



CARBODIET

Hacia una acuicultura sostenible

Biocarbones en la alimentación de peces planos: respuestas de la microbiota, expresión génica y nutrientes del sistema de cultivo

Dra. María del Carmen Castro Pérez

Dra. Alma Hernández de Rojas

Área de Acuicultura y Biotecnología Azul.

Instituto Español de Oceanografía -Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Cádiz, 10 de febrero de 2026



Cofinanciado por
la Unión Europea



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN



Fondos Europeos



GOBIERNO
DE ESPAÑA
VICERREINADO
TERCERA DEL GOBIERNO
MINISTERIO
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA
Y EL RETO DEMOGRÁFICO



Fundación Biodiversidad



Pleamar



INCAR



CSIC

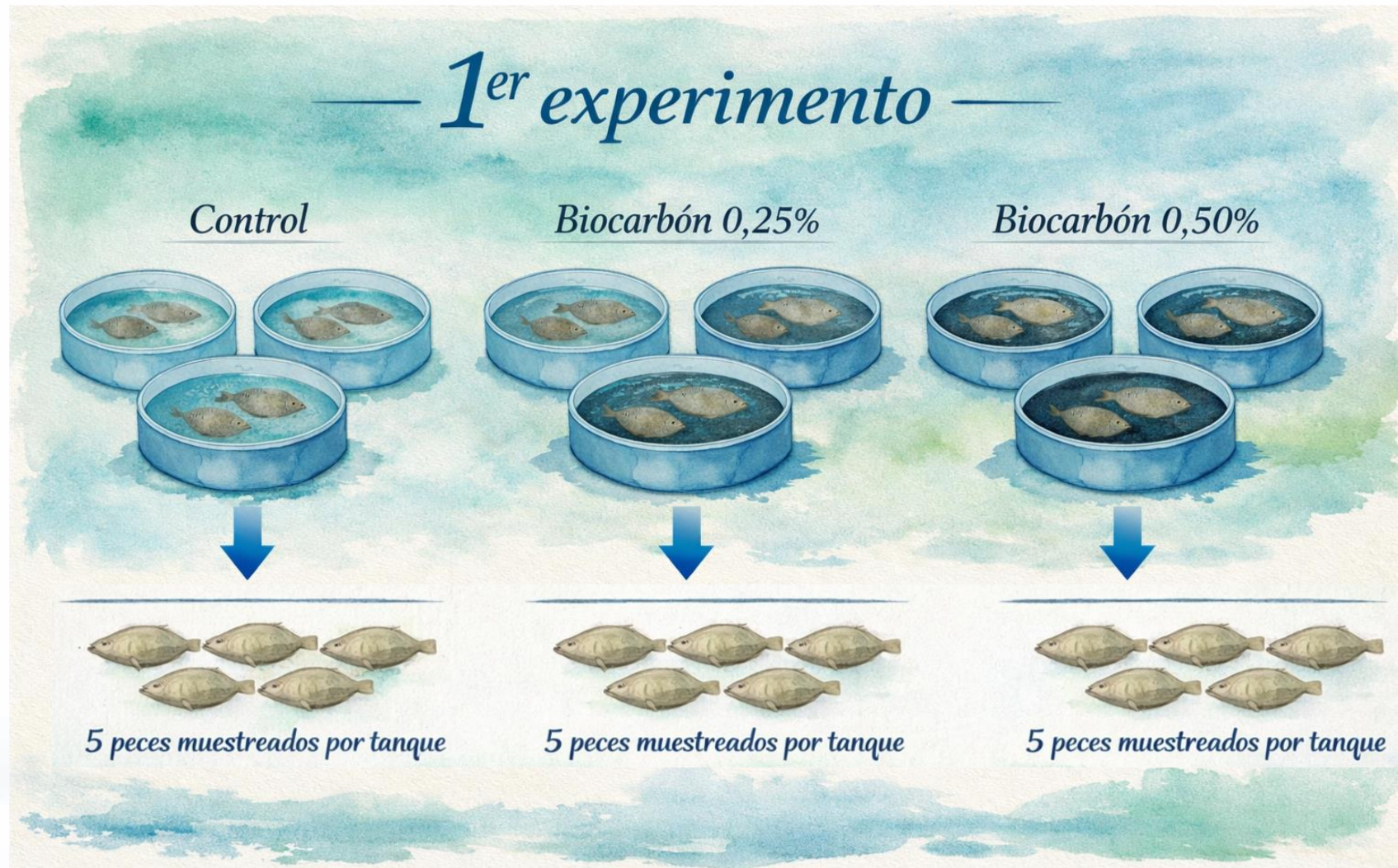


UCA



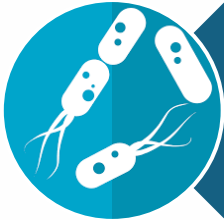
UNIVERSIDAD
DE ALMERÍA

El Proyecto CARBODIET se desarrolla con la colaboración de la Fundación Biodiversidad del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, a través del Programa Pleamar y está cofinanciado por la Unión Europea a través de Fondo Europeo Marítimo de Pesca y Acuicultura.



2º experimento





ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA



ANÁLISIS DE LOS NUTRIENTES DEL AGUA DE CULTIVO



ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE GENES



Cofinanciado por
la Unión Europea

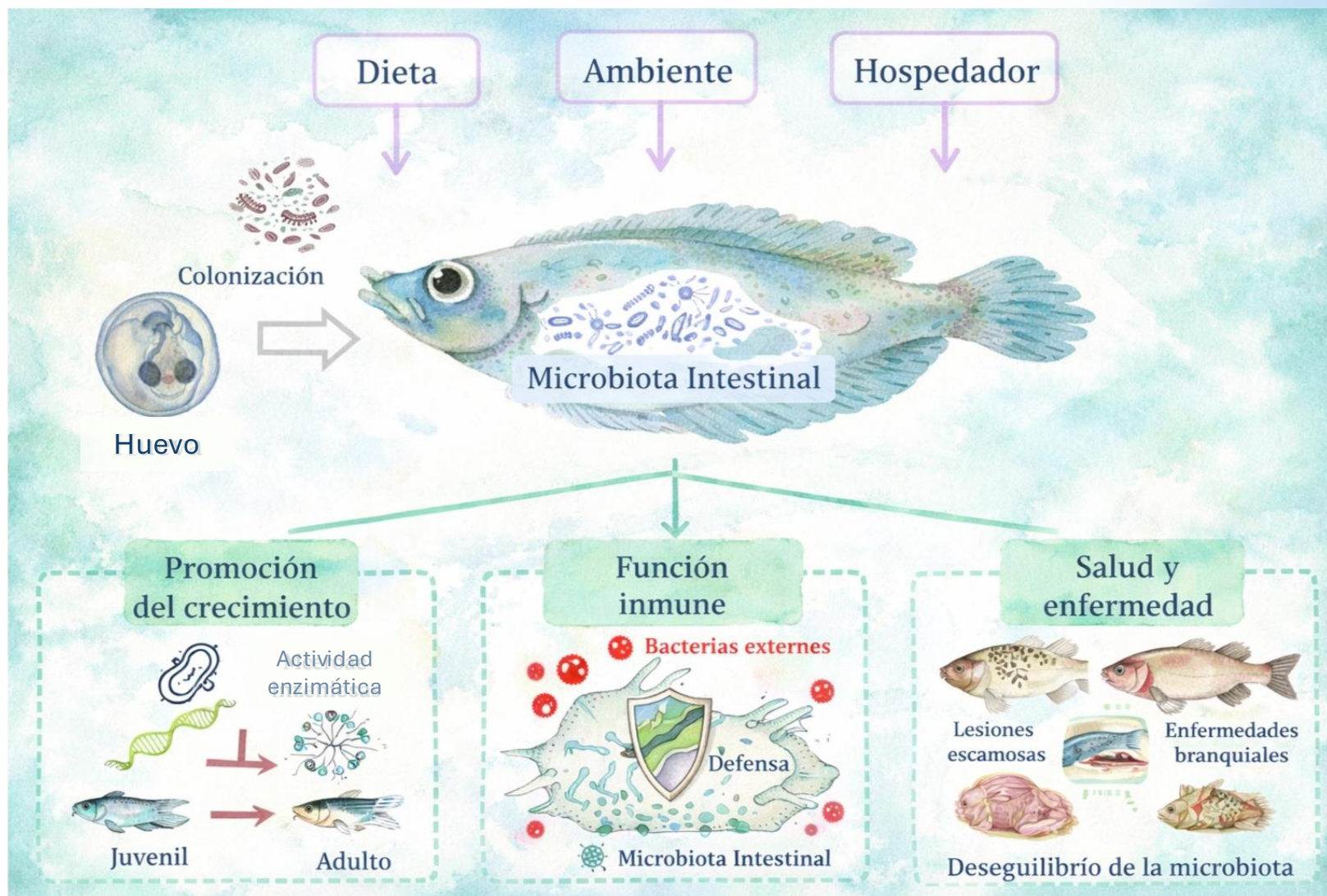


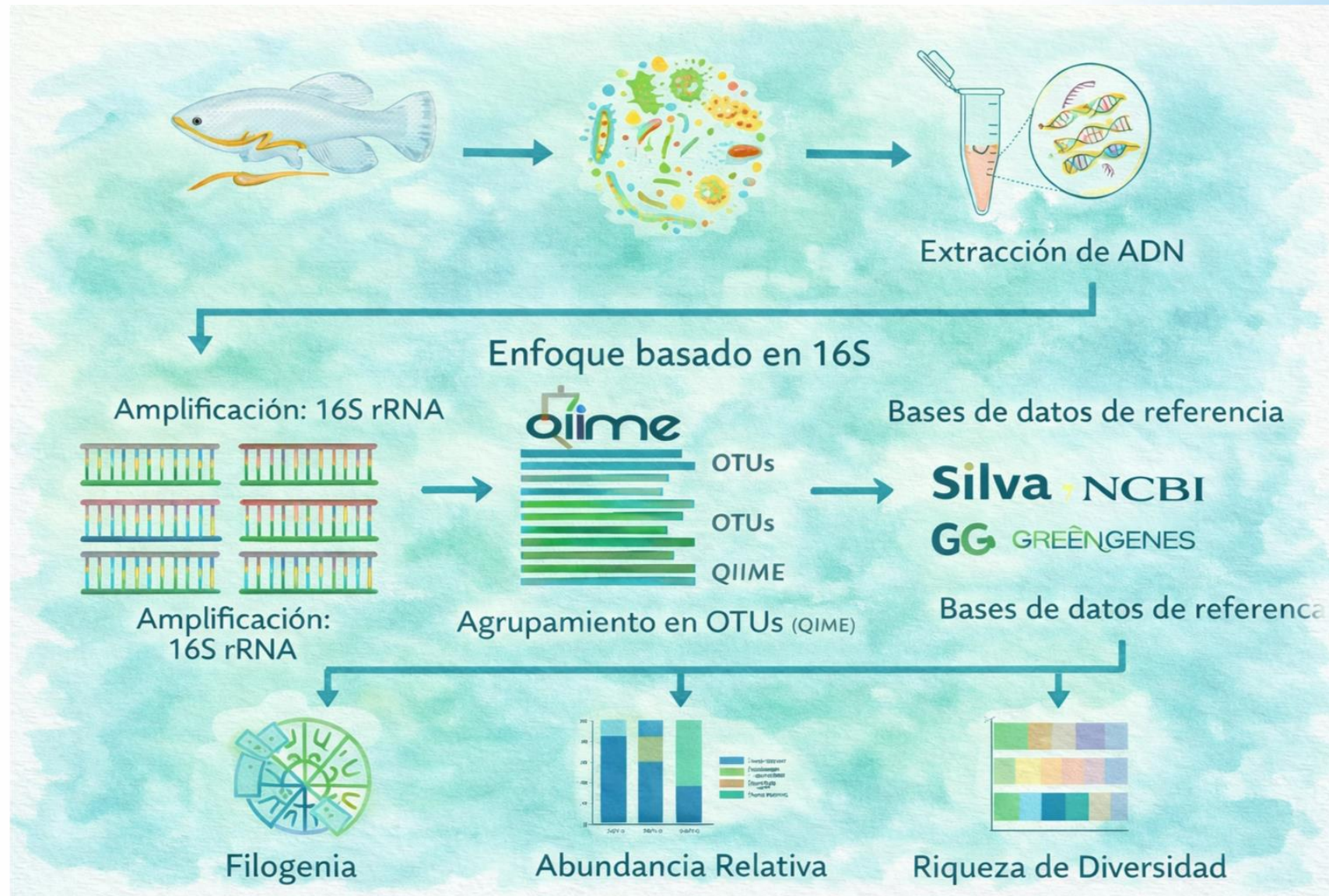
El Proyecto CARBODIET se desarrolla con la colaboración de la Fundación Biodiversidad del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, a través del Programa Pleamar y está cofinanciado por la Unión Europea a través de Fondo Europeo Marítimo de Pesca y Acuicultura.



ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA

- 1er EXPERIMENTO
- *Solea Senegalensis*





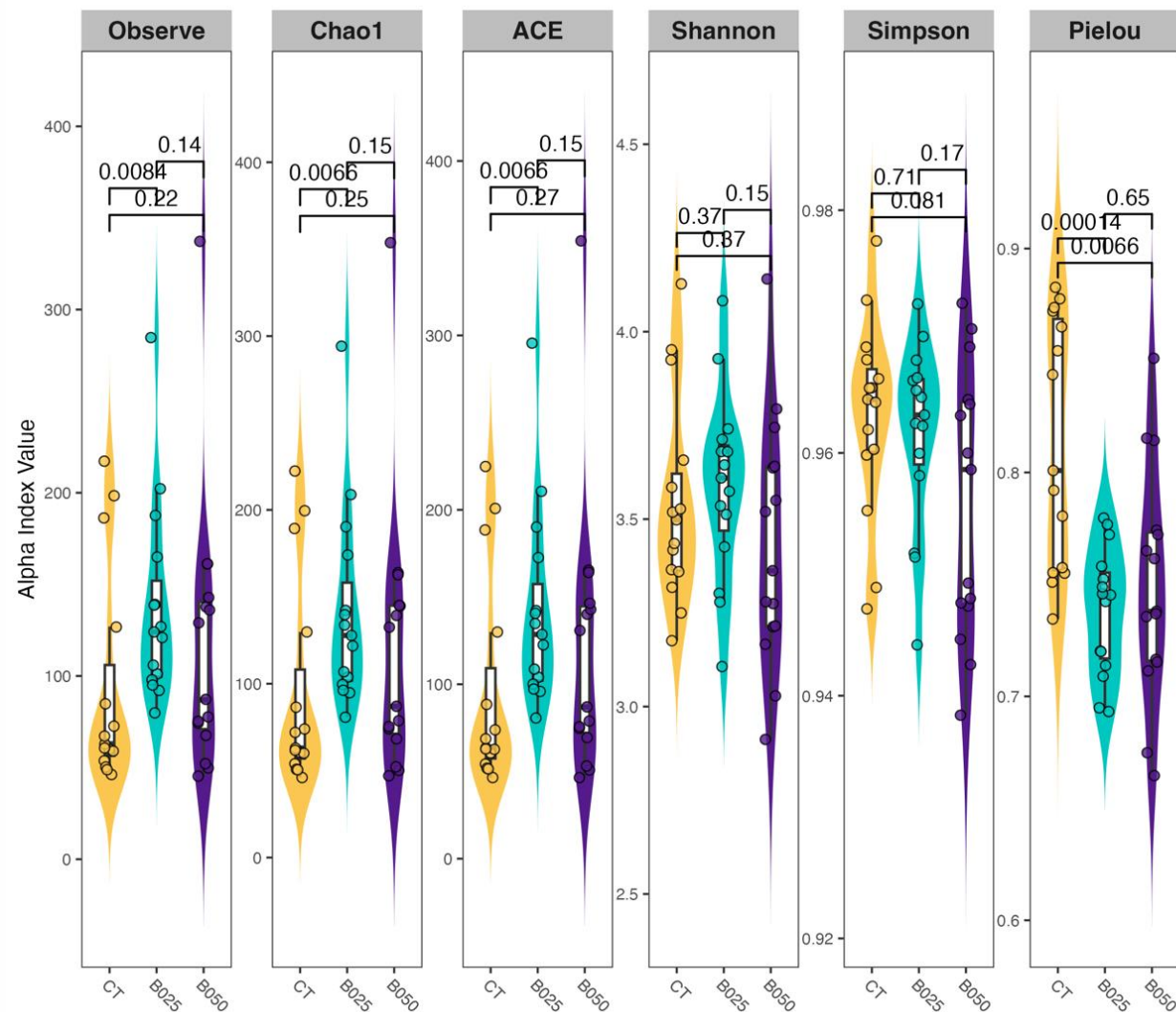
LENGUADO - ANÁLISIS DIVERSIDAD ALFA

1) La dieta suplementada con **0.25% de biocarbón**

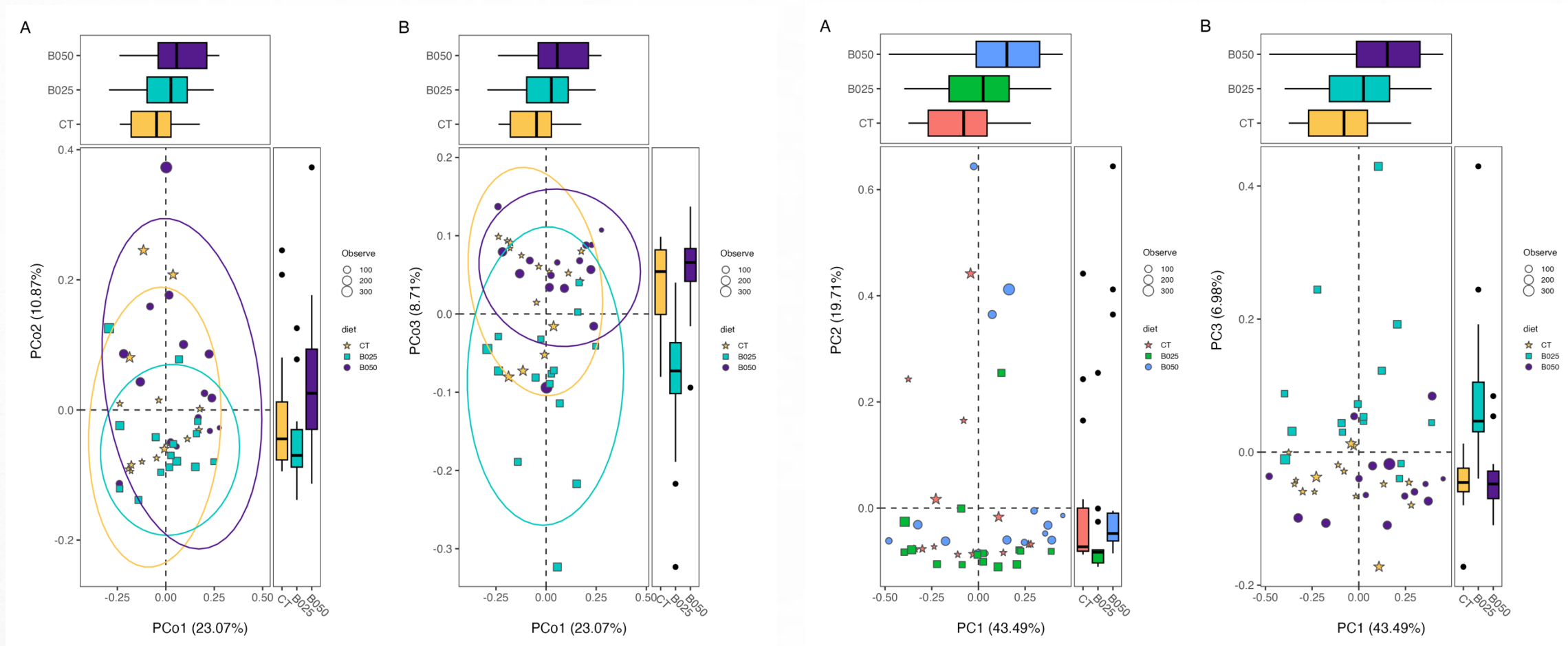
- **↑ Riqueza:** Observed ($p=0.0084^{**}$), Chao1 ($p=0.0066^{**}$), ACE ($p=0.0066^{**}$)
- **↓ Equidad:** Pielou ($p=0.00014^{***}$ vs CT)

2) La dieta con suplementada con **0.50% de biocarbón**

- **↓ Dominancia:** Simpson ($p=0.081^{*}$ vs CT)
- **↓ Equidad:** Pielou ($p=0.0066^{**}$)

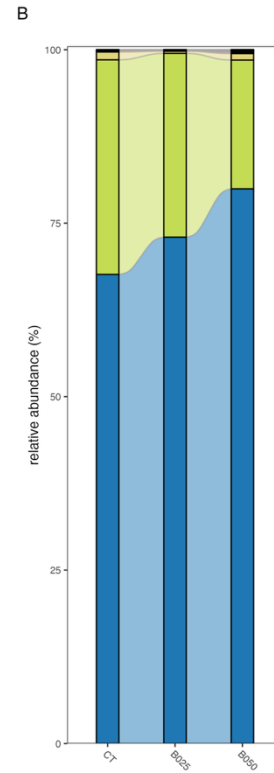
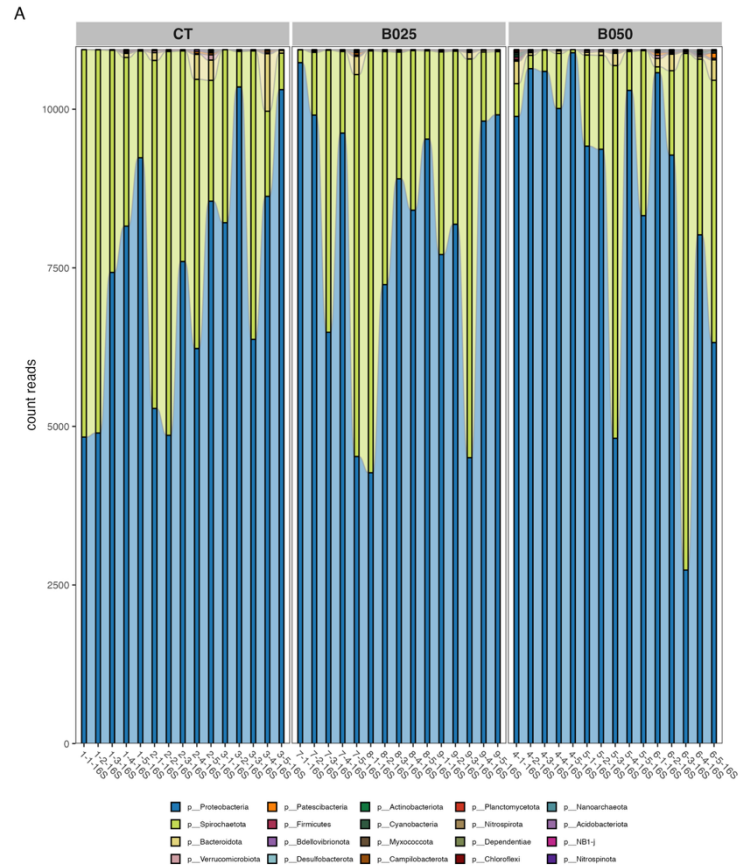


LENGUADO - ANÁLISIS DIVERSIDAD BETA

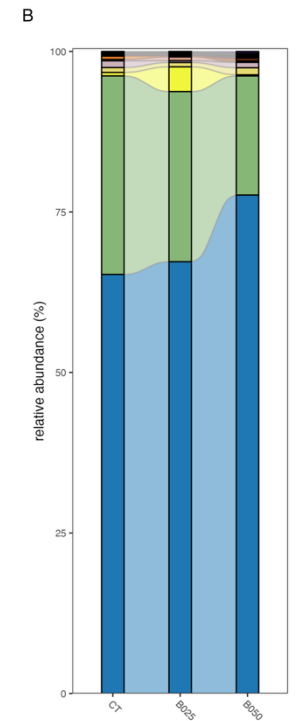
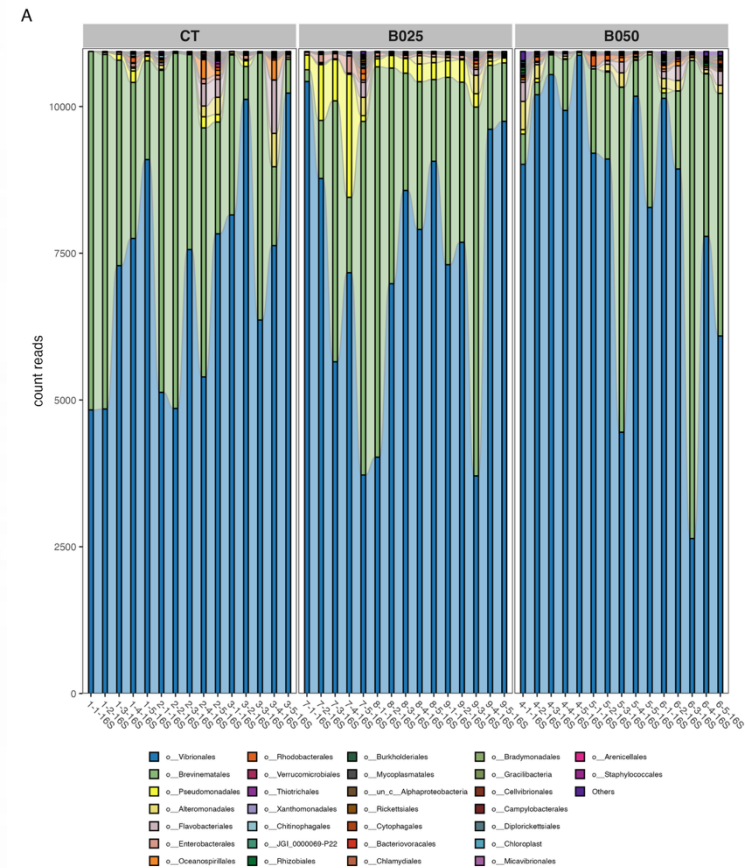


LENGUADO – COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

PHILUM

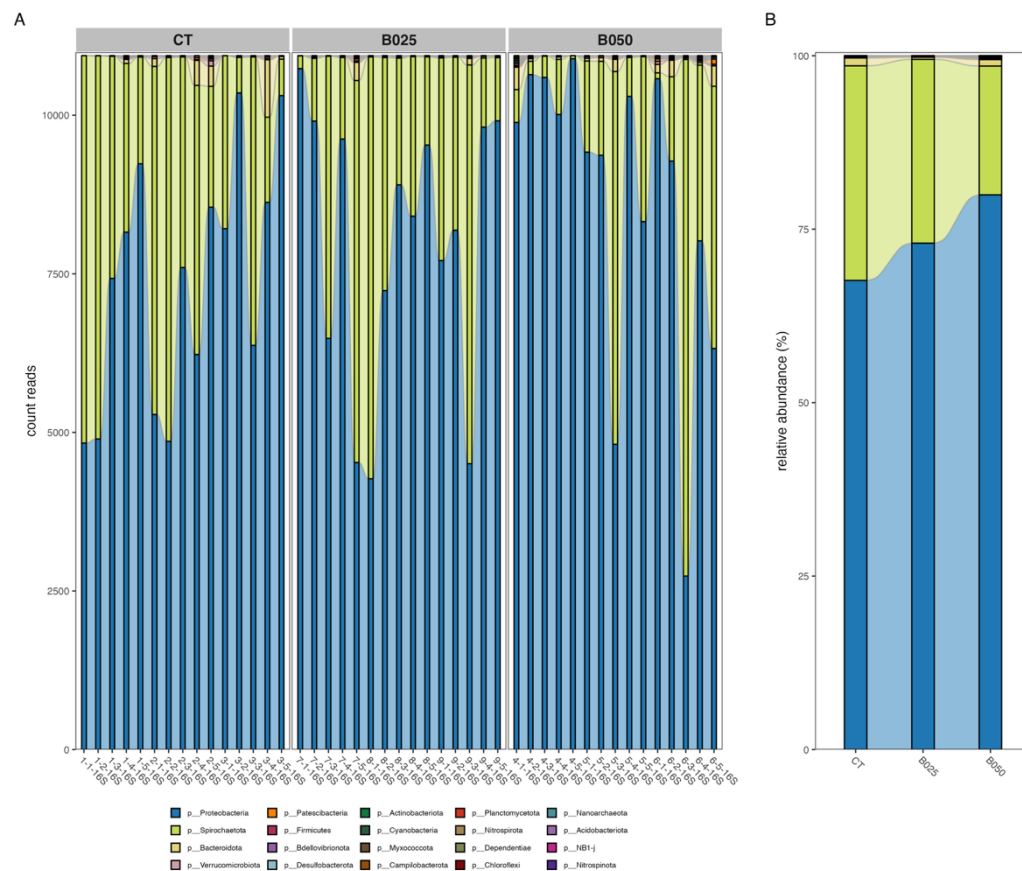


ORDER



LENGUADO – COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

PHILUM



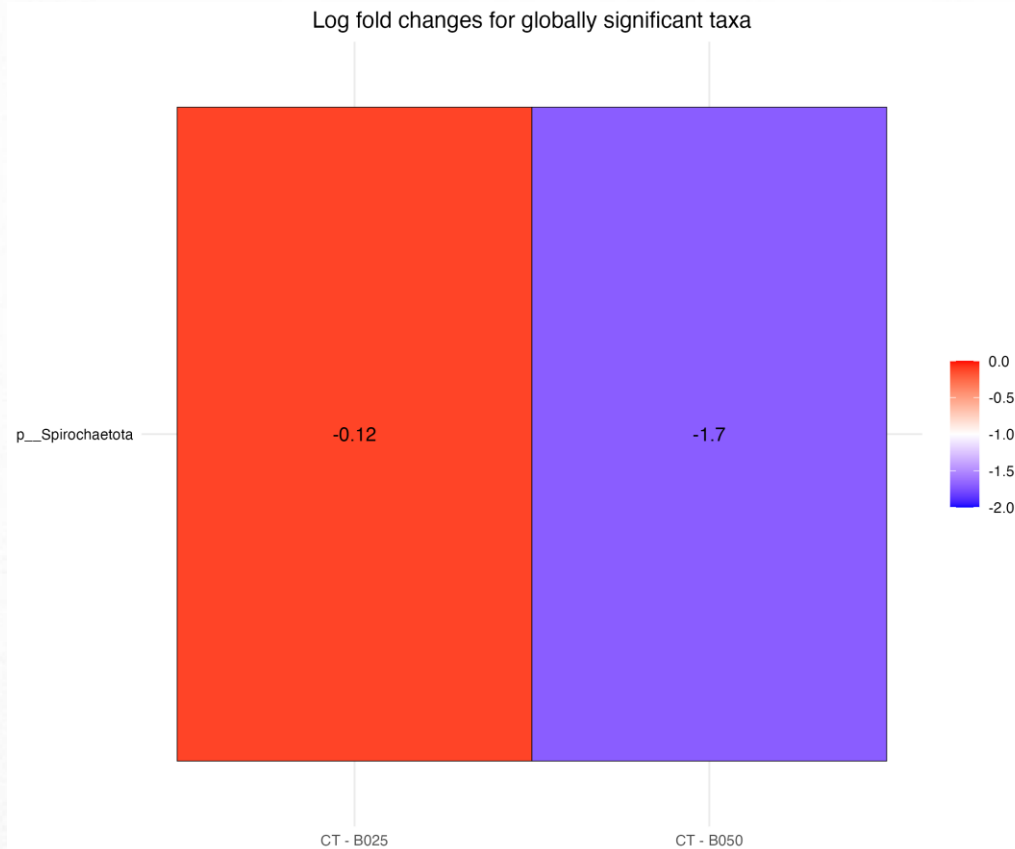
La variabilidad individual es alta, como es común en microbiota intestinal.

