

Distribución Gratuita  
Consérvela

Año 15 N°29 2018

revista

# versión<sup>®</sup> diferente

## Salmón-Acuícola

### ACTUALIDAD INFORMATIVA

- Tolerancia de *Caligus rogercresseyi* a los tratamientos con agua dulce
- Melanina - Melanomacrófagos - Melanosis
- Identificación morfológica y molecular de Microalgas Ictiotóxicas para salmones
- Primer Centro de Cultivo de Truchas Arcoíris región de Arica y Parinacota
- Producción de Biofloc en Chile
- Plataforma para el despegue de Acuicultura en el Centro-Norte

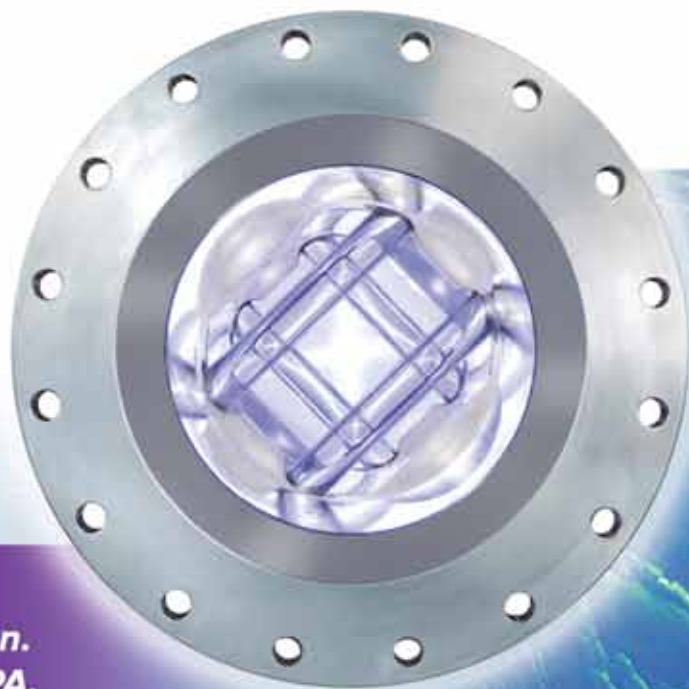


Investigaciones de Microbiología Acuática



# Atlantium

Illuminating Water Technologies



**Agua Segura.**  
**De fácil Integración.**  
**Validación USA EPA.**  
**Control en tiempo real.**  
**Dosis mínima de UV garantizada.**



Recicla la energía de la **Luz Ultra Violeta** al interior de la cámara de **Desinfección Hidro Óptica.<sup>MR</sup>**

## Reflexión Interna Total

Tecnología patentada por Atlantium.

Contacto en Chile, +56979992123 / [mauricio@atlantium.com](mailto:mauricio@atlantium.com)



Año 15 - Nº 29  
2º Semestre 2018

Distribución Gratuita a nivel Nacional  
Semestral - 3.000 unidades

### EDITORES

Opción Comunicaciones

Cel: +56 9 9443 3504 +56 9 9443 3076

publicidad@opcionaraya.cl

### DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

Verónica Etcheverry Riquelme  
verdisgraf@gmail.com

### FOTOGRAFÍAS PORTADA

Gentileza de:

- Opción Comunicaciones
- Alejandra Pizarro, UTA
- Ricardo Otaiza, UCSC
- Marcela Astorga, UACH
- Eduardo Uribe, UCN

Revista "Versión Diferente", es un medio de comunicación independiente creado y editado por Opción Comunicaciones®. Queda prohibida la reproducción de todo el contenido sin previa autorización de sus editores, asimismo como la reproducción total o parcial de los anuncios publicitarios firmados por Opción Comunicaciones®.

Los contenidos y opiniones que aparecen en esta publicación son de exclusiva responsabilidad de las empresas o personas que las emiten, y no necesariamente los editores comparten los conceptos aquí mencionados.

