total Environment 536 (2015) 847–857



Qualità della risorsa idrica

Parametri chimico-fisici

Ossigeno disciolto, pH,
conduttività, temperatura, nitriti,
nitrati,...

Parametri microbiologici

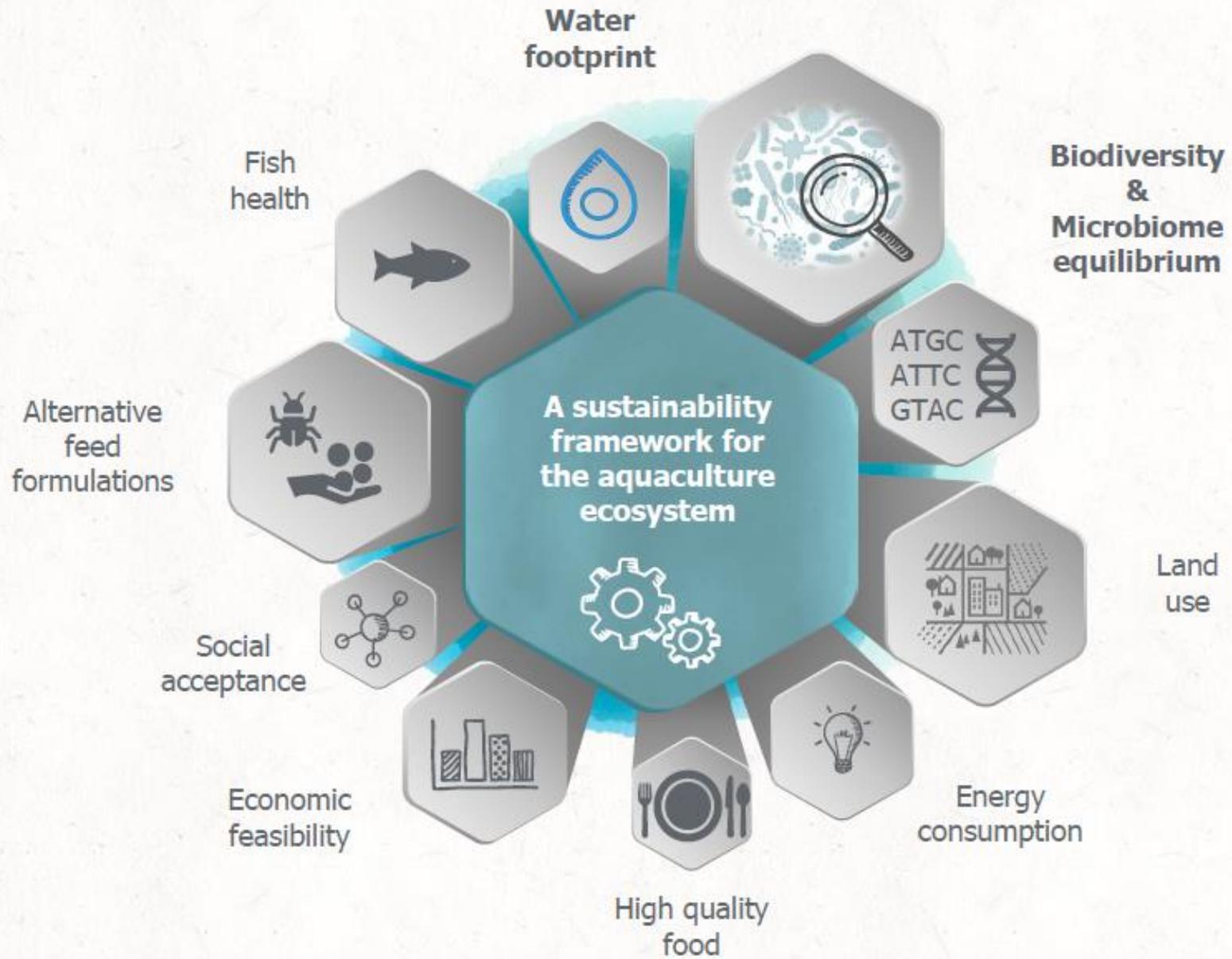
Microrganismi target



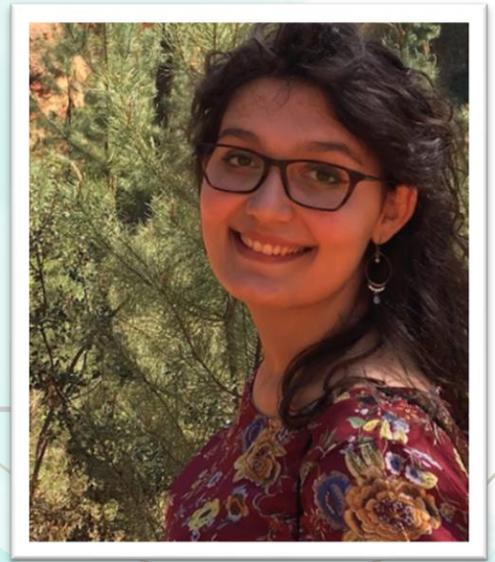
Solo la
punta
dell'iceberg



Uno degli obiettivi del progetto circa la sostenibilità è proprio la valutazione complessa dell'impatto ambientale, che miri ad integrare le valutazioni basate su Life Cycle Assessment (LCA), il Water Footprint, e le dinamiche non spesso immediatamente visibili che sottendono i servizi ecosistemici che la risorsa acquatica offre.



