

# Positieve bijdragen van bacteriën aan een duurzame aquacultuur

Marc Verdegem (Wageningen Universiteit) & Peter Bossier (Gent Universiteit)

**Per 1 februari 2009 ging het project PROMICROBE, gefinancierd door de Europese Gemeenschap, van start. Het project richt zich op de invloed van bacteriën op de ontwikkeling, groei, productie en overleving van vissen in teeltsystemen. Een vergelijking wordt gemaakt tussen tilapia, kabeljauw en zeebaars. Het gaat hoofdzakelijk om fundamenteel onderzoek, maar op termijn moet het onderzoek leiden tot een betere pootvisvoorziening en het gericht beheren van de microbiële gemeenschap, zowel in de darm van de vis als in het systeem. Het einddoel is het bedrijfszekere kweken van gezonde vissen in duurzame en stabiele teeltsystemen.**

## *Inleiding*

De vraag naar “visproducten” groeit in de Europese Gemeenschap. Om de voorspelde groei tot 2030 bij te houden zou het aanbod met 1,6 miljoen ton omhoog moeten. De huidige Europese aquacultuurindustrie is niet in staat aan deze vraag te voldoen, en de verwachting is dat de invoer van vis en visproducten zal toenemen met 15% tot 11 miljoen ton per jaar. Dus de afhankelijkheid van het buitenland, die nu al hoger is dan 50%, zal verder toenemen. Al is dit een weinig rooskleurig plaatje, het duidt ook op kansen voor de Europese aquacultuur.

Aquacultuur ontwikkelen in een Europese context is niet eenvoudig: het vinden van voldoende ruimte en het verduurzamen van de voedseltoevoer zijn belangrijke knelpunten. Er zijn ook problemen in relatie tot de productiecycclus: slechte broedstokvoorziening, onvoldoende zekerheid m.b.t. gameetkwaliteit en –kwantiteit, slechte kwaliteit van larven, hoge mortaliteit en suboptimale groei. Deze problemen zijn niet voor alle soorten gelijk, en zijn niet allemaal gere-

lateerd aan microbiële invloeden. Echter, kijken we naar overleving en ziektegevoeligheid, dan spelen micro-organismen een belangrijke rol. Het ontwikkelen van vaccins en immunostimulanten, het verbeteren van het niet-specifiek immuunsysteem, het gebruik van pro- en prebiotica en de microbiologische controle van de productieomgeving worden binnen Europa gezien als belangrijke onderzoeksthema's. Meer kennis op deze gebieden kan op termijn bijdragen aan het beter voorspelbaar en robuster maken van het kweekproces, en zal dus leiden tot de verduurzaming van de sector.

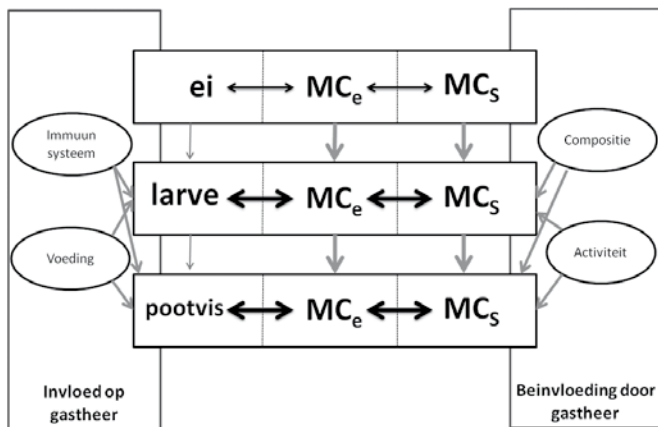
## *Project concept*

Specifiek voor de Europese aquacultuur is de hoge dichtheid van dieren in vergelijking tot natuurlijke omstandigheden, en de daaraan gekoppelde evenredige dichtheid van micro-organismen in de kweekomgeving. Meercellige organismen, inclusief vissen, ontwikkelden zich over miljoenen jaren in interactie met een omgeving rijk aan

bacteriën en andere micro-organismen. Het doel is de gemeenschappelijke en wederzijdse interacties tussen de gastheer en de bacteriële gemeenschap beter te begrijpen en deze interacties aan te wenden ter verbetering van de vitaliteit van kweekvis en voorspelbaarheid van het kweekproces. Deze 'join us' benadering is tegengesteld aan de 'beat them' benadering typerend voor de bestrijding van micro-organismen in de traditionele geneeskunde, landbouw of aquacultuur.