Una Producción de:

**opción**<sup>®</sup>  
comunicaciones

**SU MEJOR OPCION EN PUBLICIDAD**

**Porque somos diferentes,  
publique con nosotros**

Celulares: +56 9 9443 3504 +56 9 9443 3076  
publicidad@opcionaraya.cl

## Avisadores

7 Plagas	88
Abastible	11
Aquaservice	04-05
Aufiser	81
Atlantium	T2
Cabañas del Lago	26
North Patagonia	19
K+S Chile	25
Kauffman	47
Maryun	53
Opción Comunicaciones	T3
Plásticos Austral	33
VeHiCe	15
TriChile	46

## Contenidos

Indice de Universidades	02
Editorial	03
Ferias Internacionales	04
Fases Lunares	05
Feridos Internacionales	06
Mareas Puerto Montt	07
Mareas Puerto Chacabuco	09
Melanina - Melanomacrófagos - Melanosis	16
Identificación morfológica y molecular de microalgas ictiotóxicas para salmones.	20
SCIMETRICA: Laboratorio de apoyo a la producción silvoagropecuaria y veterinaria basada en evidencia	44
Plataforma para el despegue de la Acuicultura en el centro-norte	48
TiLV Enfermedad viral de alto impacto en la Acuicultura de Tilapias en el Perú; Un análisis Médico Veterinario del problema	78
Declaración y recaudación fiscal 2018	102

# Índice de Universidades

## SUS ESTUDIOS E INVESTIGACIONES

### UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Tolerancia de *Caligus rogercresseyi* al tratamiento con agua dulce. .... 12

Producción de biofilm en bacterias y su relación con enfermedades de peces. .... 34

Doctorado en Ciencias de la Acuicultura ..... 37

### UNIVERSIDAD DE CHILE

Herramientas Biotecnológicas para impulsar I+D e innovación en acuicultura. .... 28

Desarrollo de un Kit multi-locus para llevar a cabo la identificación de la especie de mejillones de importancia comercial del género *Mytilus* ..... 71

### UNIVERSIDAD SANTIAGO DE CHILE

Anticuerpos que ayudan entender la inmunidad de los peces salmónidos y prometen ser herramientas para la mejora de vacunas. .... 40

### UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL NORTE

Producción de Biofloc en Chile: Una alternativa emergente para una acuicultura basada en el mínimo recambio de agua. .... 54

### UNIVERSIDAD ARTURO PRAT

Primer Centro de Cultivo de Truchas Arcoíris bajo un sistema de recirculación sector de Copaquilla, región de Arica y Parinacota ..... 58

### UNIVERSIDAD DE ATACAMA

Continuidad de programa de Acuicultura a Pequeña Escala (APE) a través del cultivo de bivalvos y el desarrollo de técnicas de repoblamiento de algas pardas, en áreas de manejo de la región de Atacama ..... 63

### UNIVERSIDAD ANTOFAGASTA

*Concholepas concholepas*: Mantención en sistemas de recirculación, cultivo e innovación ..... 67

### UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTÍSIMA CONCEPCIÓN

BIVALNET: Tramado que maximiza la producción en el Cultivo de Mitílidos ..... 74

### UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY

VI Conferencia Latinoamericana sobre cultivo de peces nativos ..... 77

### UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

Evaluación molecular y morfológica del desarrollo gonadal y reproducción en el copépodo ectoparásito *Caligus rogercresseyi* ..... 82

### UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TEMUCO

Modelos econométricos explicativos de tendencias y del valor promedio (US\$/t) FOB Chile, de salmones y trucha arco iris, a partir de fluctuaciones y factores externos ..... 92

### UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

Doctorados ..... 66

### UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

Desarrollo de nuevos alimentos basados en el uso de microalgas ricas en DHA y EPA para la producción sustentable de trucha arco iris enriquecida con omega-3 ..... 95

Observatorio para la sustentabilidad del Ecosistema Acuicultor (OSEA): una mirada humana y científica al ambiente mitilicultor ..... 98

### INVASAL

Caracterizando los impactos sociales y ecológicos de salmones y truchas en los ecosistemas acuáticos del país ..... 89



Para el segundo semestre 2018, nos enfocamos en buscar temas relevantes de investigación para dos eventos importantes para la Acuicultura en Chile. Entre ellos “Congreso Nacional de Acuicultura Arica mes de Septiembre y Feria Internacional del Salmón AQUASUR Pto. Montt”. Para esta edición nos enfocamos en llevar los siguientes temas relacionados para la industria del Salmón-Mejillón-Pesquera en materias de tecnología, investigación I + D, Patologías, Innovación Tecnológica, Micro algas tóxicas entre otros temas de interés para la industria salmón-acuícola.