Los tres **filos más abundantes** son:

- *Proteobacteria*
- *Spirochaetota*
- *Bacteroidota*

Se observa un **aumento** de la abundancia relativa en el filo *Proteobacteria* y una disminución en el filo *Spirochaetota*.

LENGUADO – ANALISIS DIFERENCIAL DE LA ABUNDANCIA (ANCOM-BC2)



CT vs B025: Spirochaetota LFC = -0.12 (leve ↓)
CT vs B050: Spirochaetota LFC = -1.7 (↓ fuerte!)

- **B050 modula fuertemente microbiota ↓ Spirochaetota**
- **Dosis-dependiente:** B025 efecto mínimo (-0.12), B050 impacto alto (-1.7).

LENGUADO – CONCLUSIONES

DIVERSIDAD ALFA

- El biocarbón modifica la estructura de la comunidad microbiana, pero no siempre de manera positiva o negativa: simplemente la modifica.
- Con 0.25% de biocarbón en la dieta hay más riqueza, pero menos equidad.
- Con 0.50% de biocarbón en la dieta hay menos dominancia, pero también menos equidad.
- No se observa un patrón dosis-dependiente

MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA

La adición de biocarbón en los piensos de *Solea senegalensis* produce en la microbiota del intestino de éstos un efecto modulador:

- 1) **reduciendo la presencia del filo *Spirochaetota***
- 2) **enriqueciendo la presencia *Proteobacteria*** (¿mejora digestión/salud intestinal?):
 - ❖ Produce enzimas (lipasas, amilasas, proteasas, quitinasas, fitasas) para hidrolizar componentes de piensos, como quitina y polisacáridos;
 - ❖ Genera ácidos grasos omega-3 (EPA/DHA), SCFA y biotina, beneficiando absorción y salud intestinal.

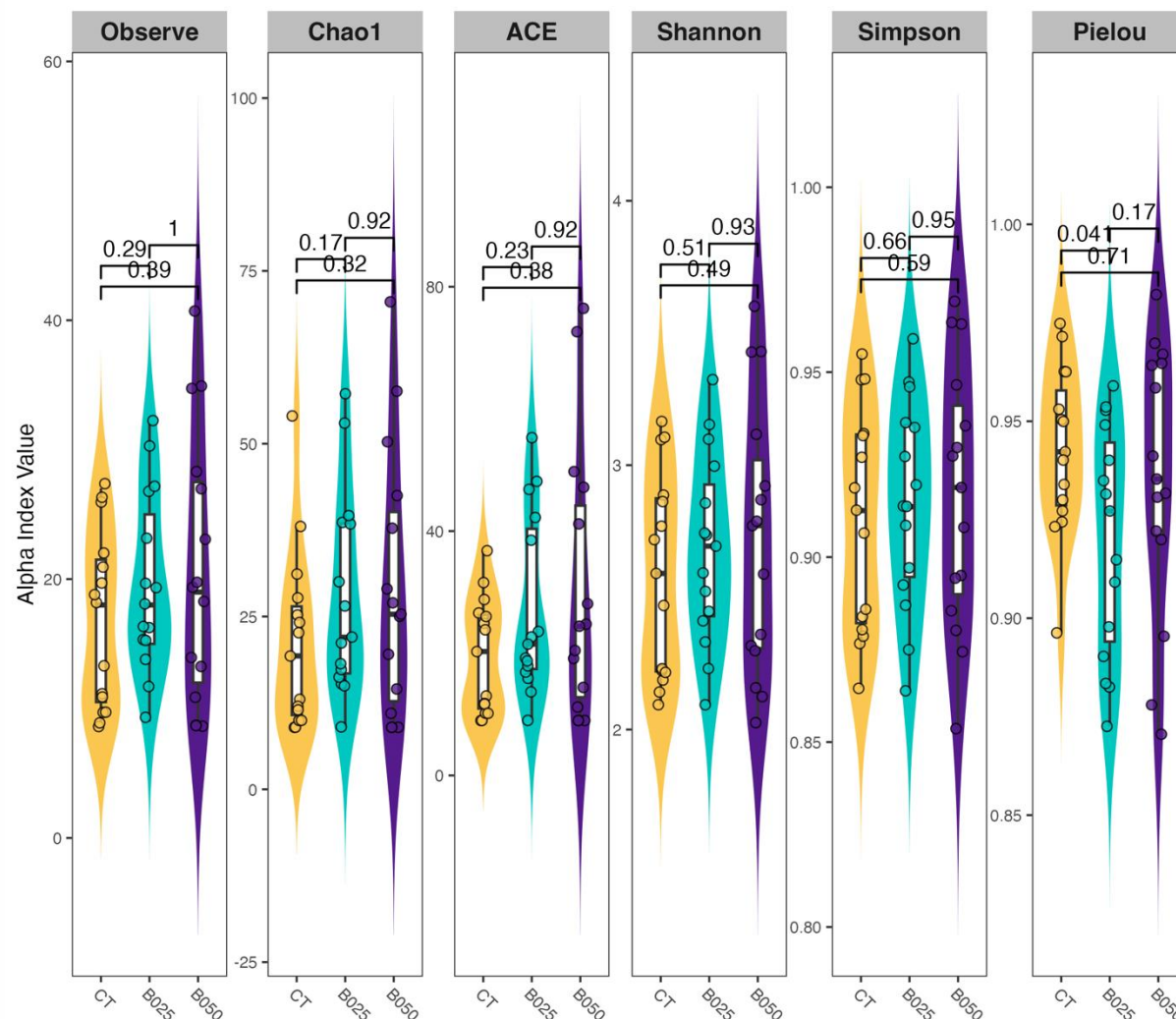


ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA

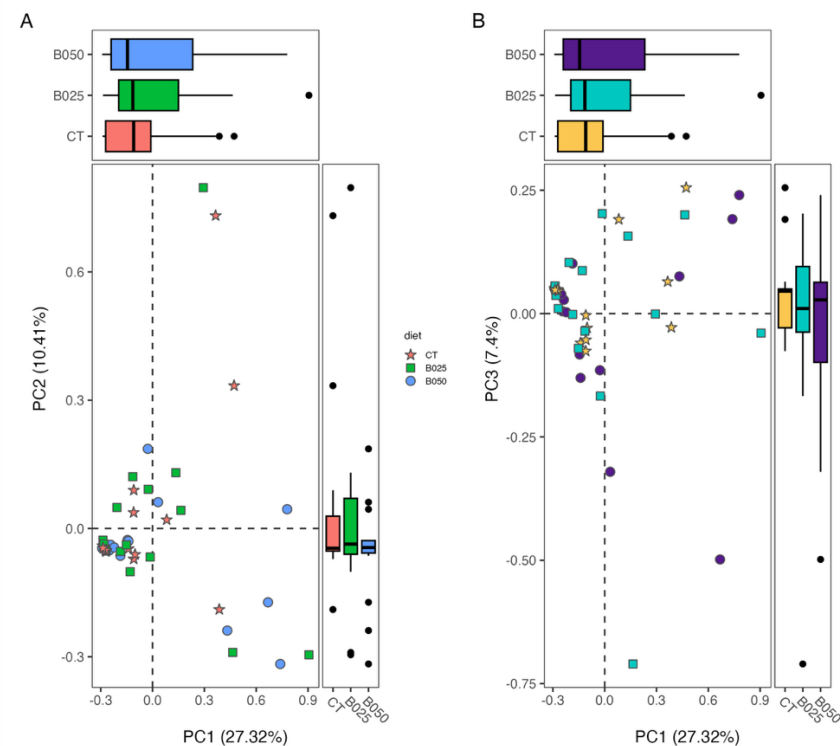
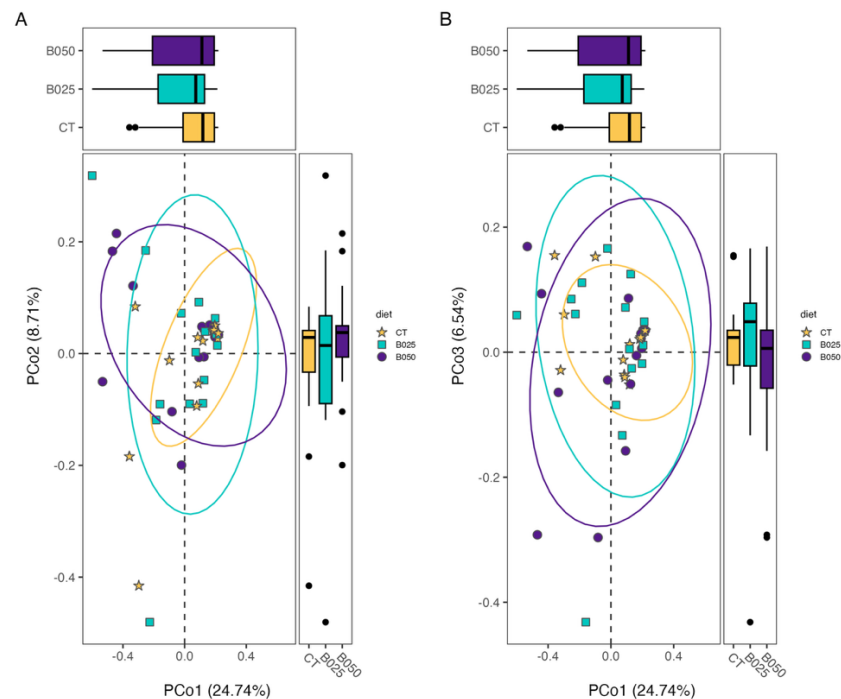
- 1er EXPERIMENTO
- *Scophthalmus maximus*

RODABALLO - ANÁLISIS DIVERSIDAD ALFA

- **No se observan diferencias significativas** entre los diferentes índices de diversidad alfa.
- **No hay “efecto negativo” del biocarbón** - Los índices de diversidad no se reducen con la adición del biocarbón
- **Posible tendencia positiva en B025** - Shannon ligeramente mayor en la dieta con 0.25% de biocarbón
- **Mayor variabilidad en B050** - La dosis más alta (0.50%) muestra mayor dispersión entre individuos