IMPATTI



Chiara Magoni



Potenziale di riscaldamento globale

Energia fossile

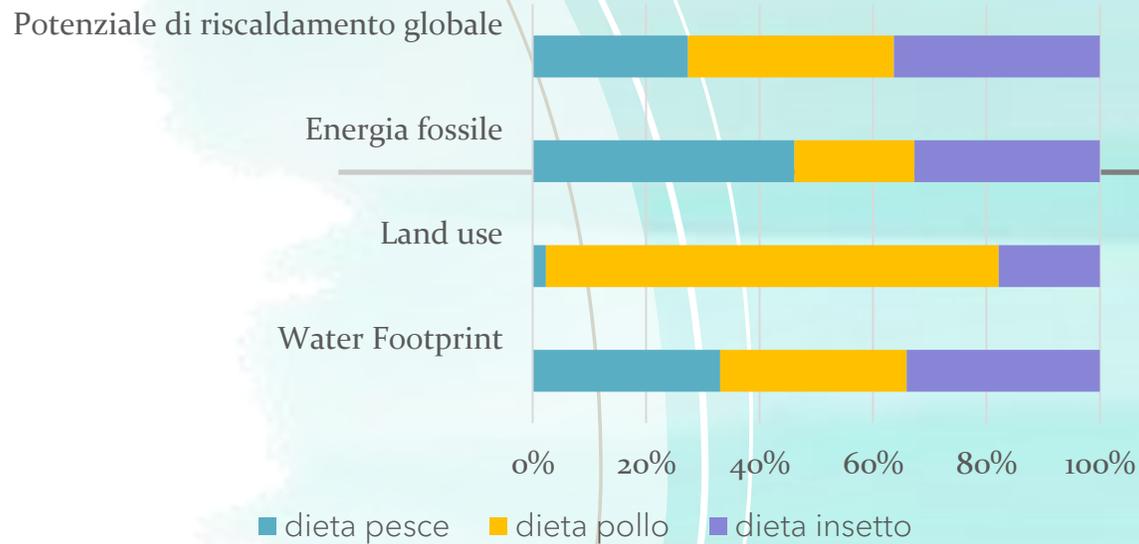


Land use



Water footprint

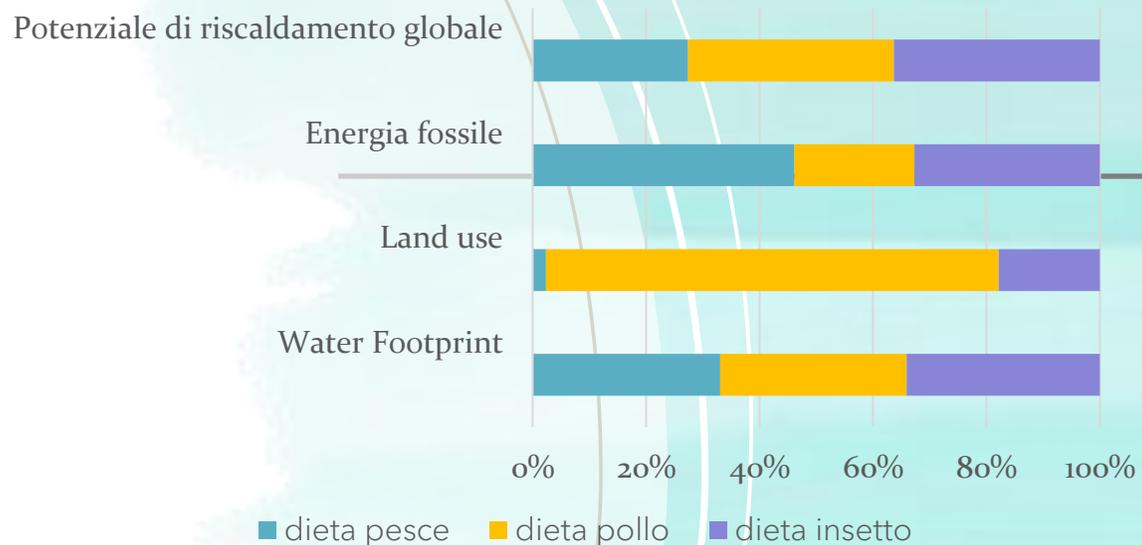
IMPATTI



Chiara Magoni

- Formulazioni mangimistiche alternative non presentano differenze sostanziali rispetto alle formulazioni convenzionali, per quanto riguarda **water footprint, energia fossile e potenziale di riscaldamento.**
- In termini di **utilizzo del suolo** sembra invece che l'allevamento degli insetti abbia un impatto inferiore.