Seguimos manteniendo el cambio de fecha para cada edición semestral, para dar más tiempo a nuestros panelistas estables, proveedores e investigadores que están publicando para cada edición semestral. Lo que nos permite traerles temas actualizados en materia de investigación para las áreas Salmón-acuícola, Acuicultura, Bivalvos, Macroalgas y Pesquería.

Esperamos al igual que en ediciones anteriores podamos aportar artículos que sean de interés para usted. Como siempre que-remos agradecer la variedad de artículos técnicos de extensión académicos y de empresas proveedoras de la industria salmón-acuícola, que hacen un importante aporte para cada edición semestral. Consolidando la revista “Versión Diferente” como un medio escrito científico de extensión de consulta diaria.

Seguimos en la búsqueda de información técnica de importancia en materia de investigación para la industria salmón-acuícola,

mitilicultora y pesquera entre otras. Recopilando información científica de las zonas: norte-central-sur y austral de Chile. Para esta edición semestral llevamos los siguientes temas: “Tolerancia de *Caligus rogercresseyi* a los tratamientos de agua dulce”; “Melanina – Melanomacrófagos – Melanosis”, Identificación morfológica y molecular de Microalgas Ictiotóxicas para salmones”; “Primer centro de cultivo de Truchas Arcoiris Región de Arica y Parinacota”; “Producción de Biofloc en Chile”; “Plataforma para el despegue de Acuicultura en el Centro-Norte”; “Bivalnet tramado que maximiza la producción en el cultivo de Mitilidos”; Desarrollo de un Kit Multi-Locus para llevar a cabo la identificación de la especie de mejillones de importancia comercial del género *Mytilus*”; “Cultivo del Loco”; “Programa de Acuicultura Pequeña escala APE en Cultivos de Bivalvos y Algas Pardas”; “Producción de Biofilm en bacterias y su relación en enfermedades de peces”.

Al igual que en ediciones anteriores, usted podrá encontrar materias de consulta diaria como son: Fases Lunares, Tablas de Mareas, Ferias Salmón-Acuícolas mundiales, Feriados Internacionales y novedades en servicios y productos de los principales proveedores de la industria.

Los invitamos a participar en nuestra próxima edición primer semestre 2019.

# Ferias Internacionales

## 2018

### Octubre

#### AQUASUR

17 al 20 Octubre 2018  
Puerto Montt - Chile

#### Latin American of Caribbean Aquaculture

23 al 26 Octubre 2018 - Bogotá, Colombia

### Noviembre

#### Aqua Fisheries Myanmar

8 al 10 Noviembre - Yangon, Myanmar

#### Aqua Fisheries

14 al 15 Noviembre - Cambodia, Myanmar

#### Latin American & Caribbean Aquaculture

14 al 17 Noviembre - Havana, Cuba

## 2019

### Enero

#### Winter Fancy Food Show Moscone Center

13 al 15 Enero  
San Francisco, California, Estados Unidos

#### Centro de exposiciones - BolognaFiere

16 al 17 Enero - Bolonia, Italy

#### International Green Week Berlin

18 al 27 Enero - Berlin, Alemania

#### BRAQCON Chennai India

23 al 25 Enero - Chennai, India

#### Sirha Eurexpo

26 al 30 Enero - Lyon, France

#### Upakovka, Expocentre Fairgrounds Moscow

29 Enero al 1 febrero - Moscú, Rusia

### Febrero

#### International Production & Processing Expo (IPPE)

12 al 14 Febrero Georgia World Congress Center, Atlanta, Estados Unidos

#### FoodAttraction

16 al 19 Febrero - Rimini, Italia

### Marzo

#### AgraMe - Dubai World Trade Centre

5 al 7 Marzo - Dubai, Emiratos Arabes Unidos

#### AQUACULTURE 2019

6 al 10 Marzo  
New Orleans, Louisiana, Estados Unidos

#### VIV Asia - Exhibition

13 al 15 Marzo - Bangkok, Tailandia



## Arriendo de maquinaria y equipos para la acuicultura

La mayor variedad de equipos e implementos para la producción acuícola, con el mejor servicio de respaldo.