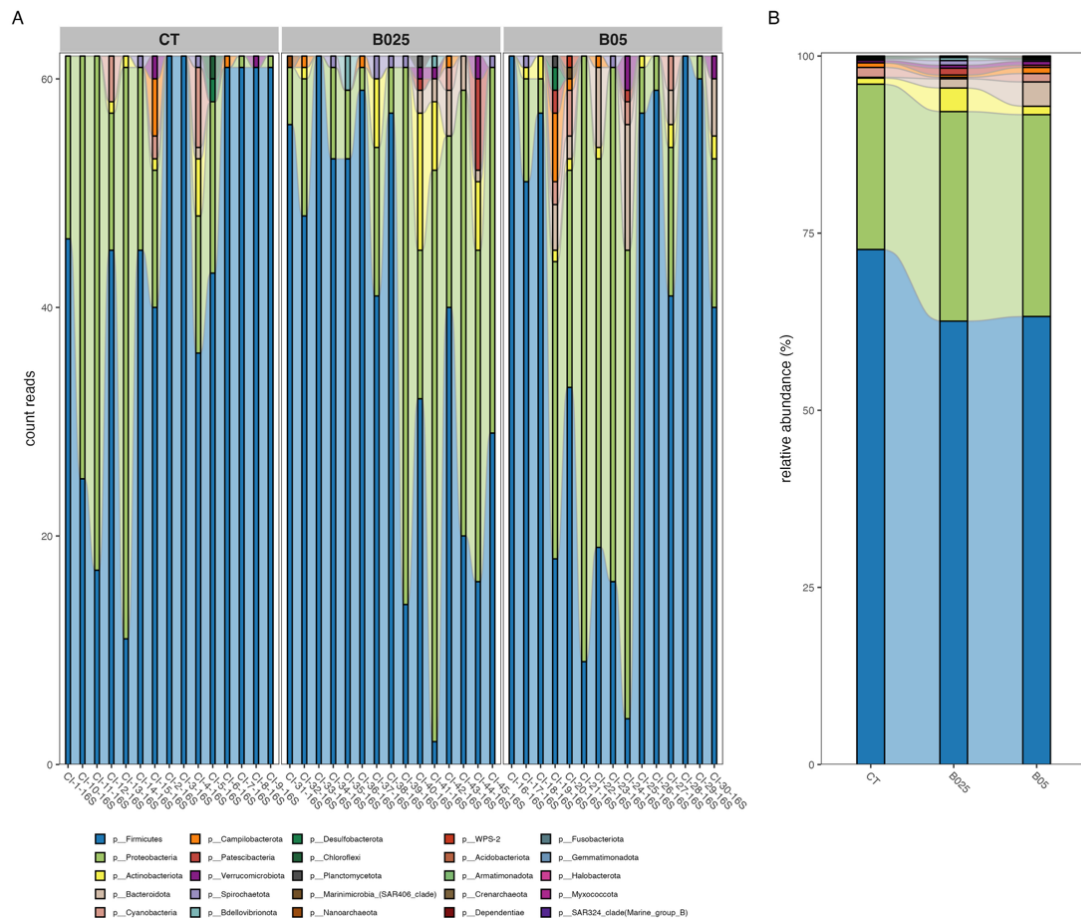


RODABALLO - ANÁLISIS DIVERSIDAD BETA

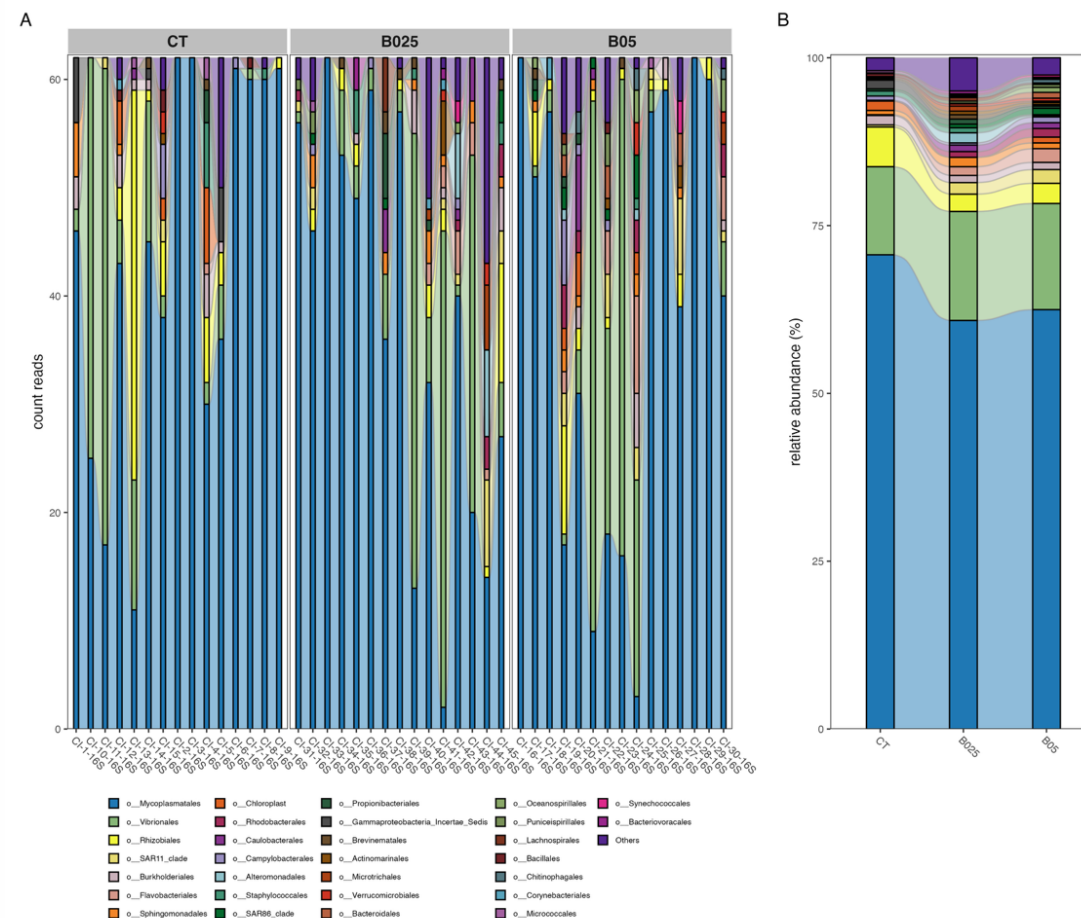


RODABALLO – COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

PHILUM

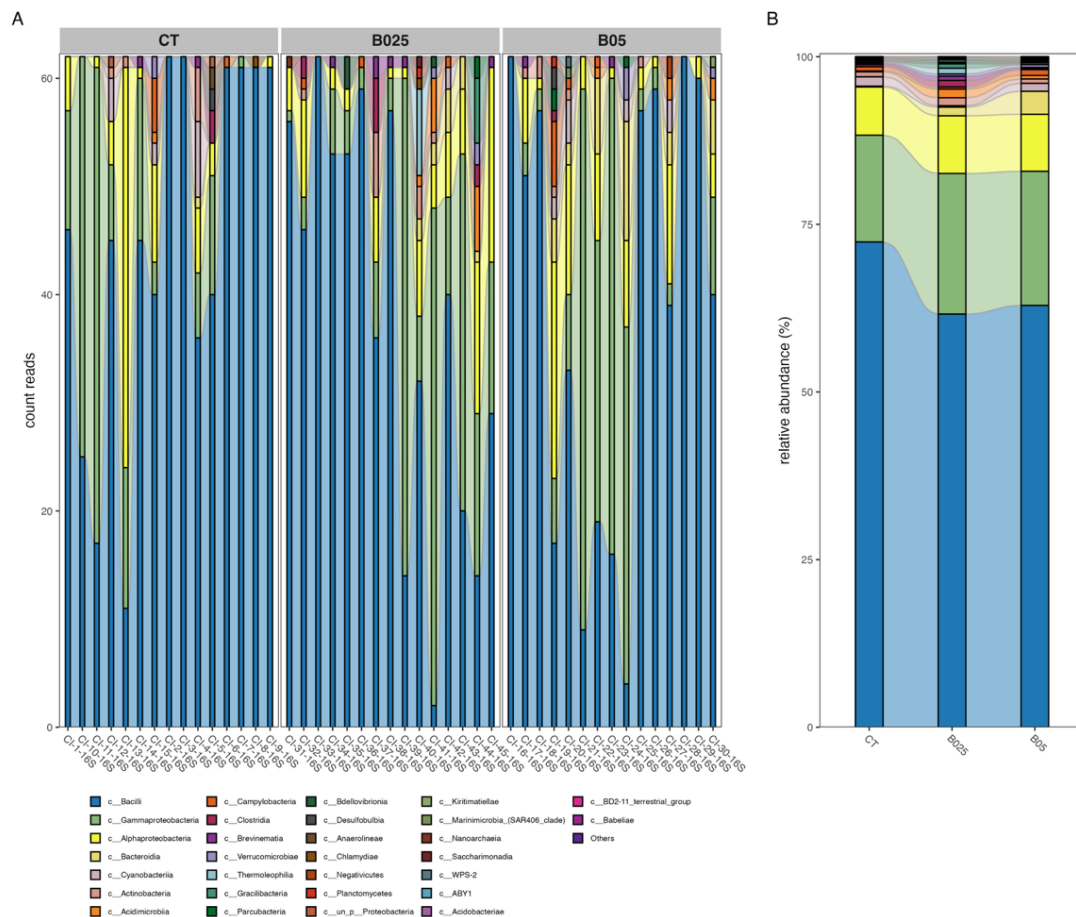


ORDER

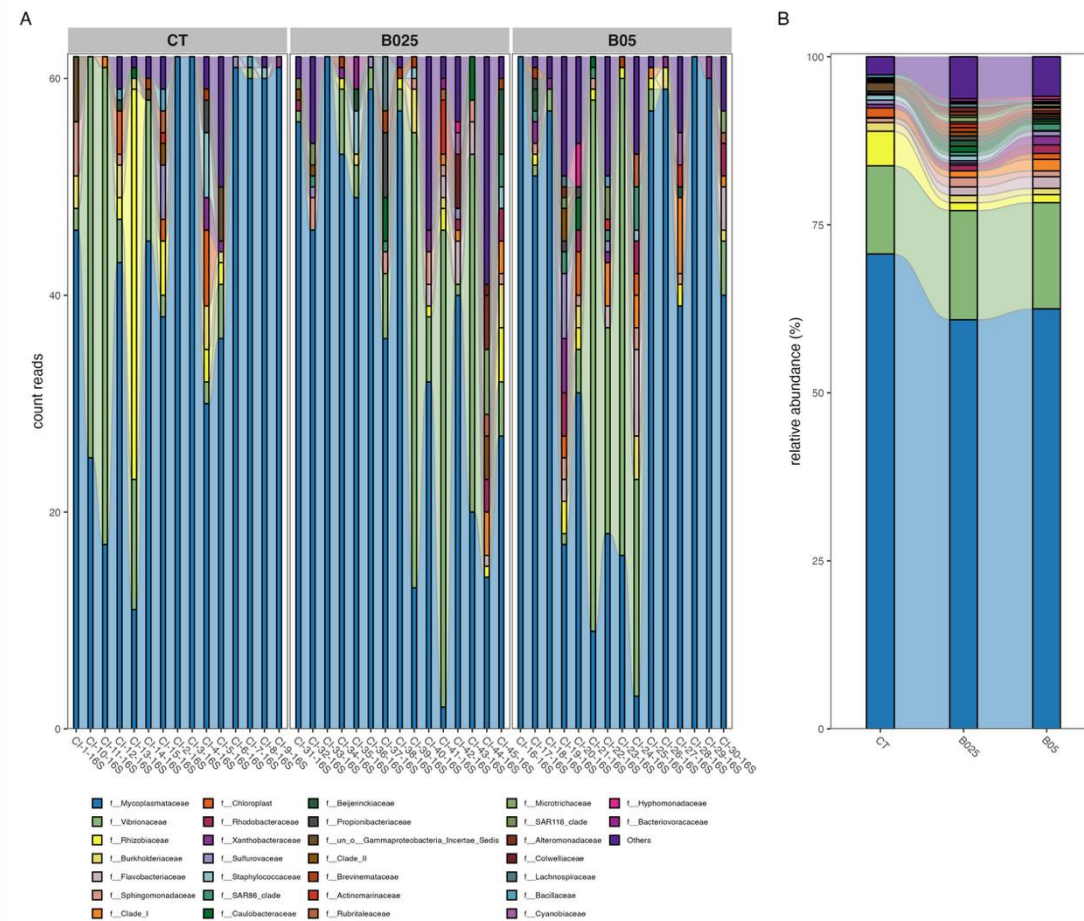


RODABALLO – COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

CLASS



FAMILY



RODABALLO – COMPOSICIÓN TAXONÓMICA

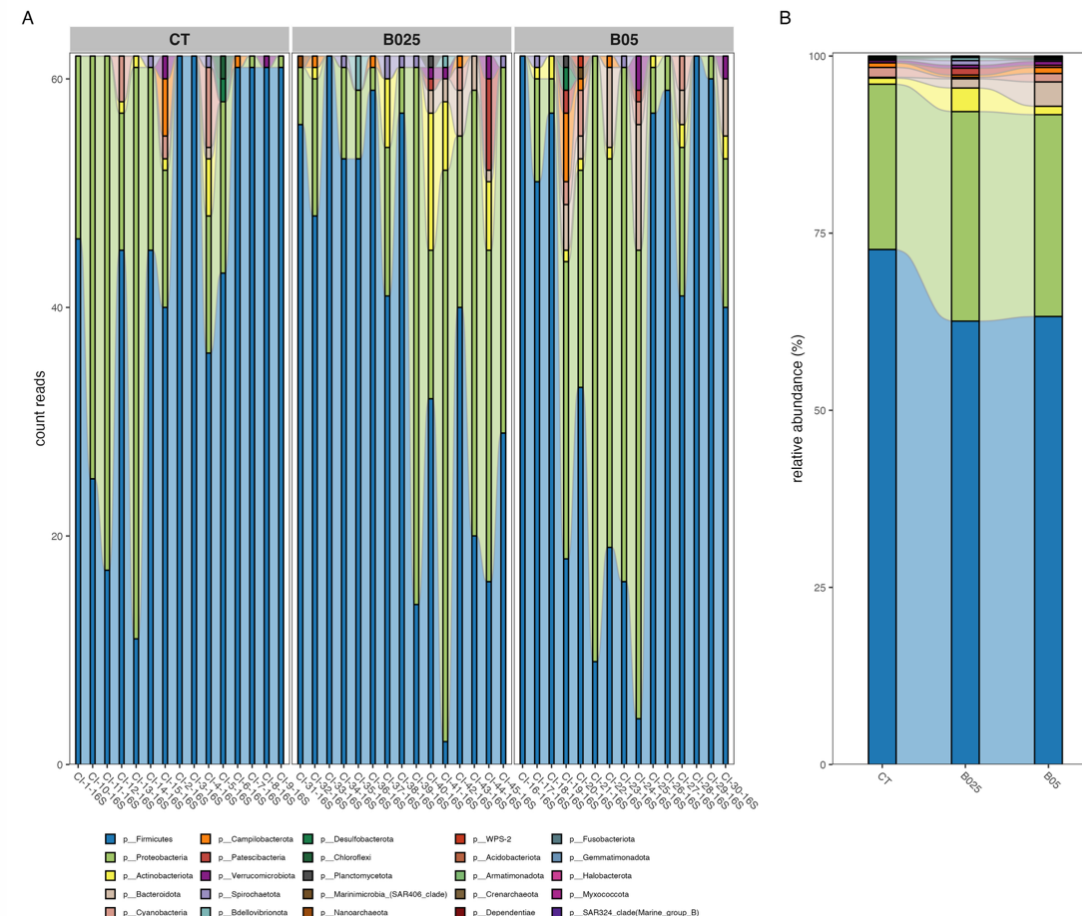
La variabilidad individual es alta, como es común en microbiota intestinal.

Los tres **filos más abundantes** son:

- *Firmicutes*
- *Proteobacteria*
- *Bacteriodota*

Se observa una **disminución** de la abundancia relativa en el filo *Firmicutes* y un aumento en el filo *Proteobacteria*.

PHILUM



RODABALLO – ANALISIS DIFERENCIAL (ANCOM-BC2)

EFFECTO	PHYLUM	FAMILIA	GENERO	COEF	P-VAL
↑ B050	<i>Campilobacterota</i>	<i>Sulfurovaceae</i>	<i>Sulfurovum</i>	+0.37	0.004
↓ B050	<i>Firmicutes</i>	<i>Mycoplasmataceae</i>	Uncultured	-0.61	<0.001

Con la dosis más alta de biocarbón observamos dos cambios muy significativos en la composición bacteriana:

- 1) una **reducción importante del filo *Firmicutes*** asignado a la familia *Mycoplasmataceae* del 61% en los animales tratados (p-valor < 0,001).
- 2) un **aumento notable de la familia *Sulfurovum*** —una bacteria oxidante del azufre— del 37% (p = 0.004)

DIVERSIDAD ALFA

- El biocarbón no modifica la diversidad alfa en rodaballo, de manera estadísticamente significativa (a diferencia del lenguado).