IMPATTI

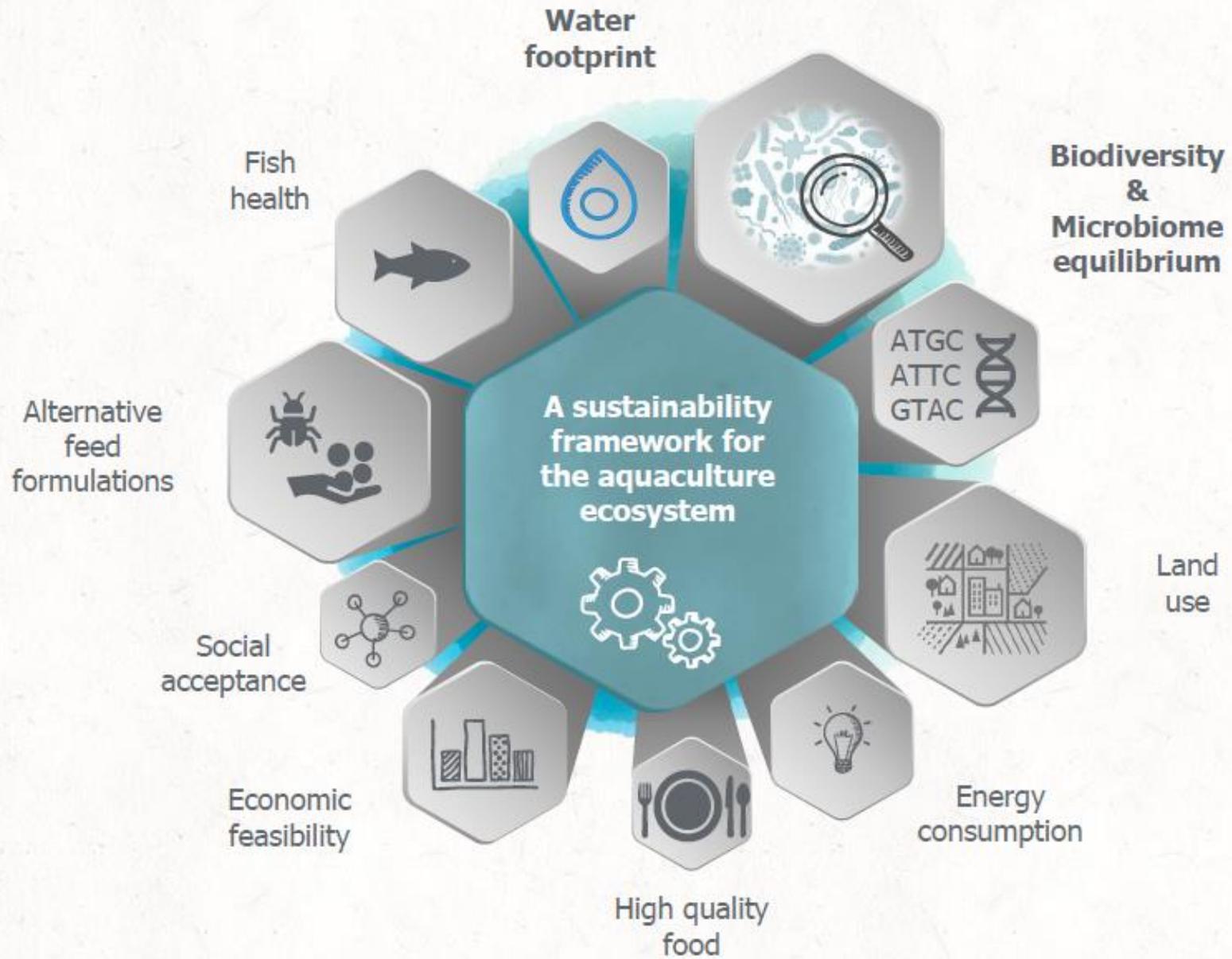


Chiara Magoni

Tuttavia, si evidenzia una **mancaza di dati strutturati** per quanto riguarda le diete a base di insetti, campo ancora in evoluzione sia nella ricerca che nella industrializzazione dei processi.



In prospettiva futura, puntare su diete a base di insetti consentirebbe di muoversi verso una **performance industriale** e diminuire sia il potenziale di riscaldamento globale che il water footprint > grazie a framework legislativi che tengano in considerazione fonti di nutrienti che derivino da nuove tipologie di scarti alimentari.



MICROBIOTA ACQUATICO & BIODIVERSITÀ

Sempre più ricerche hanno rivelato l'importanza, sia per gli **animali allevati** che per lo stato di salute dell'**ambiente**, delle **strette interazioni biologiche con i microrganismi a loro associati**.

Il controllo dei microrganismi che popolano gli impianti di acquacoltura (ovvero il microbiota dell'*ecosistema acquacoltura*) è fondamentale.



ATGC
ATTC
GTAC



MICROBIOTA ACQUATICO & BIODIVERSITÀ

SERVIZI ECOSISTEMICI

L'impianto di acquacoltura rappresenta

- un **ecosistema complesso**
- **altamente biodiverso**
- ancora poco studiato
- comunità microbiche presenti nell'acqua svolgono un ruolo importante nell'equilibrio dell'ecosistema
- comunità microbiche possono influenzare la crescita e la salute degli organismi allevati (nel nostro caso: *O. mykiss*)



ATGC
ATTC
GTAC



MICROBIOTA ACQUATICO & BIODIVERSITÀ



ATGC
ATTC
GTAC



Antonella Panio



Flavio Orizio



Gabriele Giannuzzi



Chiara Oriani



Anna Sandionigi



Giulia Agostinetto



- Raccolta dei campioni di acqua (in ingresso, da vasche in cui vengono somministrate differenti formulazioni mangimistiche; a tempi diversi)

- Filtrazione per concentrare i microrganismi presenti



- Estrazione del DNA ambientale

- Preparazione delle libraries

- Sequenziamento *high-throughput* del DNA batterico (16S rDNA V₃-V₄),

Illumina MiSeq

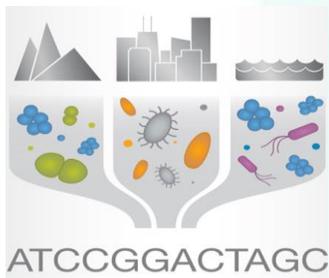


- Analisi bioinformatica: generate le ASVs

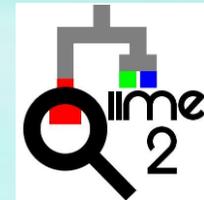
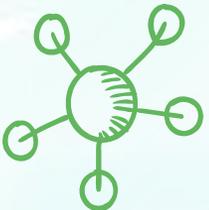
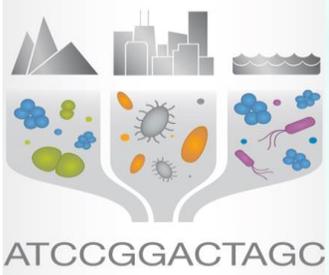
- Assegnazione tassonomica