**1 COMPRESORES DE TORNILLO**  
*Atlas Copco - Mod. Xas 185*

**2 GENERADORES**  
*Desde 3kva hasta 750kva*

**3 NUEVA FISH PUMP AQUA 1080**  
*Bomba eléctrica para todo tipo de peces*

**4 BOMBAS PARA PECES**  
*Bombas hidráulicas y eléctricas para peces desde 1gr hasta 3kg*

**5 SELECCIONADORAS**  
*Para peces desde 1gr hasta 10kg*

**6 WINCHES**








  
Consulte por otros equipos

  
Instalación y puesta en marcha

  
Mantenimiento Incluido

  
Por semanas o meses.

OFICINA CENTRAL: Ruta 5 Sur a Pargua Km 1029 • Casilla 1117 Puerto Montt, Chile • FONDO: 56-65-2220033 • EMAIL: info@aquaservice.cl

# Fases Lunares

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

2018	 NUEVA	 CRECIENTE	 LLENA	 MENGUANTE
	<b>JULIO</b>	12 22:48 hrs	19 15:52 hrs	27 16:20 hrs
<b>AGOSTO</b>	11 05:58 hrs	18 03:49 hrs	26 07:56 hrs	04 14:18 hrs
<b>SEPTIEMBRE</b>	09 14:01 hrs	16 19:15 hrs	24 22:52 hrs	02 22:37 hrs
<b>OCTUBRE</b>	08 23:47 hrs	16 14:02 hrs	24 12:45 hrs	02/31 05:45/12:40 hrs
<b>NOVIEMBRE</b>	07 12:02 hrs	15 10:54 hrs	23 01:39 hrs	29 20:19 hrs
<b>DICIEMBRE</b>	07 03:20 hrs	15 07:49 hrs	22 13:49 hrs	29 05:34 hrs

En hora Oficial de Chile Continental, Z + 4

## Bombas para Peces

AQUA 2020 · 4040 · 6060 · 1080 · 1210





*Uso en agua dulce o salada sin sufrir daños*

*Construida en acero inoxidable y aleación de aluminio*

*Diseño ergonómico y amigable a los peces*




**AQUASERVICE**  
SINCE 1999

**FISH PUMP**  
NUEVO MODELO

MODELOS	AQUA 2020-E	AQUA 4040-E	AQUA 6060-E	AQUA 1080	AQUA 1210
Diametro salida	2"	4"	6"	8"	10"
Diametro entrada	2"	4"	6"	10"	12"
Tamaño Pez	1-35 grs	1-185 grs	1-300 grs	1-500 grs	1-1.800 grs
Flojo de descarga	650 l/min	1800 l/min	1800 l/min	4500 l/min	5200 l/min
Peces por hora*	3,9 ton/hour	7,5 ton/hour	9,8 ton/hour	16 ton/hour	20 ton /hr
Altura de transferencia Max	6 mts	6 mts	6 mts	6 mts	6mts
Distancia de transferencia Max	200 mts	250 mts	250 mts	250 mts	250 mts
Motor Eléctrico	2 hp / 1,5 kw	3 hp / 2,2 kw	5 hp / 3,7 kw	20 hp / 15 kw	30 hp / 22kw
Suministro eléctrico	220 v 380 v ac	220 v 380 V AC	220 v 380 V AC	380 V AC	380 V AC
Bomba autocebante	0.75 hp / 1"	1 hp / 1,5"	1 hp / 1,5"	1 hp / 1,5"	1 hp / 1,5"
Peso Bomba	125 kg	135 kg	230 kg	560 kg	550kg

\*La cantidad de peces transferida depende de las condiciones y altura de las instalaciones. La información entregada es acorde al uso optimo de las bombas.