De microbiële gemeenschap in de darm van een vis (microbial community MCE) wordt beïnvloed door de gastheer (ei, larve of pootvis) enerzijds en de microbiële gemeenschap in het kweekstelsel (MCS) anderzijds. Men kan ervan uitgaan dat er zowel positieve als negatieve interacties zijn

tussen de verschillende onderdelen van het systeem tijdens alle levensfasen (Figuur 1; horizontale pijlen). Aangenomen wordt dat tijdens de groei van ei tot pootvis de MCE en MCS evolueren, en een zekere mate van top-down conditionering is niet uit te sluiten (Figuur 1; verticale pijlen). Dit zou inhouden dat gebeurtenissen tijdens de prille colonisatie van de darm met micro-organismen, zowel latere reacties van de gastheer op veranderingen in de leefomgeving als de MCE samenstelling beïnvloeden. Anderzijds wordt de MCS zowel mbt samenstelling en activiteit gemoduleerd door omgevingsfactoren (vb. temperatuur, voeder, water kwaliteit, sanitatie). Tevens beïnvloeden voeding en immunomodulators rechtstreeks de gastheer's (larve of pootvis) invloed op de MCE en MCS.



Figuur 1: Het PROMICROBE concept. Elk ontwikkelingsstadium draagt zijn eigen microbiële gemeenschap (MCE: microbiële gemeenschap in de darm of op oppervlak (zoals bij eieren)). De MCE is tot op een niet gedefinieerde hoogte in evenwicht met de microbiële gemeenschap in het systeem (MCS). De gastheer (ei, larve of pootvis) kan de MCE beïnvloeden via antimicrobiële activiteiten die bepaald worden door zijn immunologische mogelijkheden (horizontale pijlen links). Op hun beurt beïnvloeden de MCE en MCS elkaar (horizontale pijlen rechts). De samenstelling (compositie) en activiteiten van de microbiële gemeenschappen worden tot op zekere hoogte beïnvloed door de gastheer. De gastheer wordt rechtstreeks beïnvloed door zijn/haar voeding en immuunsysteem. Vette pijlen zijn onderwerp van onderzoek in het project.

### **Doelstellingen**

Van nature leven vissen in een 3-dimensionale watermatrix die zowel het voedsel aanlevert als de uitscheidingsproducten (excretie) verwerkt. Het zijn micro-organismen die bewerkstelligen dat er zowel voedsel wordt geproduceerd als afvalproducten worden afgebroken. Elke verandering in de omgeving beïnvloedt de samenstelling en omvang van de MCS, wat op haar beurt de MCE en gastheer beïnvloedt. De belangrijkste onderzoeksvragen van het project zijn:

1. Hoe ontwikkelt de MCE tijdens de vroege ontwikkeling (ei – larve – pootvis) van de vis? Hoe groot is de variatie tussen individuen gekweekt in éénzelfde omgeving?
2. Hoe stabiel is de MCE tijdens de ontwikkeling, en hoe wordt deze beïnvloed door veranderingen in de MCS? Wordt de MCE gemakkelijk blijvend verstoord, of zal deze na verloop van tijd terug evolueren tot de originele (basis) samenstelling?
3. Hoe beïnvloeden micro-organismen het metabolisme, de vatbaarheid voor ziekte en levenskansen van de gastheer?
4. Is het mogelijk de samenstelling van de MCS in kweeksystemen te sturen, of zal deze na verstoring terug evolueren naar de originele (basis) samenstelling?
5. Kan de MCS gebruikt worden voor het (her)gebruik van nutriënten in aquacultuursystemen en wat zijn de limieten aan een dergelijke benadering?

### **Project partners**

De project partners zijn:

- Gent Universiteit (België): projectcoördinator
- Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), in samenwerking met l'Institut National de Recherche Agricole (INRA) (Frankrijk)

- Norwegian University for Science and Technology (NTNU) in samenwerking met SINTEF (Noorwegen)
- Wageningen Universiteit (Nederland)
- Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB) (België)

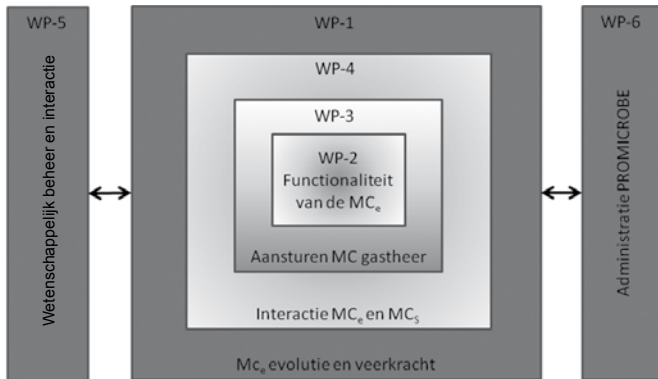
### **Project structuur en activiteiten**