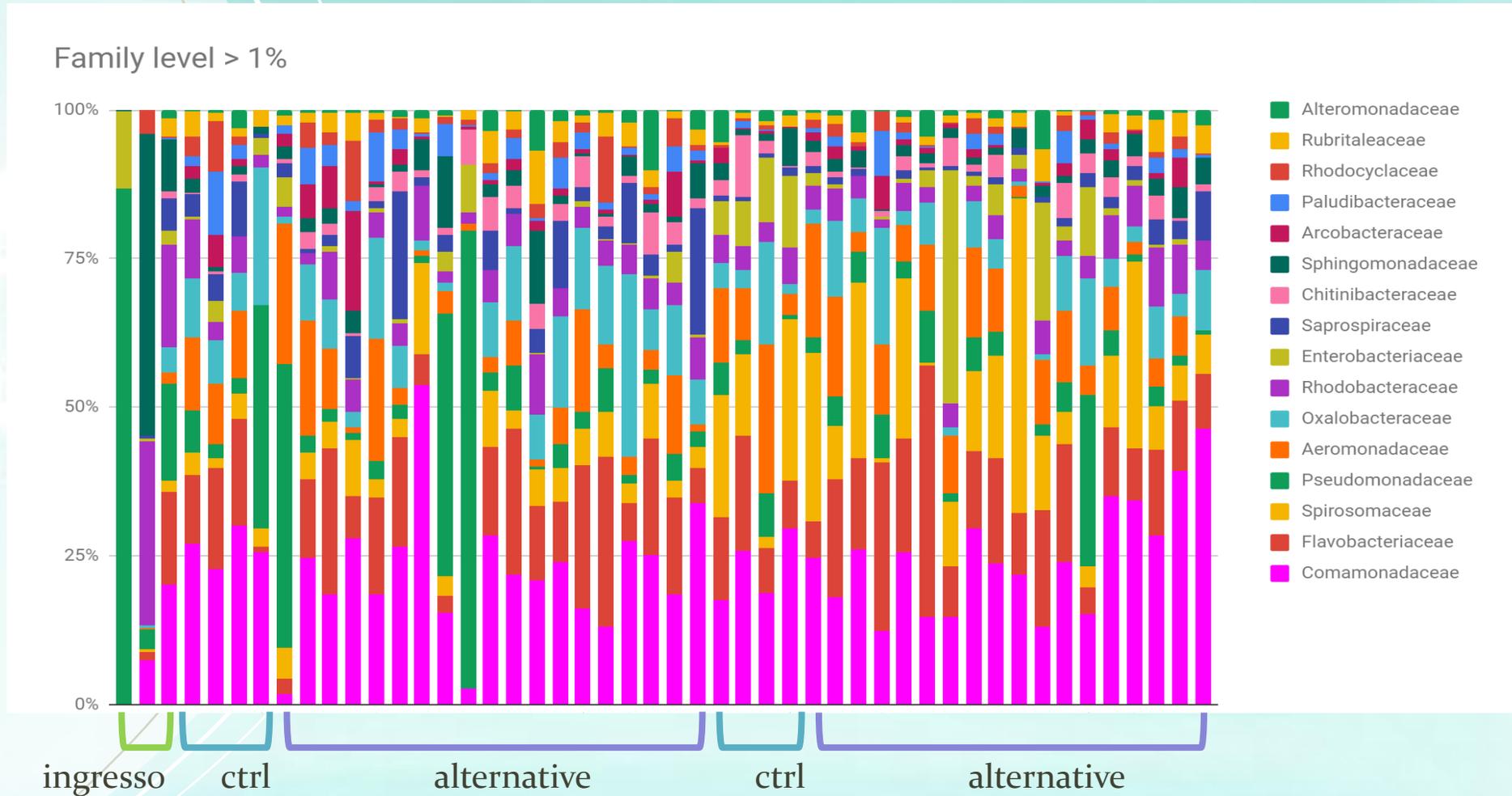
- Analisi ecologiche (alpha e beta diversity)



- Raccolta dei campioni di acqua (in ingresso, da vasche in cui vengono somministrate differenti formulazioni mangimistiche; a tempi diversi)
- Filtrazione per concentrare i microrganismi presenti
- Estrazione del DNA ambientale
- Preparazione delle libraries
- Sequenziamento *high-throughput* del DNA batterico (16S rDNA V₃-V₄),
Illumina MiSeq
- Analisi bioinformatica: generate le ASVs
- Assegnazione tassonomica
- Analisi ecologiche (alpha e beta diversity)

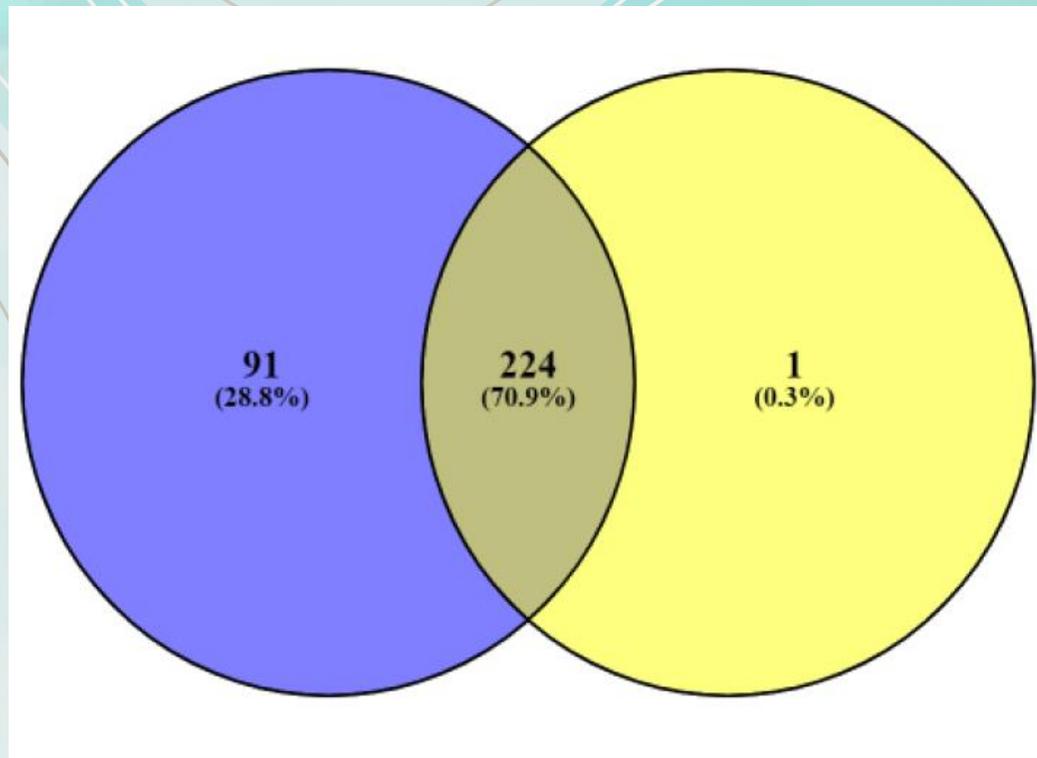


Assegnazione tassonomica



Famiglie condivise tra dieta di controllo e dieta a base di farina di insetto (dati preliminari)