### NUEVA FISH PUMP AQUA 1080

*Bombas para todo tipo de peces*

- Transferencia de peces vivos a camiones.
- Para cargar seleccionadoras y maquinas contadoras.
- Fish Friendly.
- Facil uso en transferencia de smolt y alevines.
- Disminuye la mortalidad y tiempos usados en trasvasije.

www.aquaservice.cl · www.fishpump.cl

# Feriados Internacionales 2018

Fuente: [www.guiamundialdeviajes.com](http://www.guiamundialdeviajes.com)  
[www.qppstudio.net](http://www.qppstudio.net)  
[www.web-calendar.org](http://www.web-calendar.org)



Lunes 1 Enero	Día de Año Nuevo	●	●	●	●	●	●
Martes 2 Enero	2 de Enero						●
Lunes 8 Enero	Día de la Entrada a la Edad Adulta						●
Lunes 15 Enero	Día de Martin Luther King			●			
Domingo 11 Febrero	Día Nacional de la Fundación					●	
Miércoles 14 Febrero	Día de San Valentín						●
Lunes 19 de Febrero	Día del Presidente			●			
Martes 20 Marzo	Equinocio Vernal					●	
Domingo 25 Marzo	Día de la Madre						●
Domingo 25 Marzo	Domingo de Ramos	●				●	
Jueves 29 Marzo	Jueves Santo					●	
Viernes 30 Marzo	Viernes Santo	●	●			●	
Sábado 31 Marzo	Sábado Santo	●				●	●
Domingo 1 Abril	Pascua de Resurrección	●	●			●	●
Martes 17 Abril	Lunes de Pascua					●	●
Domingo 29 Abril	Día de Showa						
Martes 1 Mayo	Día Internacional de los trabajadores	●				●	●
Jueves 3 Mayo	Día del Memorial de la Constitución						●
Viernes 4 Mayo	Día de la Naturaleza						●
Sábado 5 Mayo	Día de la Infancia						●
Jueves 17 Mayo	Fiesta Nacional de Noruega					●	
Domingo 20 Mayo	Domingo Pentecostés	●				●	
Lunes 21 Mayo	Lunes de Pentecostés		●			●	
Lunes 21 de Mayo	Día de las Glorias Navales			●			●
Lunes 21 Mayo	Fiesta de la Reina						●
Lunes 28 de Mayo	Día de los Caídos						
Martes 29 Mayo	Spring Bank Holiday						●
Lunes 18 Junio	Día del Padre						
Viernes 29 de Junio	Día de San Pedro y San Pablo	●					
Domingo 1 de Julio	Día de Cánada		●				
Miércoles 4 de Julio	Día de la Independencia			●			
Lunes 16 de Julio	Día de la Virgen del Carmen	●					
Lunes 16 Julio	Día de la Marina						●
Martes 7 Agosto	Summer Bank Holiday						●
Miércoles 15 de Agosto	Asunción de la Virgen	●					
Lunes 3 de Septiembre	Día del Trabajo		●	●			
Lunes 17 Septiembre	Día del Respeto a los Mayores						●
Martes 18 de Septiembre	Día de la Independencia de Chile						
Miércoles 19 de Septiembre	Día de las Glorias del Ejército	●					
Lunes 8 de Octubre	Día de Acción de Gracias		●				
Lunes 8 de Octubre	Día de Colón			●			
Lunes 8 Octubre	Día de la Salud y los Deportes						●
Lunes 15 de Octubre	Día del Encuentro de Dos Mundos	●					
Sábado 27 de Octubre	Día de las Iglesias Protestantes y Evangélicas	●					
Jueves 1 de Noviembre	Día de Todos los Santos	●					
Sábado 3 Noviembre	Día de la Cultura						●
Lunes 12 de Noviembre	Día de los Veteranos			●			
Domingo 11 de Noviembre	Día del Recuerdo		●				
Jueves 22 de Noviembre	Día de Acción de Gracias			●			●
Viernes 30 Noviembre	Día de San Andrés						●
Sábado 8 de Diciembre	Inmaculada Concepción	●					
Domingo 23 Diciembre	Cumpleaños del Emperador						●
Martes 25 Diciembre	Navidad	●	●	●	●		●
Miércoles 26 Diciembre	San Esteban		●		●		●
Lunes 31 Diciembre	Nochevieja				●		