MODULACIÓN DE LA MICROBIOTA

La adición de biocarbón en los piensos de *Scophthalmus maximus* produce en la microbiota del intestino de éstos un efecto modulador:

- 1) **reduciendo la presencia del filo *Firmicutes***
- 2) **enriqueciendo la presencia de la familia *Sulforovum***

LENGUADO VS RODABALLO – CONCLUSIONES

	LENGUADO	RODABALLO
Diversidad alfa	Cambia significativamente	No cambia significativamente
Filo dominante	Proteobacteria	Firmicutes
Efecto principal	Spirochaetota ↓ Spirochaetota	Proteobacteria ↓ Mycoplamataceae ↑ Sulforovum
Dosis crítica	0.50%	0.50%
Variabilidad	Alta (como es normal)	Alta (como es normal)

- El biocarbón tiene efectos moduladores en la microbiota intestinal de AMBAS especies, pero probablemente el MECANISMO específico es diferente

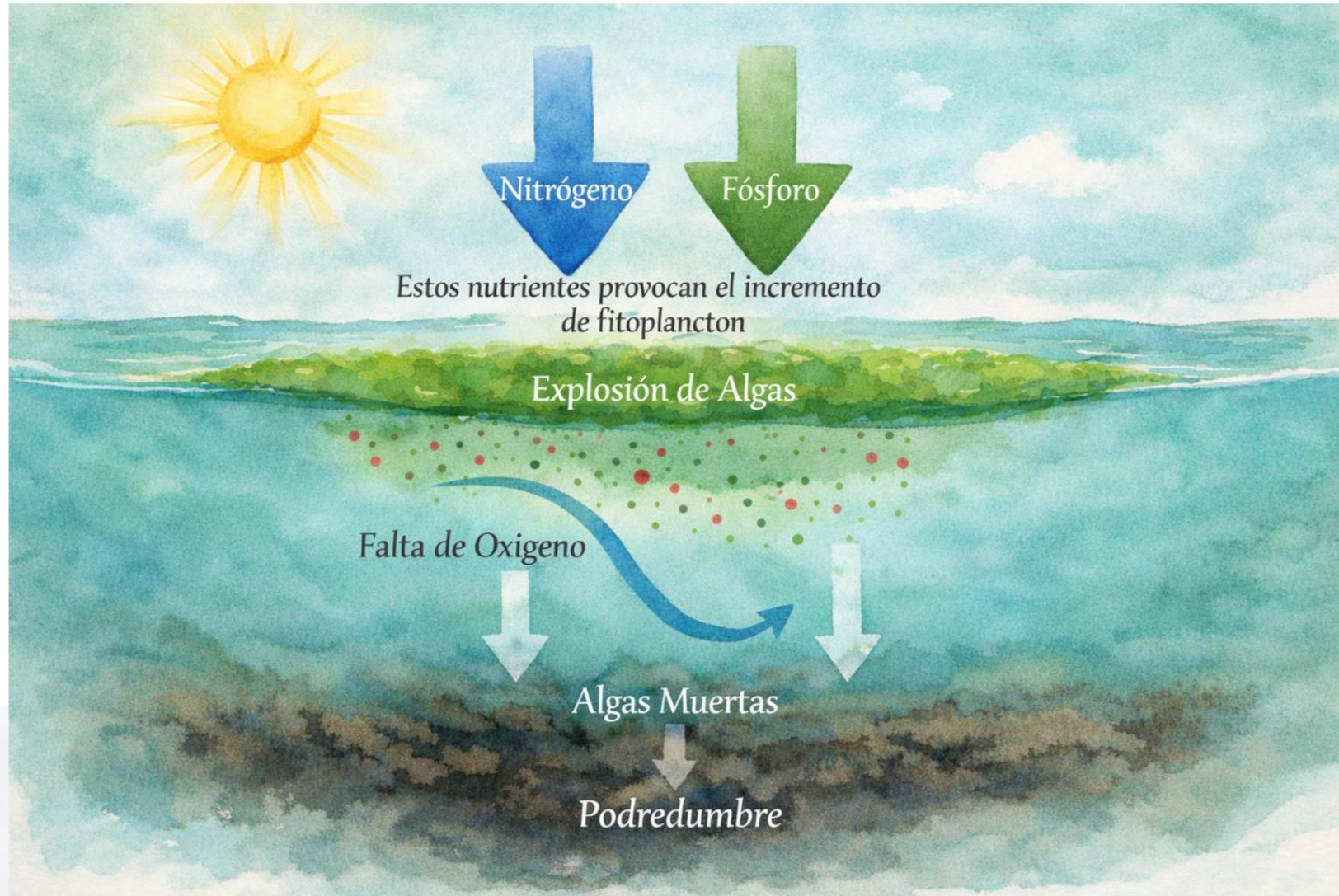


ANÁLISIS DE LOS NUTRIENTES DEL AGUA DE CULTIVO

CICLO DEL NITRÓGENO



PROCESO DE EUTROFIZACIÓN

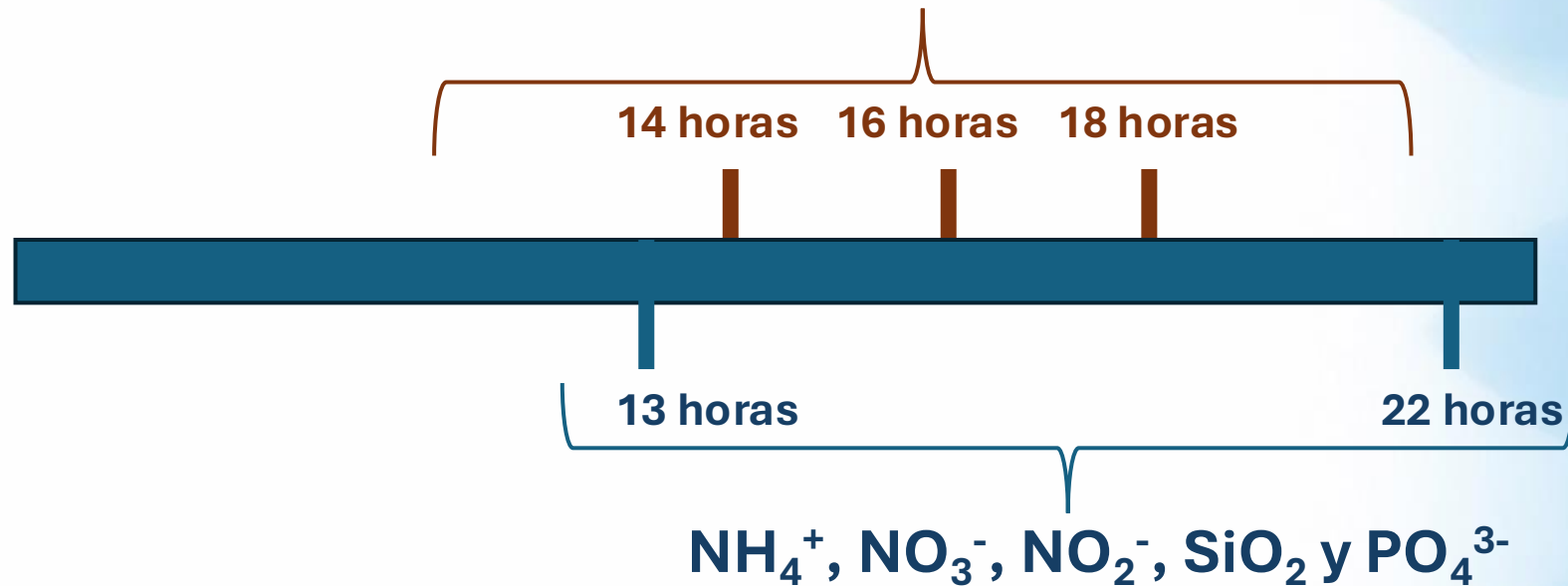




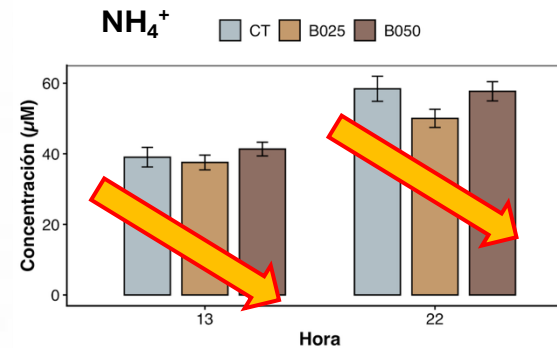
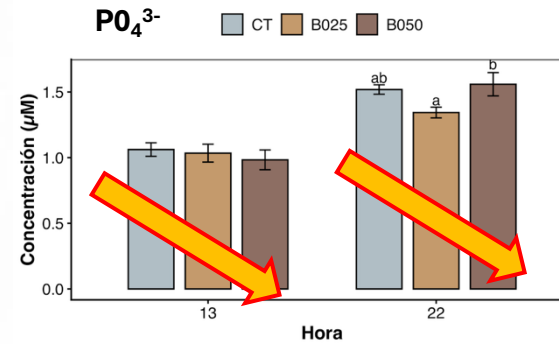
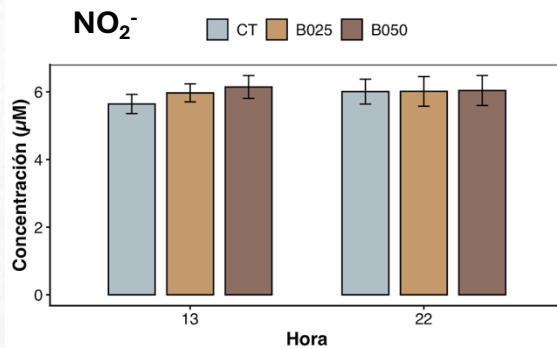
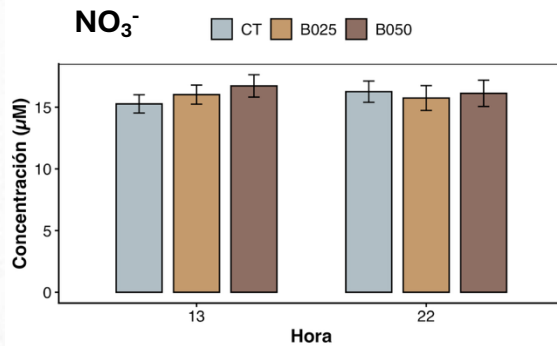
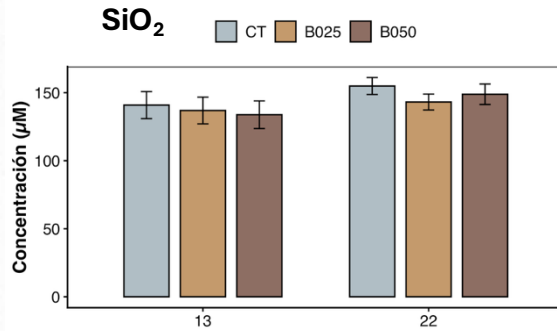
ANÁLISIS DE LOS NUTRIENTES DEL AGUA DE CULTIVO

- 1er y 2º EXPERIMENTO
- *Solea Senegalensis*

ALIMENTACIÓN



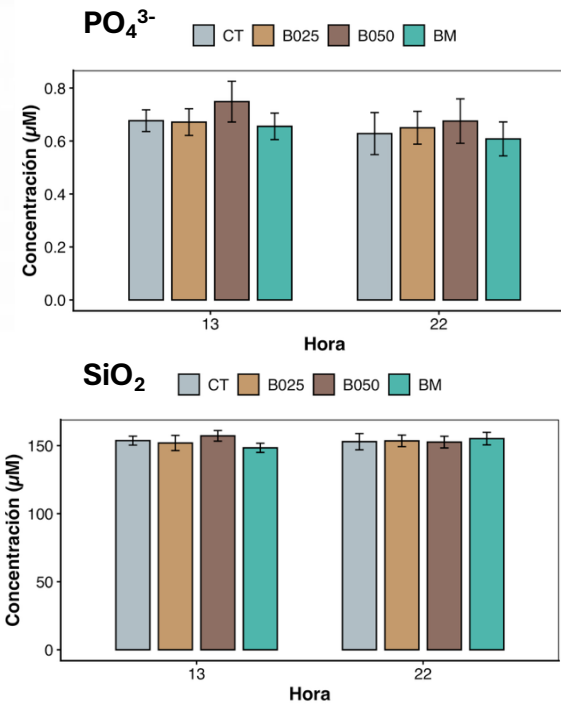
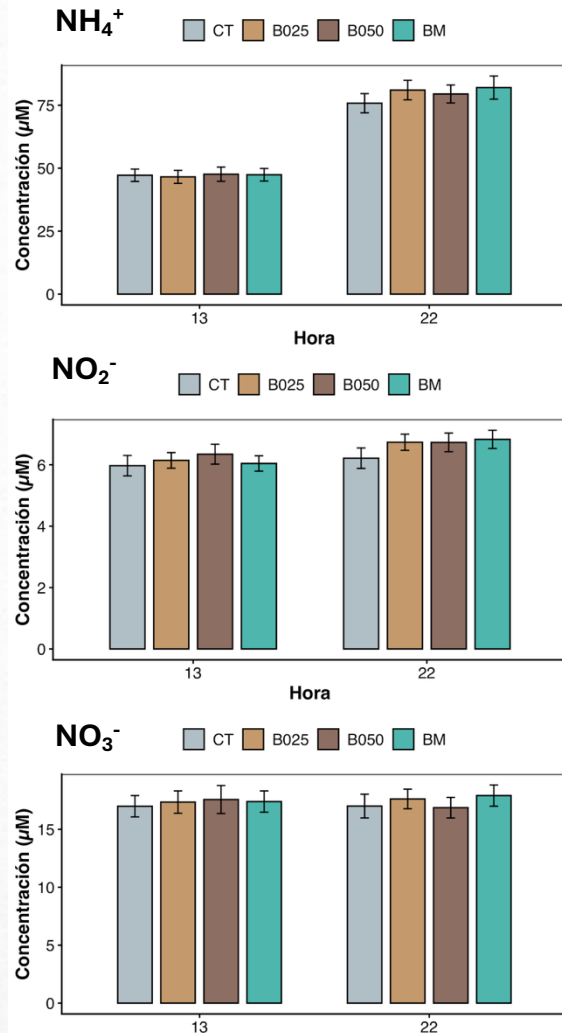
LENGUADO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 1er EXPERIMENTO



- A las 22 h (4–5 h tras la última comida) hay diferencias significativas entre dietas en la concentración de PO₄³⁻ en agua.
- La dieta B025 presenta valores de PO₄³⁻ significativamente más bajos que el control; la dieta B050 es intermedia.

- No se detectan diferencias significativas entre dietas en NH₄⁺, pero se observa una tendencia a menores concentraciones con mayor proporción de biocarbón, tanto a las 13 h como a las 22 h.
- A las 22 horas, la dieta B025 muestra valores de NH₄⁺ ligeramente menores que el control (tendencia, no significativa).