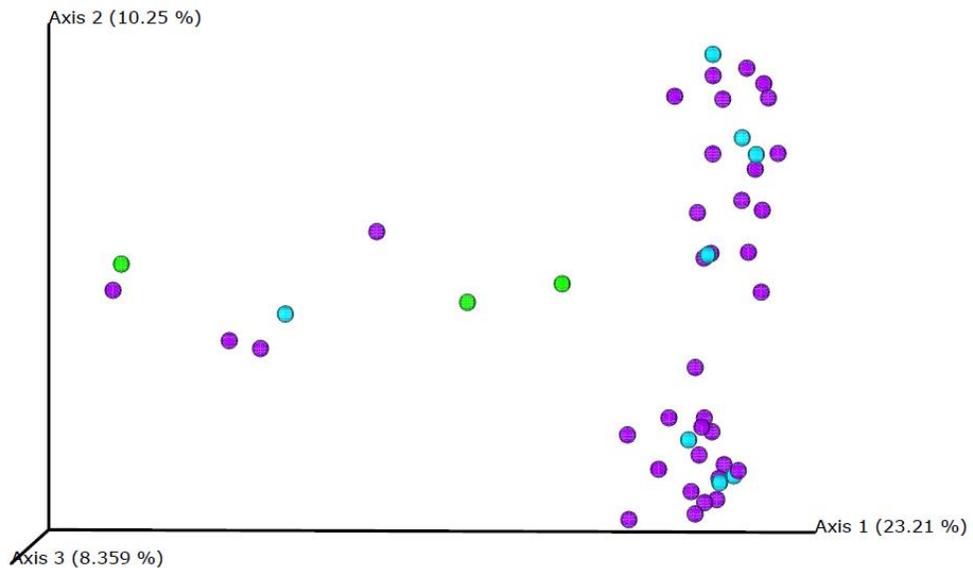
insetto



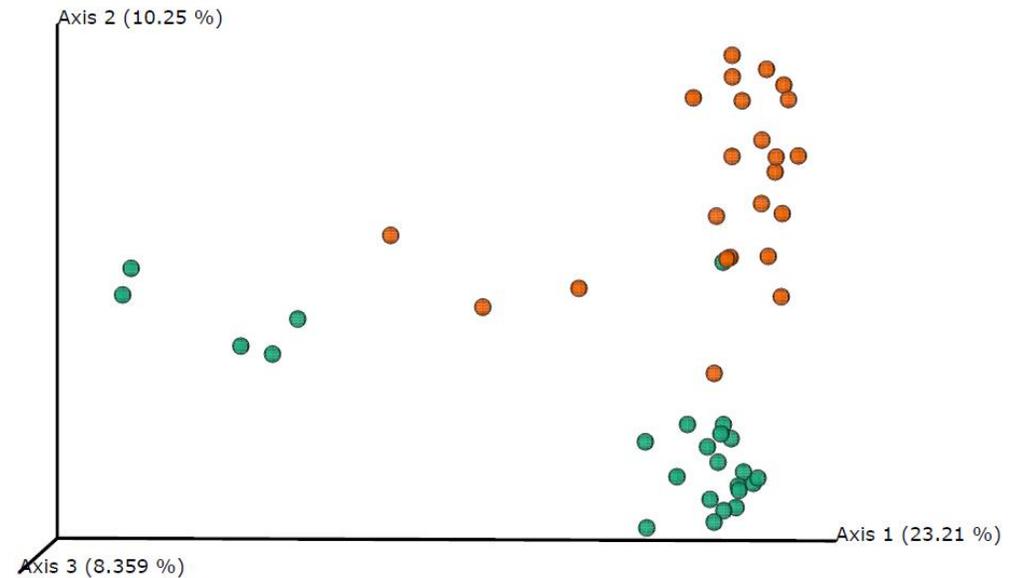
controllo

Beta-diversity

- Non si osservano differenze significative nella composizione della comunità microbica dell'acqua considerando formulazioni mangimistiche diverse, ma considerando la data di campionamento



PCoA, Bray-Curtis (qualitativa e quantitativa),
FORMULAZIONE MANGIMISTICA



PCoA, Bray-Curtis (qualitativa e quantitativa),
DATA DI CAMPIONAMENTO

MICROBIOTA ACQUATICO & BIODIVERSITÀ: GENI DI ANTIBIOTICO-RESISTENZA



La resistenza agli antibiotici è definita come la capacità dei batteri di resistere agli effetti degli antibiotici ed è considerata una minaccia universale per l'uomo, gli animali e l'ambiente.

La resistenza agli antibiotici si verifica naturalmente, ma l'uso eccessivo e improprio di questi farmaci negli esseri umani sta accelerando il processo.

Infatti, gli antibiotici rimuovono i batteri sensibili ai farmaci, lasciando i batteri resistenti vivi e in grado di riprodursi, grazie alla selezione naturale.

ATGC
ATTC
GTAC



MICROBIOTA ACQUATICO & BIODIVERSITÀ: GENI DI ANTIBIOTICO-RESISTENZA

Gli ecosistemi acquatici possono essere un reservoir di antibiotici e geni di resistenza agli antibiotici.