# MAREAS Puerto Montt 2018

JULIO						AGOSTO						SEPTIEMBRE					
DIA	HORA	ALTURA	DIA	HORA	ALTURA	DIA	HORA	ALTURA	DIA	HORA	ALTURA	DIA	HORA	ALTURA	DIA	HORA	ALTURA
	H.M.	METROS		H.M.	METROS		H.M.	METROS		H.M.	METROS		H.M.	METROS		H.M.	METROS
01	0314	5.45	16	0346	6.23	01	0353	5.43	16	0447	5.88	01	0432	5.58	16	0546	5.08
D	0907	1.93	L	0950	1.05	MI	0954	2.00	J	1059	1.63	S	1048	1.98	D	1217	2.51
	1518	5.98		1600	6.75		1558	5.70		1703	5.70		1649	5.29		1829	4.56
	2145	1.73		2226	0.86		2221	1.85		2319	1.73		2303	2.07			
02	0347	5.26	17	0433	5.99	02	0426	5.31	17	0535	5.50	02	0518	5.41	17	0030	2.82
L	0940	2.14	M	1039	1.35	J	1030	2.17	V	1151	2.09	D	1140	2.23	L	0708	4.81
	1550	5.73		1647	6.31		1633	5.47		1756	5.14		1744	4.97		1357	2.69
	2219	1.94		2313	1.22		2256	2.02					2357	2.38		2015	4.40
03	0423	5.08	18	0523	5.71	03	0505	5.22	18	0010	2.22	03	0621	5.25	18	0217	2.98
M	1017	2.36	MI	1130	1.71	V	1112	2.32	S	0636	5.17	L	1252	2.44	M	0846	4.84
	1625	5.47		1738	5.81		1715	5.25		1301	2.46		1906	4.71		1536	2.50
	2255	2.12					2338	2.18		1910	4.71					2149	4.61
04	0503	4.93	19	0003	1.61	04	0553	5.17	19	0121	2.59	04	0116	2.62	19	0350	2.77
MI	1058	2.54	J	0620	5.43	S	1205	2.46	D	0757	5.01	M	0748	5.20	MI	1001	5.12
	1705	5.24		1230	2.08		1810	5.05		1436	2.57		1431	2.44		1638	2.12
	2337	2.26		1838	5.33					2046	4.57		2051	4.74		2247	4.97
05	0550	4.85	20	0102	1.97	05	0032	2.34	20	0253	2.71	05	0259	2.59	20	0446	2.41
J	1147	2.67	V	0727	5.25	D	0656	5.17	L	0921	5.12	MI	0923	5.44	J	1053	5.48
	1754	5.06		1344	2.33		1314	2.53		1604	2.36		1608	2.06		1721	1.73
				1951	4.99		1924	4.91		2210	4.75		2222	5.13		2327	5.32
06	0027	2.34	21	0212	2.21	06	0143	2.43	21	0412	2.55	06	0428	2.18	21	0527	2.04
V	0647	4.87	S	0842	5.24	L	0811	5.29	M	1028	5.41	J	1041	5.93	V	1132	5.82
	1248	2.71		1509	2.35		1439	2.44		1704	1.99		1717	1.48		1756	1.40
	1856	4.97		2113	4.88		2052	4.95		2309	5.07		2327	5.69			
07	0125	2.34	22	0327	2.26	07	0306	2.36	22	0507	2.26	07	0532	1.59	22	0001	5.63
S	0750	5.02	D	0952	5.41	M	0930	5.57	MI	1118	5.76	V	1142	6.50	S	0601	1.70
	1359	2.61		1624	2.15		1606	2.12		1748	1.65		1811	0.90		1206	6.10
	2007	5.00		2225	5.01		2216	5.21		2351	5.38					1827	1.15
08	0231	2.24	23	0432	2.14	08	0426	2.08	23	0548	1.97	08	0019	6.23	23	0031	5.88