LENGUADO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 2º EXPERIMENTO



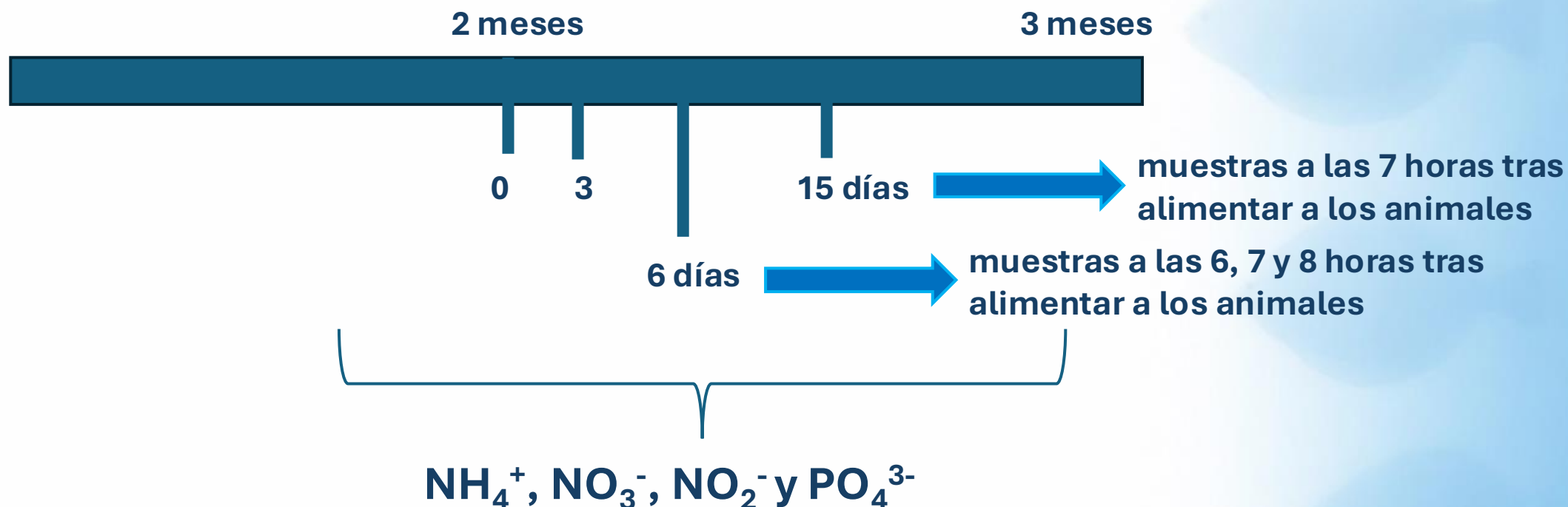
- No se encontraron diferencias significativas entre dietas para ningún nutriente (PO₄³⁻, NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻, SiO₂).

Las dietas con 5% microalgas solas o combinadas con biocarbón no generan cambios detectables en la calidad del agua, frente a la dieta control.



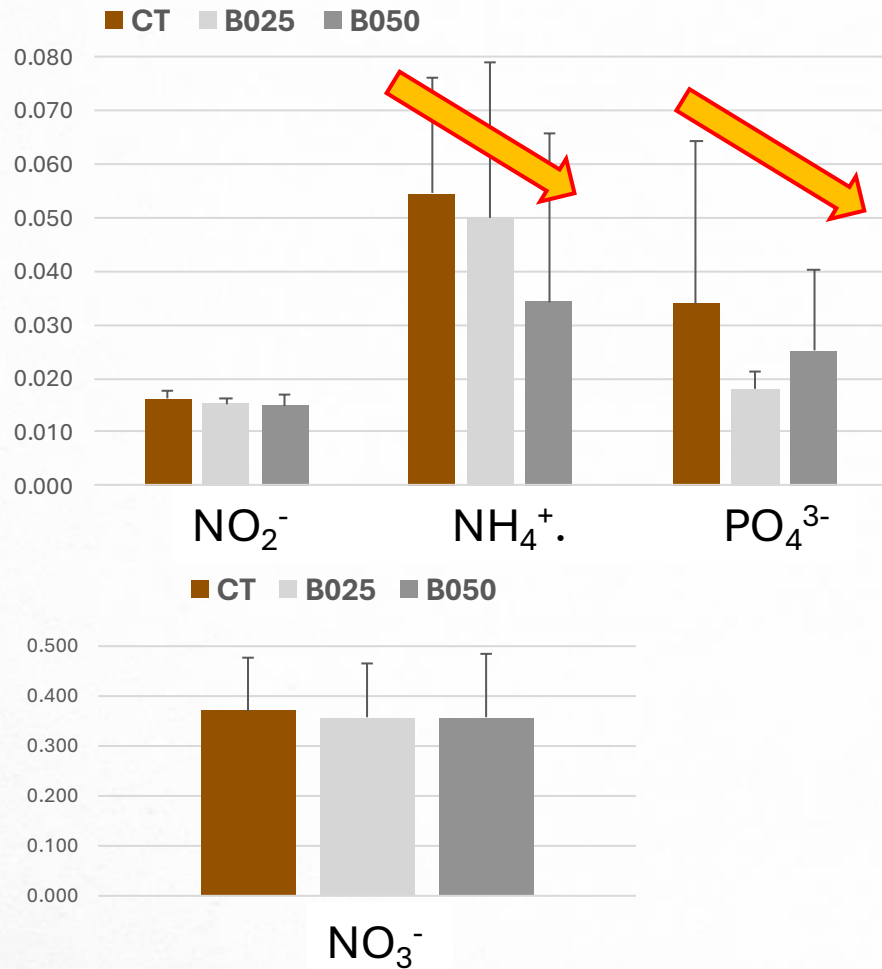
ANÁLISIS DE LOS NUTRIENTES DEL AGUA DE CULTIVO

- 1er y 2o EXPERIMENTO
- *Scophthalmus maximus*



RODABALLO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 1er EXPERIMENTO

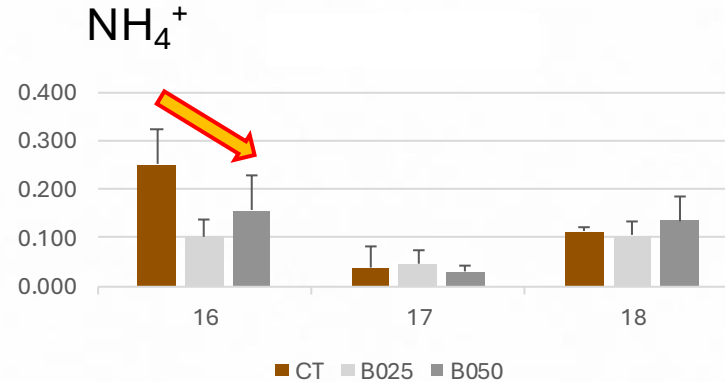
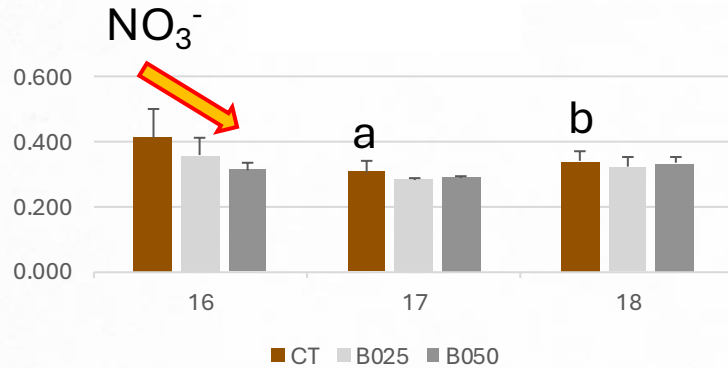
ANÁLISIS A LAS 7 HORAS TRAS ALIMENTACIÓN



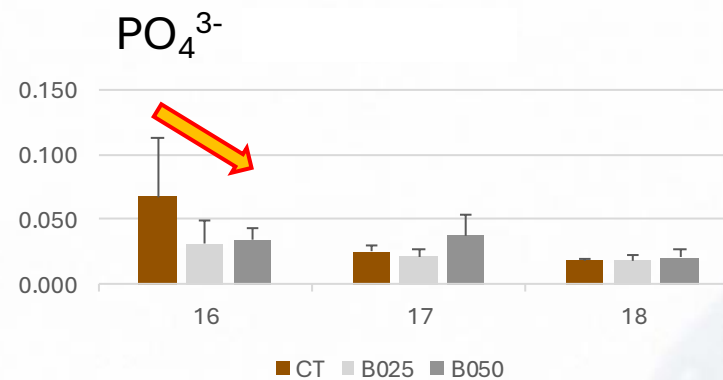
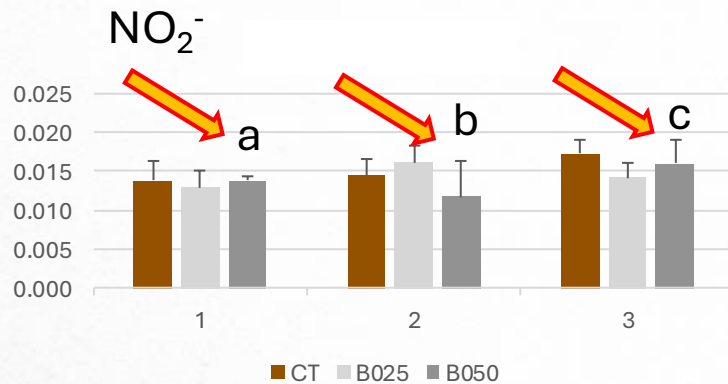
- A 7h post-alimentación: concentraciones bajas y similares (NO_2^- ~0.01-0.02, NH_4^+ ~0.03-0.05, PO_4^{3-} ~0.02-0.03, NO_3^- ~0.36)
- **Tendencia a una menor concentración de $\text{NH}_4^+/\text{PO}_4^{3-}$ con dietas con biocarbón frente control**

RODABALLO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 1er EXPERIMENTO

ANÁLISIS A LAS 6, 7 y 8 HORAS TRAS ALIMENTACIÓN



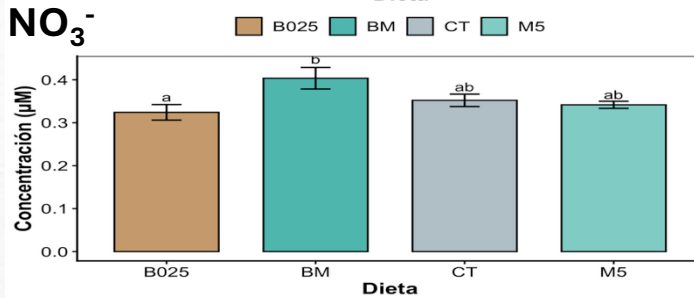
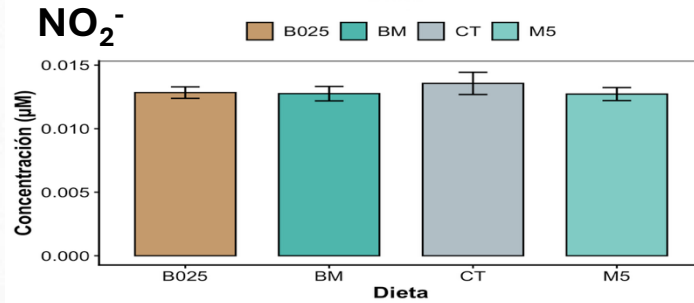
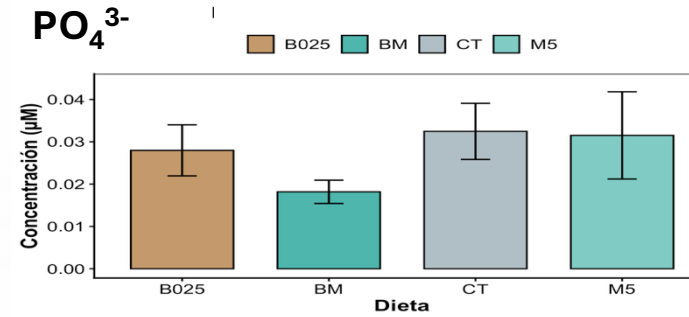
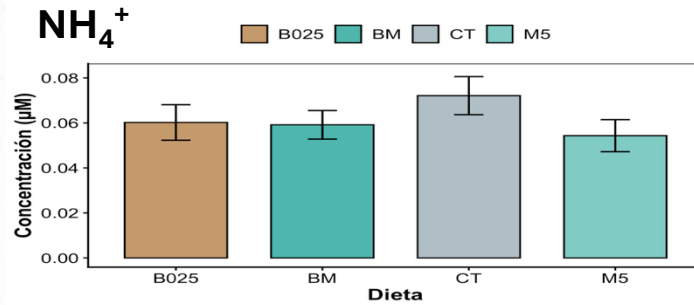
- Tendencias descendentes en NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺ y PO₄³⁻ para B025/B050 vs. CT a las 6 horas tras la alimentación.



- Se observan diferencias estadísticas en los nitritos (NO₂⁻) para la dieta B050 a las tres horas de muestreo.

RODABALLO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 2º EXPERIMENTO

ANÁLISIS A LAS 7 HORAS TRAS ALIMENTACIÓN



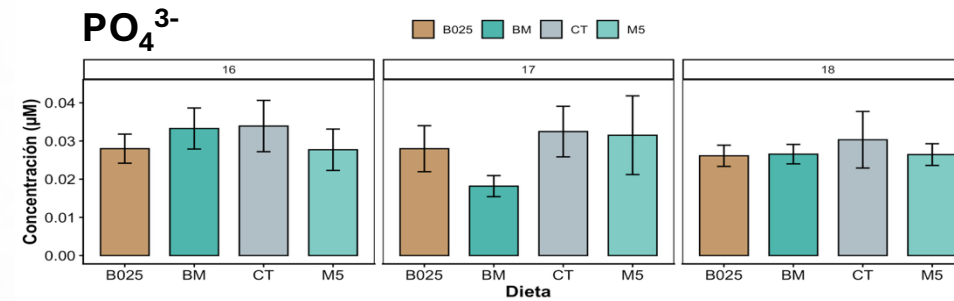
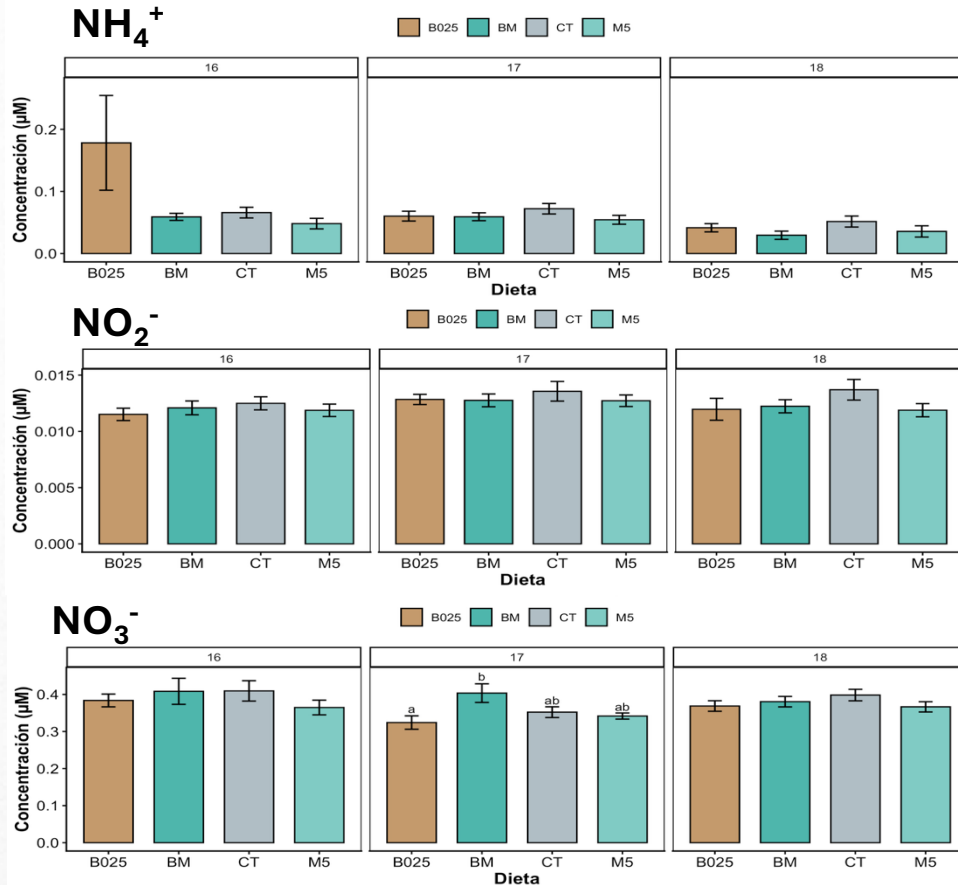
- Se observan **diferencias significativas** en la concentración de nitratos (NO₃⁻) entre las dietas B025 y BM

Podría ser que **las microalgas afectan a la disponibilidad o transformación del nitrato**, ya sea por:

- cambios en la utilización del nitrógeno en el pez,
- cambios en la excreción, o
- por interacciones microalgas–bacterias en el sistema.