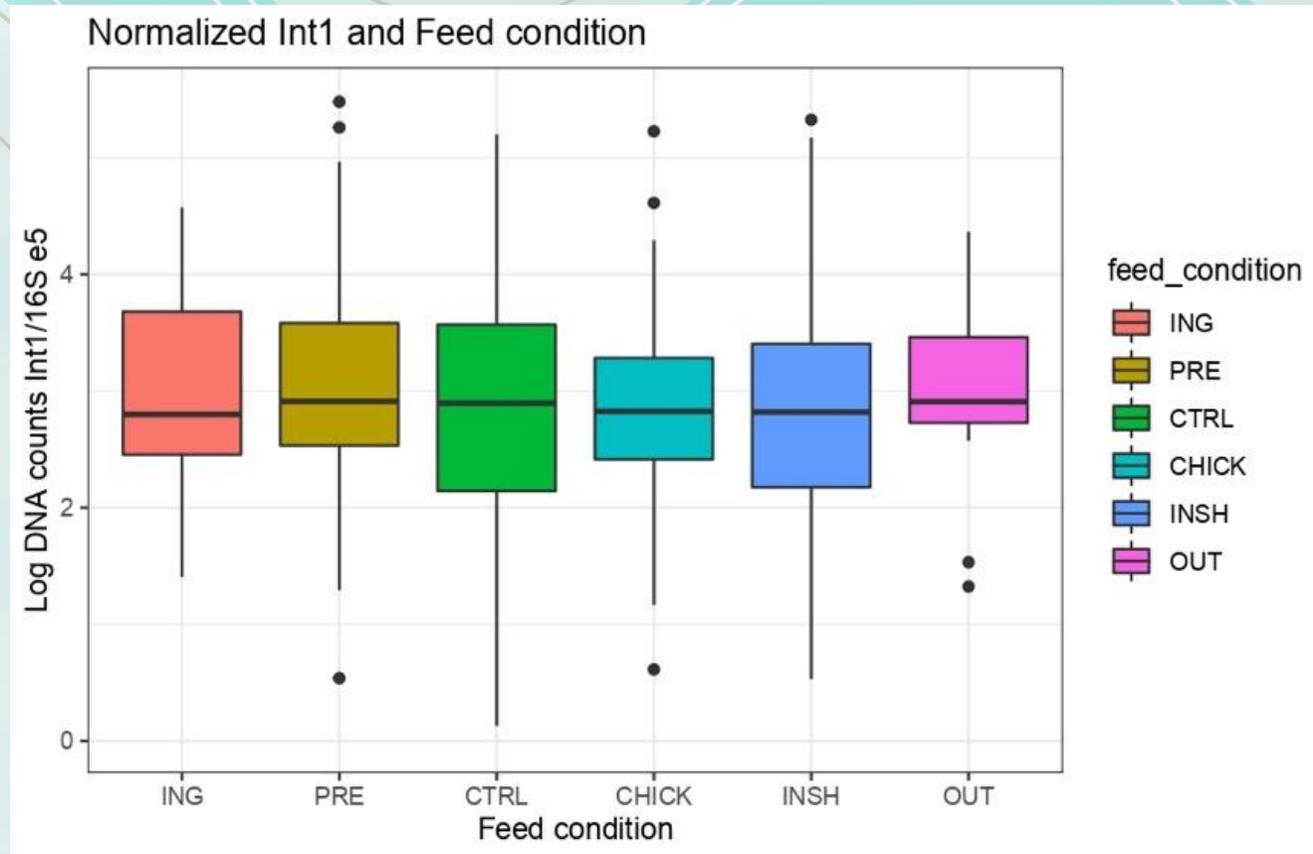


Gli antibiotici sono stati frequentemente rilevati in diversi ambienti acquatici all'interno dei cicli idrici urbani e, anche se i livelli sono bassi (nell'intervallo da ng/L a $\mu\text{g/L}$), potrebbero favorire l'acquisizione di resistenza tra i batteri.

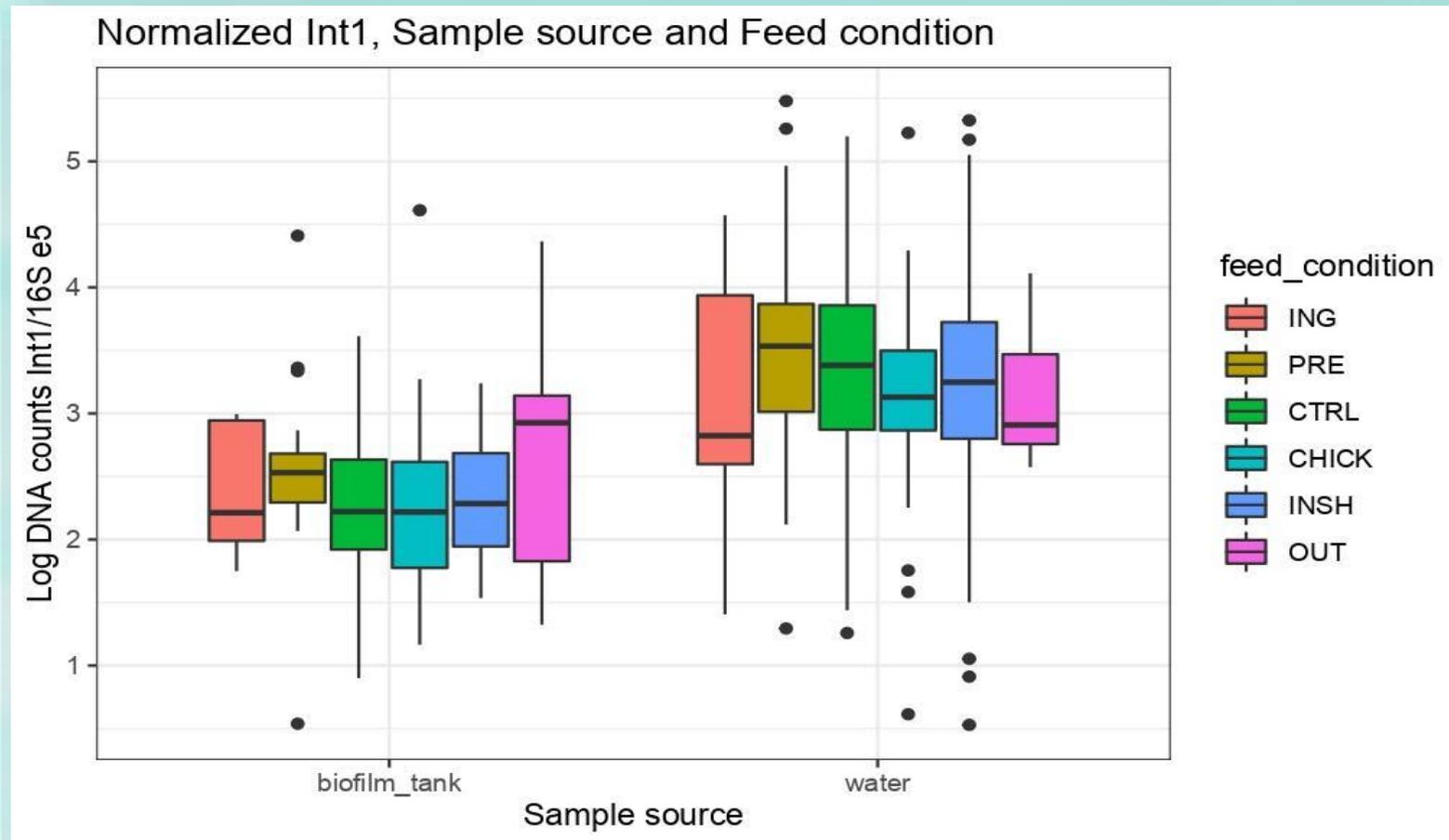


Nei batteri, i geni di resistenza agli antibiotici (ARG) possono essere acquisiti attraverso il trasferimento genico orizzontale (HGT) di elementi genetici mobili (MGE) come plasmidi e trasposoni coniugativi ed elementi genetici modulari (integroni). Le MGE possono facilitare il trasferimento di ARG da batteri ambientali non patogeni a patogeni clinicamente rilevanti e viceversa, contribuendo alla propagazione globale della resistenza agli antibiotici.