D	0855	5.31	L	1051	5.69	MI	1043	6.01	J	1157	6.06	S	0623	1.04	D	0632	1.41
	1513	2.36		1721	1.85		1718	1.62		1824	1.37		1232	6.98		1238	6.30
	2119	5.17		2322	5.24		2326	5.63					1857	0.46		1856	0.96
09	0337	2.02	24	0523	1.96	09	0532	1.65	24	0027	5.64	09	0103	6.63	24	0100	6.08
L	0957	5.70	M	1138	5.98	J	1146	6.51	V	0624	1.72	D	0709	0.63	L	0703	1.18
	1622	1.98		1807	1.58		1817	1.09		1232	6.29		1317	7.25		1308	6.42
	2227	5.45								1856	1.17		1938	0.23		1924	0.84
10	0440	1.73	25	0006	5.46	10	0024	6.07	25	0059	5.83	10	0144	6.84	25	0129	6.22
M	1057	6.15	MI	0605	1.78	V	0629	1.20	S	0656	1.53	L	0751	0.44	M	0734	1.02
	1724	1.52		1218	6.22		1240	6.96		1303	6.43		1358	7.27		1339	6.45
	2330	5.77		1845	1.37		1908	0.65		1926	1.05		2017	0.24		1953	0.82
11	0539	1.41	26	0044	5.64	11	0115	6.43	26	0129	5.94	11	0222	6.84	26	0158	6.29
MI	1153	6.59	J	0641	1.66	S	0719	0.85	D	0727	1.40	M	0831	0.48	MI	0806	0.96
	1822	1.08		1253	6.39		1329	7.24		1334	6.47		1436	7.05		1410	6.38
				1919	1.25		1955	0.38		1955	1.02		2053	0.46		2023	0.89
12	0027	6.07	27	0118	5.75	12	0201	6.64	27	0158	6.00	12	0259	6.65	27	0228	6.29
J	0633	1.12	V	0714	1.58	D	0806	0.65	L	0757	1.34	MI	0909	0.73	J	0839	1.01
	1247	6.95		1325	6.46		1415	7.31		1404	6.42		1513	6.65		1441	6.21
	1915	0.72		1950	1.21		2038	0.33		2023	1.06		2128	0.84		2053	1.05
13	0120	6.29	28	0150	5.78	13	0243	6.66	28	0227	5.99	13	0334	6.33	28	0259	6.21
V	0725	0.91	S	0746	1.56	L	0849	0.65	M	0829	1.36	J	0947	1.12	V	0913	1.15
	1338	7.17		1356	6.45		1457	7.14		1434	6.29		1550	6.13		1515	5.96
	2006	0.51		2021	1.24		2119	0.48		2052	1.17		2202	1.33		2126	1.30
14	0211	6.40	29	0221	5.75	14	0324	6.52	29	0255	5.93	14	0411	5.93	29	0332	6.06
S	0815	0.82	D	0817	1.60	M	0932	0.84	MI	0900	1.44	V	1027	1.60	S	0950	1.38
	1427	7.22		1426	6.34		1538	6.78		1504	6.09		1629	5.56		1552	5.64
	2054	0.47		2050	1.34		2158	0.81		2121	1.33		2239	1.86		2201	1.62
15	0259	6.38	30	0252	5.67	15	0405	6.24	30	0325	5.84	15	0452	5.49	30	0411	5.83
D	0903	0.86	L	0848	1.70	MI	1014	1.19	J	0933	1.58	S	1113	2.09	D	1033	1.69
	1514	7.07		1457	6.17		1619	6.27		1535	5.85		1717	5.01		1637	5.26
	2141	0.59		2120	1.48		2238	1.24		2151	1.55		2323	2.38		2245	2.00
			31	0322	5.56				31	0356	5.72						
			M	0920	1.84				V	1008	1.76						
				1527	5.94					1609	5.58						
				2150	1.66					2224	1.79						