RODABALLO – ANÁLISIS NUTRIENTES AGUA DE CULTIVO – 2º EXPERIMENTO

ANÁLISIS A LAS 6, 7 y 8 HORAS TRAS ALIMENTACIÓN



- No se encontraron diferencias significativas entre dietas para ninguno de los nutrientes analizados (PO₄³⁻, NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻).

- La **ausencia de diferencias** significativas puede indicar que la diferencia B025 vs. BM a 7 horas es un **efecto puntual** en un momento concreto, no un patrón robusto y sostenido en el tiempo.

CONCLUSIONES

- Las dietas con **biocarbón** pueden **reducir puntualmente** las concentraciones de **fosfato** y, en algunos casos, de **amonio en el agua de cultivo**.
- La **adición de microalgas** (M5 y BM) **produce efectos puntuales sobre algunos compuestos nitrogenados**, pero no modifica de forma consistente el perfil global de nutrientes.
- **Los efectos dependen de la especie** (lenguado vs. rodaballo), del experimento y del momento de muestreo tras la alimentación.
- En conjunto, las dietas con biocarbón y microalgas **muestran potencial para mejorar la calidad del agua**, pero su eficacia está condicionada por el contexto de cultivo y el diseño experimental.
- Estos resultados aportan información útil para **avanzar hacia una acuicultura más sostenible**, con menor liberación de nutrientes y menor riesgo de eutrofización.



Cofinanciado por
la Unión Europea

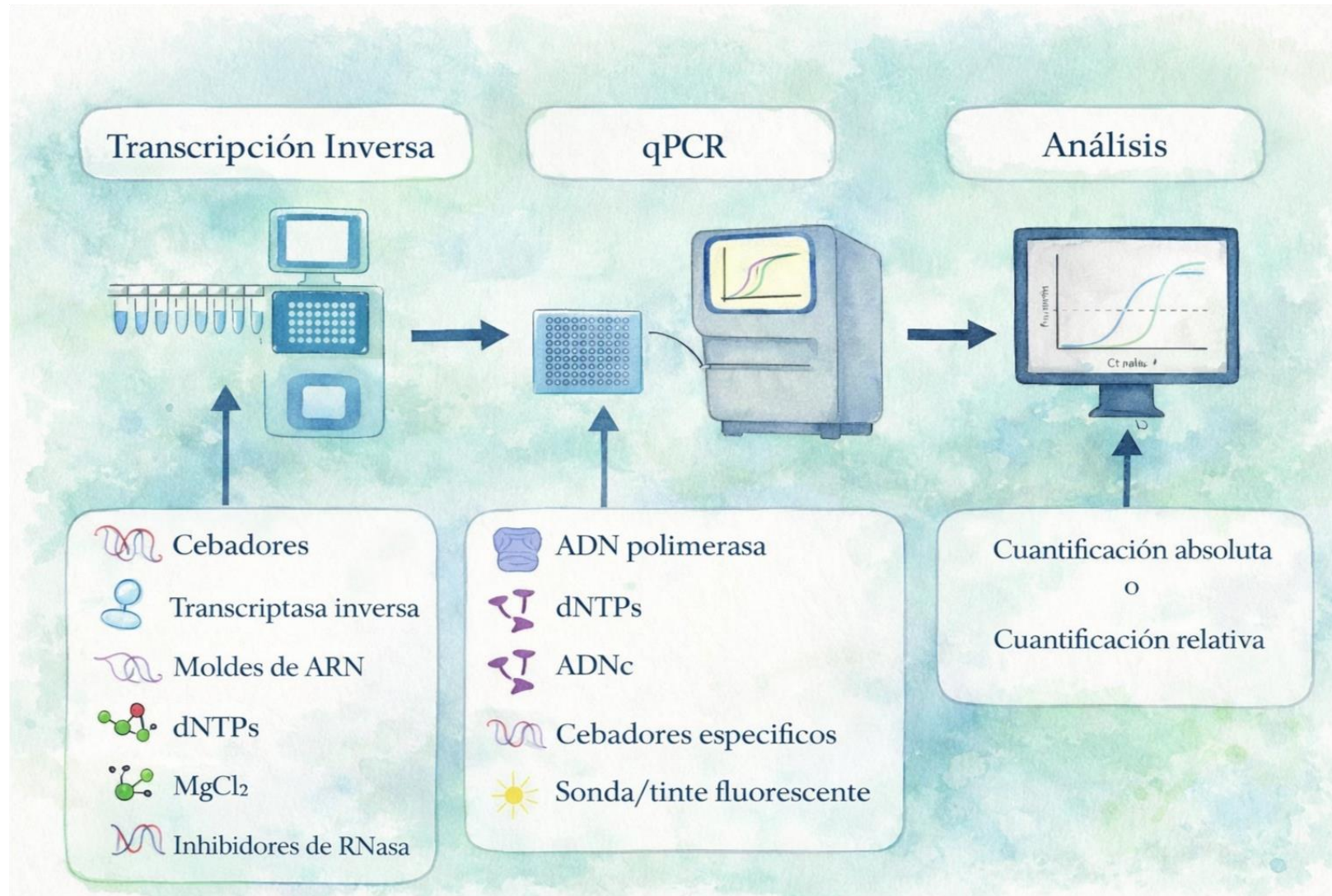




ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE GENES

Experimento I

Experimento II



Análisis: $2^{-\Delta\Delta Ct}$

2 genes de referencia

6 genes objetivo sobre metabolismo lipídico

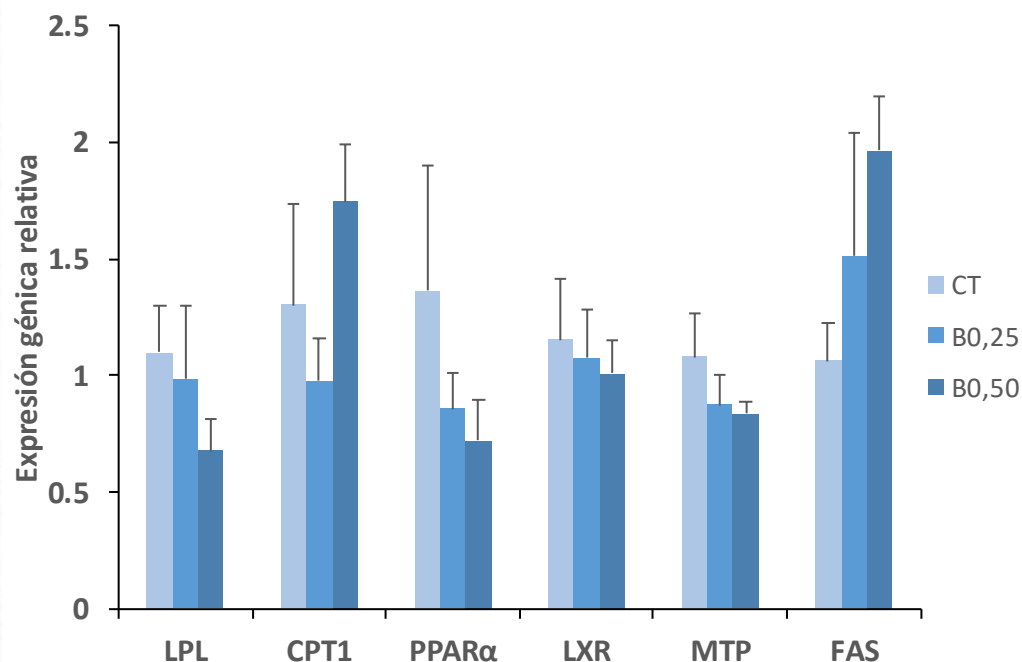
- *marcadores sobre la síntesis de ácidos grasos*
- *marcadores sobre la oxidación de ácidos grasos*
- *marcadores relacionados con el transporte y absorción de lípidos*

3 genes objetivo sobre inmunidad

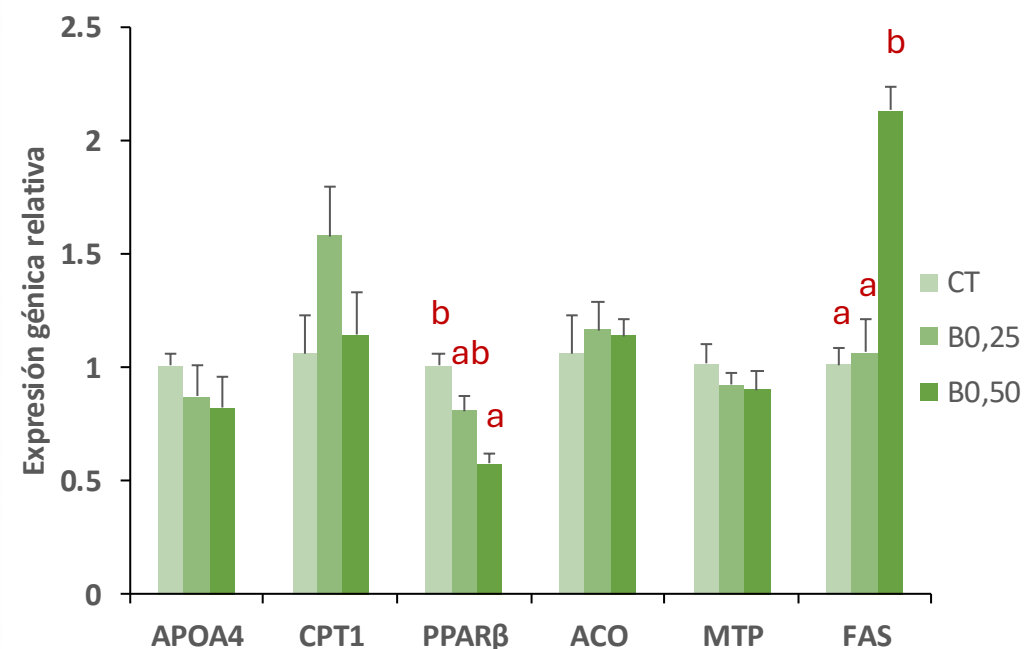
Codigo	Rodaballo
ACTB	Beta-actina
UBQ	Ubiquitin
PPAR α	Receptores activados por proliferadores peroxisomales
CPT1	Carnitina palmitoiltransferasa I
LXR	Liver X receptor
FAS	Fatty acid syntasa
LPL	Lipoprotein lipase
MTP	Microsomal triacylglycerol transfer protein
C3	Complement component C3
IL1 β	Interleukin 1 Beta
TNF α	Tumor necrosis factor alpha

Codigo	Lenguado
ACTB2	Beta actin 2
UBQ	Ubiquitin
MTP	Microsomal triglyceride transfer protein
FAS	Fatty acid synthase
CPT1	Carnitine palmitoyl transferase 1
PPAR β	Peroxisome Proliferator Activated Receptors
APOA4	Apolipoproteina 4
ACO	Acyl-CoA oxidasa
IL-1 β	Interleukin 1 Beta
C3	Complement component C3
TNF α	Tumor necrosis factor alpha

Experimento I: Expresión génica del metabolismo lipídico

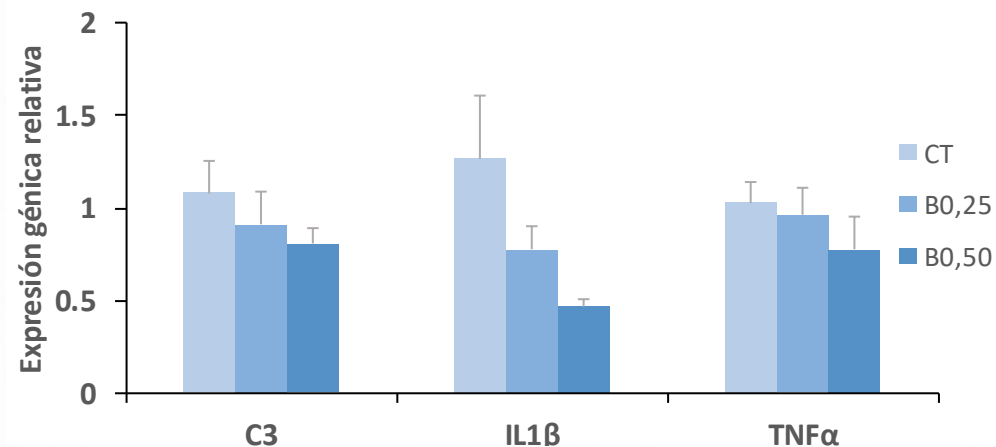


	CT	B0,25	B0,50	P
LPL	1,098 ± 0,496	0,984 ± 0,695	0,675 ± 0,339	0,37
CPT1	1,299 ± 1,067	0,975 ± 0,442	1,747 ± 0,588	0,233
PPARα	1,364 ± 1,077	0,857 ± 0,377	0,721 ± 0,380	0,7952
LXR	1,152 ± 0,638	1,074 ± 0,505	1,007 ± 0,349	0,888
MTP	1,079 ± 0,467	0,874 ± 0,323	0,833 ± 0,124	0,42
FAS	1,061 ± 0,395	1,512 ± 1,293	1,965 ± 0,568	0,1394

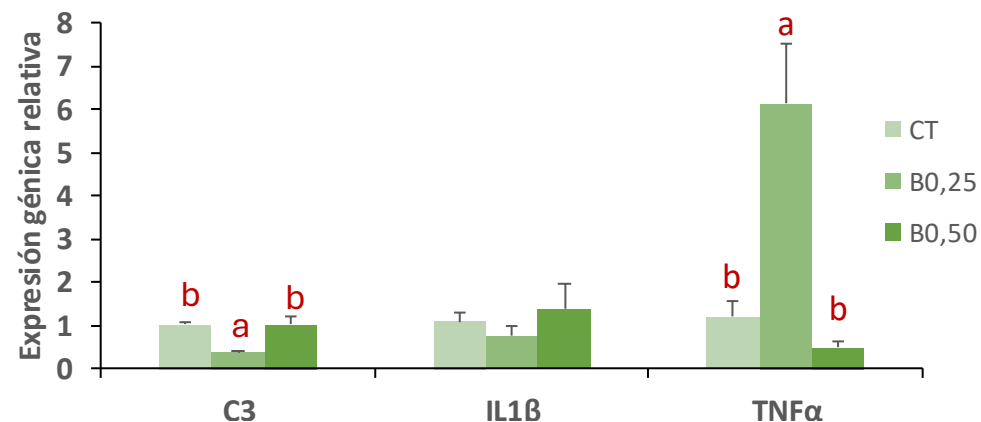


	CT	B0,25	B0,50	P
APOA4	1,007 ± 0,135	0,869 ± 0,345	0,822 ± 0,335	0,526
CPT1	1,063 ± 0,400	1,578 ± 0,532	1,143 ± 0,459	0,156
PPARβ	1,006 ± 0,128	0,807 ± 0,160	0,574 ± 0,107	0,00021
ACO	1,063 ± 0,406	1,165 ± 0,293	1,136 ± 0,193	0,845
MTP	1,016 ± 0,203	0,923 ± 0,127	0,901 ± 0,197	0,515
FAS	1,013 ± 0,182	1,065 ± 0,358	2,132 ± 0,180	0,00016