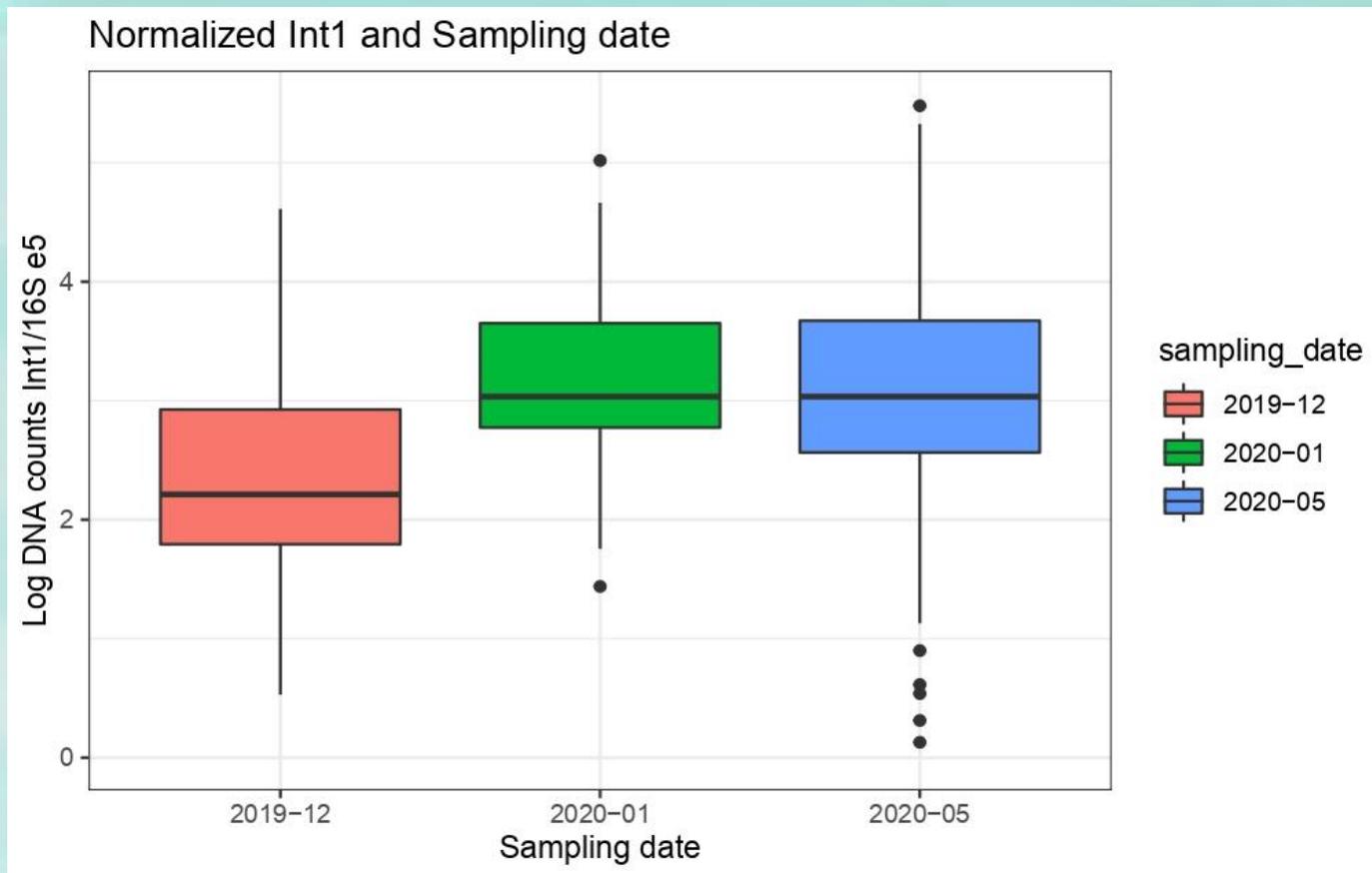
- Confrontando l'abbondanza relativa di geni di resistenza agli antibiotici tra campioni di acqua prelevati in vasche dove sono somministrate **diverse formulazioni mangimistiche**, non si osserva differenza significativa tra gruppi di controllo, pollo e insetti.



- I campioni di **biofilm** delle vasche mostrano un'abbondanza di geni per la resistenza agli antibiotici significativamente inferiore rispetto a quelli prelevati dall'**acqua** della vasca.



- Possiamo vedere una significativa differenza tra campioni raccolti in **date diverse**, con un significativo aumento di geni per la resistenza agli antibiotici da dicembre 2019 a gennaio 2020.





conclusioni

- Non sono state riportate differenze significative nella composizione della comunità microbica considerando le formulazioni mangimistiche alternative rispetto ai mangimi di controllo.
- È stata osservata una differenza significativa nella composizione batterica tra le diverse date di campionamento, probabilmente implicabile al tempo trascorso dall'inizio della sperimentazione (o della stagionalità, meno probabile).



conclusioni

- Questo trend è osservabile sia nel trial condotto nella facility sperimentale che nel trial a scala industriale
- Sebbene non si misuri una differenza significativa tra gruppi, differenze nell'abbondanza di specifici taxa esistono > DA APPROFONDIRE!
- Lo stesso trend si è misurato anche in trial con formulazioni mangimistiche che impiegavano una fonte di insetto diversa



Take-home message

- Formulazioni mangimistiche alternative hanno impatti **paragonabili** a quelli di formulazioni mangimistiche convenzionali (a base di pesce) sulla struttura del microbioma dell'acqua
- Formulazioni mangimistiche alternative **non causano** un arricchimento in geni di resistenza, che potrebbero essere correlabili a fenomeni di antibiotico resistenza.