Het project duurt 4 jaar en ging 1 februari 2009 van start. Er zijn 6 'work packages' (WP). Het is belangrijk fundamentele inzichten te genereren over microbiële gemeenschappen bij verschillende vissoorten, elk met een eigen voedselniche en omgevingstemperatuur. In het project wordt gekeken naar:

- Tilapia: herbivoor/detritivoor – tropen en sub-tropen
- Kabeljauw: carnivoor – noord Europees
- Zeebaars: carnivoor – gematigd, zuid & midden Europees

WP-1 is beschrijvend, en volgt de ontwikkeling van de MCE tijdens de ontwikkeling van de gastheer van ei tot pootvis. Ook wordt gekeken hoe de MCE reageert na verstoring. Vernieuwend is dat er gekeken wordt naar variatie tussen individuen binnen en tussen groepen, en dat individuen gevolgd worden in de tijd. Dit klinkt basaal, maar tot op heden ontbreekt deze informatie. Bovendien worden de 3 bovengenoemde soorten vergeleken, omdat er ook informatie ontbreekt over verschillen in MCE's tussen soorten.

De diversiteit aan microorganismen in de darm (MCE) en het systeem (MCS) is hoog en uiterst complex, wat bij experimenten het verkrijgen van eenduidige conclusies bemoeilijkt. Een nieuwe ontwikkeling is dat bevruchte eieren van vissen kiemvrij kunnen worden gemaakt en naderhand opgekweekt in een steriele omgeving (gnotobiotische systemen). Dit maakt het mogelijk de vroege MCE ontwikkeling (deels) te sturen,



*Figuur 2: Diagram van PROMICROBE die de verbanden aangeeft tussen de verschillende WP's binnen het project*

en te kijken hoe bepaalde componenten in het voer interacteren met de gastheer en de M<sub>C<sub>e</sub></sub>. In WP-2 zal gekeken worden hoe de gastheer en zijn M<sub>C<sub>e</sub></sub> reageert op de introductie van een pathogeen. In WP-3 wordt gekeken in hoeverre het mogelijk is de prestatie van de gastheer te verbeteren via het sturen van de M<sub>C<sub>e</sub></sub>. Door veranderingen aan te brengen in de voersamenstelling of via het toevoegen van pre- of probiotica zal gepoogd worden de samenstelling van de M<sub>C<sub>e</sub></sub> te veranderen. In WP-4 wordt gekeken in hoeverre de M<sub>C<sub>s</sub></sub> de prestatie van de gastheer kan verbeteren, en wordt onderzocht hoe de MSS gebruikt kan worden om de milieubelasting als gevolg van de aquacultuur te verminderen.

WP-5 richt zich op de wetenschappelijke coördinatie. Daarbij is het belangrijk te kijken naar overeenkomsten en verschillen tussen tilapia, kabeljauw en zeebaars en onderscheid te maken tussen soortspecifieke en algemene concepten. WP-6 richt zich op de projectadministratie en het financiële beheer van het project.

Hoe de verschillende WP's verweven zijn met elkaar is aangegeven in Figuur 2. Het project werkt duidelijk op verschillende niveaus, met zowel aandacht voor de gastheer (WP-2) en het systeem (WP-4 en WP-1).

### **Verwachte voordelen voor de aquacultuur-industrie**

Bij de teelt van een aantal (hoofdzakelijk) mariene soorten is de larvale en pootvis productie moeilijk te voorspellen. Op het eerste zicht gelijke behandelingen leveren niet noodzakelijk gelijke resultaten op. Mogelijke oorzaken voor deze onvoorspelbare resultaten zijn (1) de kwaliteit van de gameten, (2) niet de juiste voeding, (3) suboptimale fysico-chemische omgevingsomstandigheden of (4) negatieve gastheer – microbe interacties. De eerste 3 oorzaken kan men experimenteel vrij goed controleren, wat suggereert dat in deze richting niet de verklaring ligt, maar gezocht moet worden op het niveau van gastheer - microbe interacties. Dit is de doelstelling van dit project. Verder zal het project ook inzicht geven over hoe bij een hoge visdichtheid (en bijgevolg ook microbiële dichtheid) de gastheer – M<sub>C<sub>e</sub></sub> – M<sub>C<sub>s</sub></sub> elkaar beïnvloeden. Misschien wordt het in de toekomst wel mogelijk op een eenvoudige manier te monitoren of de M<sub>C<sub>e</sub></sub> gezond is, en deze waar nodig bij te sturen. Bovendien zal het project ook kijken of dit bijsturen het beste gebeurt via de voeding, de M<sub>C<sub>s</sub></sub> of een combinatie van beide. Het einddoel is het bedrijfszekere kweken van gezonde vissen in duurzame en stabiele teeltsystemen.