Experimento I: Expresión génica de inmunidad



	CT	B0,25	B0,50	P
C3	1,083 ± 0,172	0,911 ± 0,177	0,807 ± 0,081	0,404
IL1β	1,268 ± 0,341	0,776 ± 0,130	0,468 ± 0,040	0,060
TNFα	1,029 ± 0,115	0,963 ± 0,148	0,773 ± 0,178	0,606



	CT	B0,25	B0,50	P
C3	1,003 ± 0,050	0,360 ± 0,026	1,004 ± 0,201	0,0082
IL1β	1,085 ± 0,202	0,744 ± 0,254	1,364 ± 0,579	0,2215
TNFα	1,203 ± 0,354	6,132 ± 1,375	0,491 ± 0,114	0,0187

Experimento II: Expresión génica de metabolismo lipídico

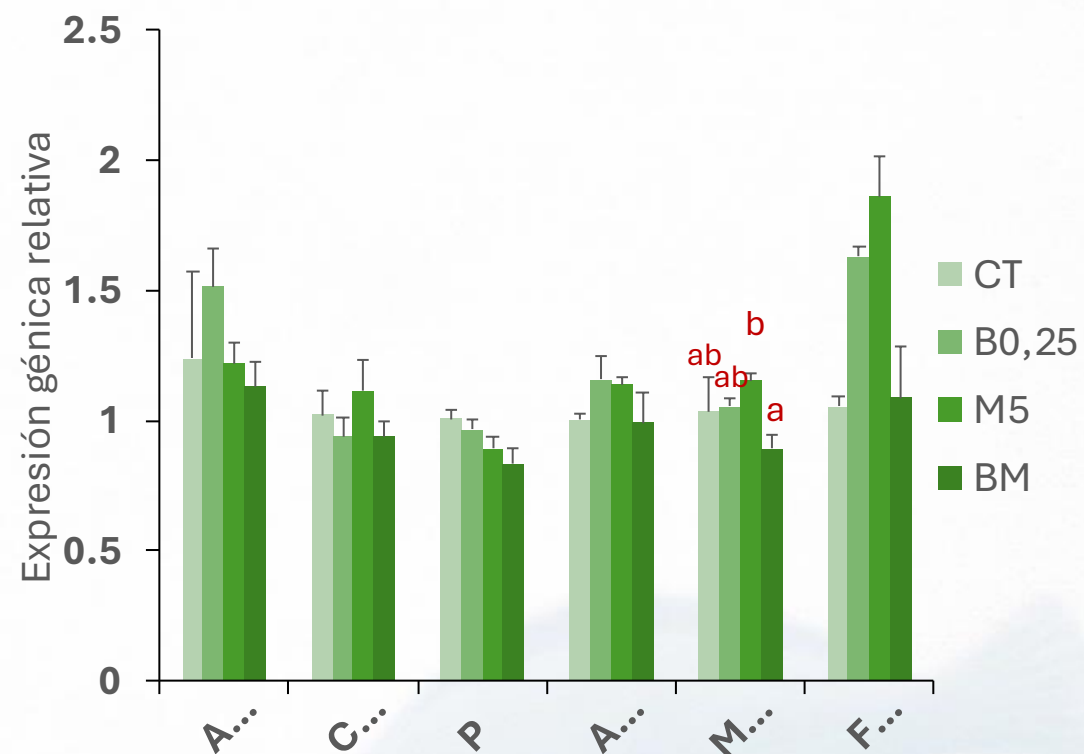
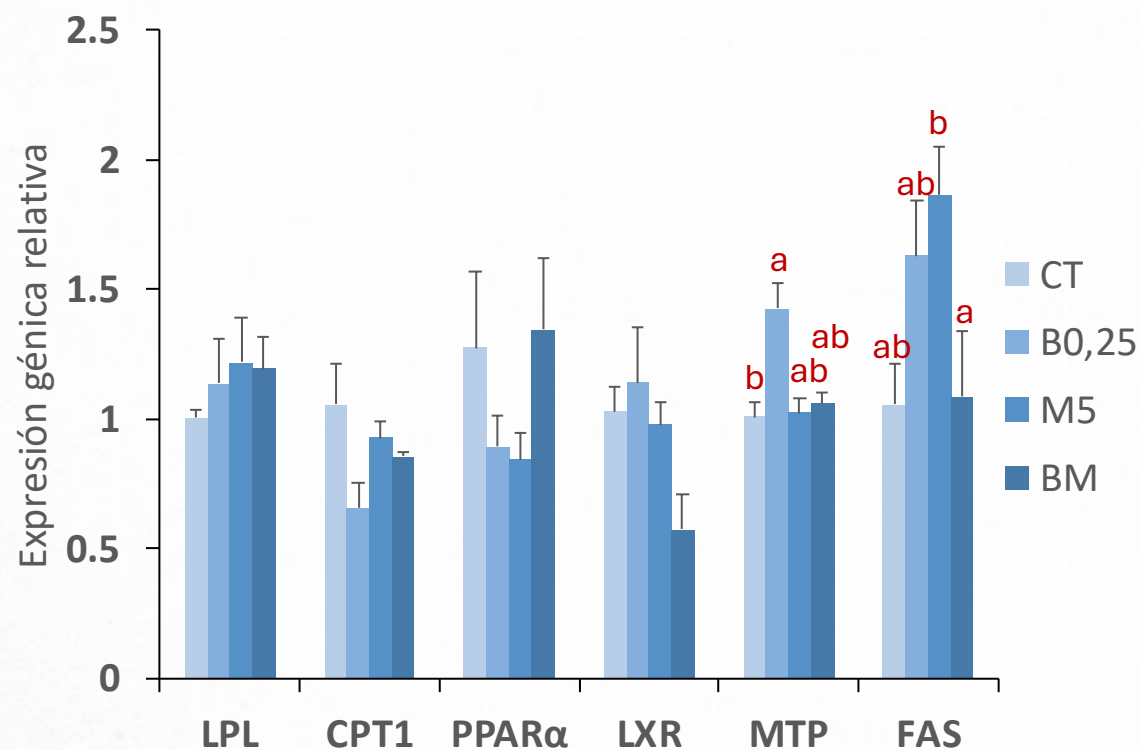
Rodaballo

	CT	B0,25	M5	BM	P
LPL	1,002 ± 0,085	1,138 ± 0,416	1,217 ± 0,419	1,193 ± 0,275	0,667
CPT1	1,057 ± 0,374	0,655 ± 0,234	0,926 ± 0,163	0,853 ± 0,045	0,054
PPARα	1,273 ± 0,716	0,891 ± 0,296	0,845 ± 0,256	1,344 ± 0,685	0,0626
LXR	1,029 ± 0,240	1,141 ± 0,528	0,976 ± 0,213	0,573 ± 0,333	0,0562
MTP	1,007 ± 0,141	1,426 ± 0,235	1,023 ± 0,132	1,058 ± 0,104	0,000502
FAS	1,055 ± 0,388	1,630 ± 0,525	1,863 ± 0,459	1,086 ± 0,612	0,01891
	CT	B0,25	M5	BM	P

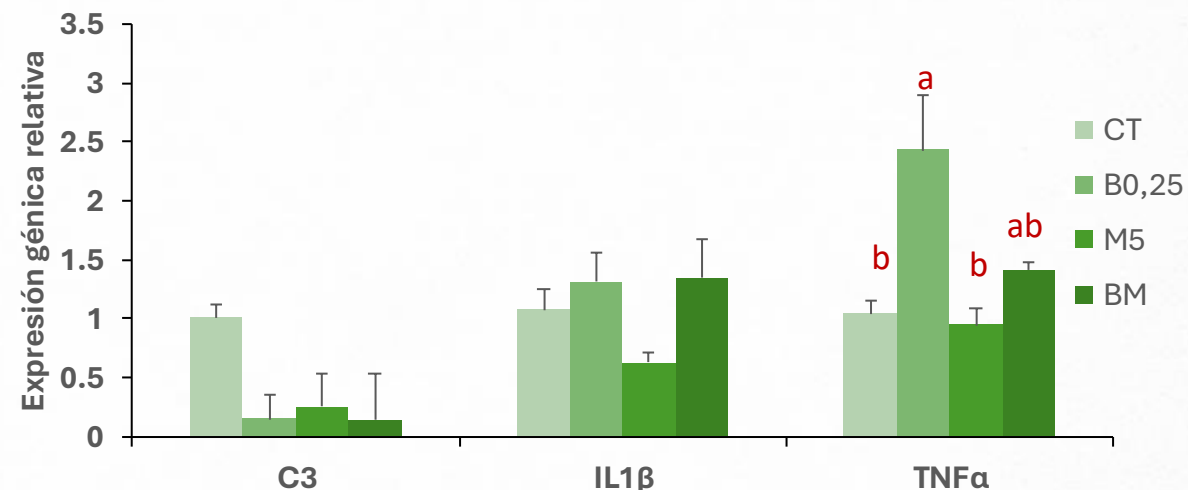
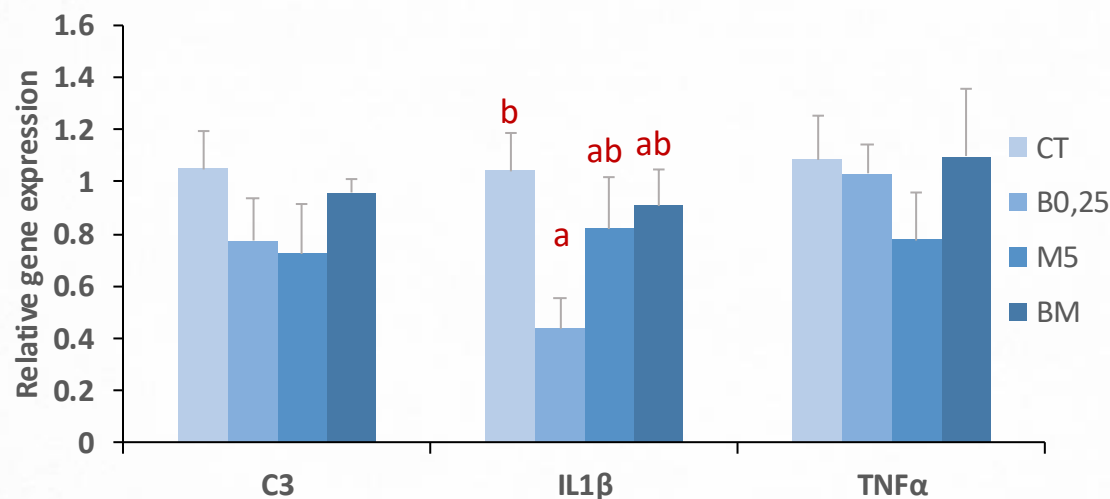
Lenguado

APOA4	1,238 ± 0,824	1,515 ± 0,351	1,221 ± 0,185	1,131 ± 0,229	0,3367
CPT1	1,019 ± 0,225	0,940 ± 0,166	1,111 ± 0,296	0,940 ± 0,135	0,479
PPARβ	1,004 ± 0,098	0,964 ± 0,100	0,890 ± 0,115	0,830 ± 0,154	0,0882
ACO	1,001 ± 0,055	1,155 ± 0,232	1,138 ± 0,061	0,990 ± 0,280	0,296
MTP	1,035 ± 0,315	1,052 ± 0,074	1,154 ± 0,063	0,892 ± 0,131	0,0345
FAS	1,055 ± 0,097	1,630 ± 0,095	1,863 ± 0,366	1,086 ± 0,491	0,3022

Experimento II: Expresión génica de metabolismo lipídico



Experimento II: Expresión génica de inmunidad



	CT	B0,25	M5	BM	P
C3	1,048 ± 0,144	0,772 ± 0,167	0,725 ± 0,189	0,955 ± 0,053	0,4224
IL1β	1,042 ± 0,144	0,436 ± 0,115	0,819 ± 0,201	0,907 ± 0,138	0,0249
TNFα	1,087 ± 0,165	1,030 ± 0,110	0,777 ± 0,181	1,096 ± 0,257	0,522

	CT	B0,25	M5	BM	P
C3	1,005 ± 0,106	0,144 ± 0,201	0,252 ± 0,279	0,136 ± 0,403	0,0791
IL1b	1,076 ± 0,173	1,312 ± 0,253	0,623 ± 0,081	1,341 ± 0,336	0,138
TNFa	1,038 ± 0,120	2,432 ± 0,470	0,943 ± 0,145	1,410 ± 0,074	0,001

CONCLUSIONES

- Las dietas con **biocarbón** en el rodaballo no muestran diferencias significativas, pero sigue la **tendencia** que muestra el **lenguado**, donde se observa un **aumento de la lipogénesis**, y una **disminución** en la expresión del gen **PPAR β** (*Receptor activado por proliferadores de peroxisomas*) lo que podría llevar a una disminución en la capacidad de exportar grasas del hígado al resto del cuerpo,.
- El **biocarbón** tiende hacia una **disminución** de los genes relacionados con la **inmunidad** respecto al control, por lo que podría deberse a una reducción de la respuesta inflamatoria innata, salvo en lenguado en la dieta con biocarbón al 0,25%.
- La suplementación con biocarbón indujo una sobreexpresión de genes relacionados con la síntesis de ácidos grasos y el transporte lipídico en comparación con el grupo control. Sin embargo, la inclusión de algas en la mezcla atenuó este efecto.
- La dieta de **biocarbón y microalgas** parece que modula la activación de la ruta inmune en lenguado y rodaballo.



Biocarbones en la alimentación de peces planos: respuestas de la microbiota, expresión génica y nutrientes del sistema de cultivo

Dra. María del Carmen Castro Pérez
Dra. Alma Hernández de Rojas

Área de Acuicultura y Biotecnología Azul.
Instituto Español de Oceanografía -Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Cádiz, 10 de febrero de 2026



Cofinanciado por
la Unión Europea



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN



Fondos Europeos



GOBIERNO
DE ESPAÑA
VICERREINADO
TERCERA DEL GOBIERNO
MINISTERIO
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA
Y EL RETO DEMOGRÁFICO



INSTITUTO
ESPAÑOL DE
OCEANOGRAFÍA



El Proyecto CARBODIET se desarrolla con la colaboración de la Fundación Biodiversidad del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, a través del Programa Pleamar y está cofinanciado por la Unión Europea a través de Fondo Europeo Marítimo de Pesca y Acuicultura.