SYSTEMATIC REVIEW ARTICLE

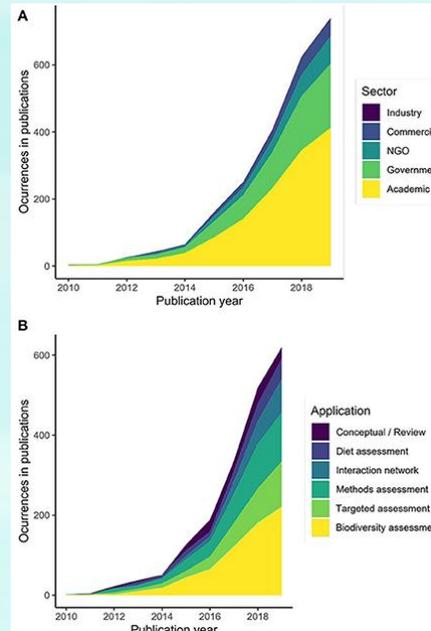
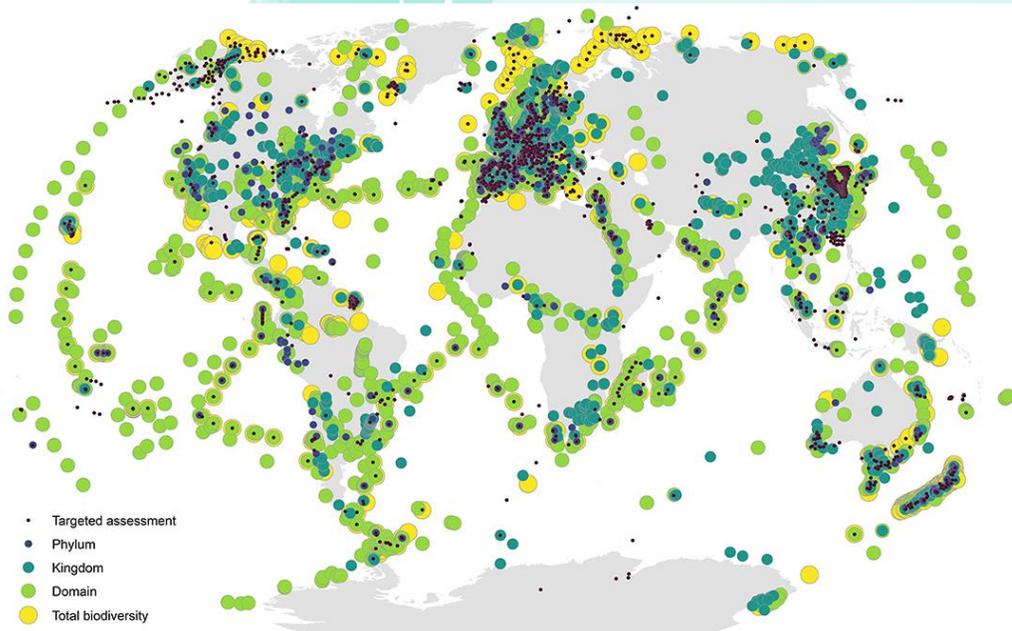
Front. Ecol. Evol., 30 November 2020 | <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.581835>

Metabarcoding From Microbes to Mammals: Comprehensive Bioassessment on a Global Scale

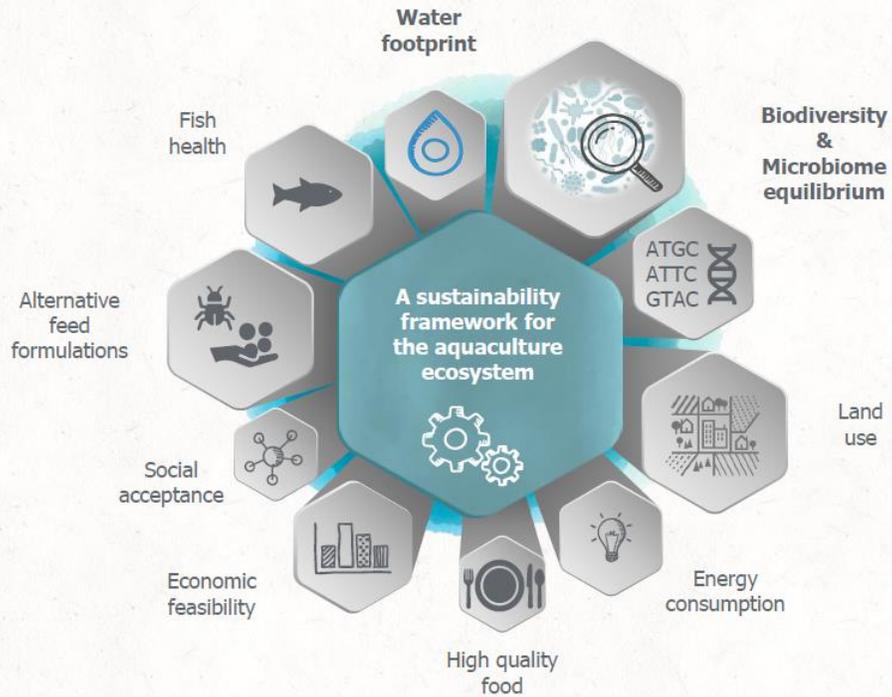
Zacchaeus G. Compson¹, Beverly McClenaghan¹, Gregory A. C. Singer¹, Nicole A. Fahner¹ and Mehrdad Hajibabaei^{1,2*}

¹Centre for Environmental Genomics Applications, eDNAtec Inc., St. John's, NL, Canada

²Department of Integrative Biology, Centre for Biodiversity Genomics, University of Guelph, Guelph, ON, Canada



"sentinella"



Un approccio olistico per la **complessa** valutazione degli impatti, basato sull'integrazione di metodologie diverse e complementari, permette quindi di tracciare un **framework** per la valutazione della sostenibilità dell'acquacoltura e di fornire nuove prospettive sull'analisi dello stato di salute dell'intero "**ecosistema dell'acquacoltura**".



Grazie per l'attenzione

antonia.bruno@unimib.it

massimo.labra@unimib.it