MAREAS DALCAHUE Hacer sgtes. correcciones: Sumar 27 minutos a la hora pleamar / Sumar 27 minutos a la hora bajamar

Hacer ajuste de horario en los meses correspondientes - EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS  
 Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

# MAREAS Puerto Montt 2018

## OCTUBRE

DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS
01	0500	5.54	16	0617	4.72
L	1129	2.04	M	1302	2.73
	1737	4.87		1925	4.37
	2344	2.40			
02	0609	5.24	17	0126	3.04
M	1249	2.32	MI	0757	4.64
	1910	4.61		1447	2.65
				2105	4.50
03	0115	2.66	18	0311	2.89
MI	0746	5.15	J	0922	4.84
	1436	2.28		1558	2.34
	2059	4.76		2209	4.81
04	0305	2.50	19	0413	2.53
J	0923	5.43	V	1018	5.16
	1605	1.84		1644	1.98
	2220	5.25		2251	5.16
05	0425	1.96	20	0455	2.13
V	1037	5.95	S	1100	5.50
	1707	1.27		1720	1.63
	2317	5.83		2325	5.49
06	0523	1.34	21	0529	1.75
S	1132	6.49	D	1134	5.82
	1755	0.76		1751	1.32
				2356	5.81
07	0003	6.34	22	0601	1.38
D	0610	0.81	L	1207	6.09
	1218	6.90		1821	1.05
	1838	0.41			
08	0044	6.70	23	0026	6.10
L	0653	0.47	M	0633	1.07
	1300	7.09		1238	6.30
	1917	0.27		1851	0.86
09	0123	6.86	24	0056	6.33
M	0733	0.36	MI	0706	0.83
	1338	7.06		1311	6.41
	1953	0.34		1922	0.75
10	0158	6.82	25	0128	6.49
MI	0810	0.47	J	0741	0.70
	1414	6.82		1345	6.41
	2027	0.60		1955	0.76
11	0233	6.61	26	0201	6.55
J	0846	0.75	V	0817	0.71
	1449	6.45		1421	6.28
	2100	0.99		2030	0.90
12	0306	6.28	27	0237	6.48
V	0921	1.14	S	0856	0.85
	1524	5.99		1500	6.04
	2132	1.45		2108	1.16
13	0339	5.88	28	0315	6.29
S	0958	1.60	D	0938	1.11
	1601	5.50		1543	5.69
	2206	1.94		2149	1.50
14	0417	5.46	29	0400	6.00
D	1039	2.05	L	1027	1.47
	1646	5.01		1634	5.30
	2248	2.42		2240	1.90
15	0505	5.05	30	0456	5.64
L	1135	2.47	M	1128	1.84
	1749	4.59		1741	4.93
	2347	2.83		2347	2.27
			31	0610	5.33
			MI	1250	2.09
				1911	4.76

## NOVIEMBRE

DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS
01	0118	2.43	16	0157	2.97
J	0743	5.25	V	0818	4.63
	1426	2.04		1455	2.62
	2046	4.94		2110	4.61
02	0255	2.21	17	0317	2.75
V	0911	5.49	S	0926	4.83
	1545	1.70		1552	2.35
	2159	5.37		2201	4.90
03	0408	1.74	18	0408	2.40
S	1020	5.90	D	1015	5.12
	1645	1.26		1633	2.03
	2255	5.86		2240	5.25
04	0505	1.23	19	0448	2.01
D	1114	6.31	L	1054	5.45
	1733	0.88		1708	1.69
	2341	6.28		2314	5.62
05	0552	0.83	20	0525	1.60
L	1200	6.60	M	1130	5.77
	1816	0.64		1742	1.37
				2348	5.99
06	0023	6.57	21	0601	1.22
M	0635	0.59	MI	1207	6.05
	1241	6.73		1817	1.09
	1855	0.57			
07	0101	6.69	22	0023	6.33
MI	0715	0.54	J	0639	0.90
	1319	6.68		1245	6.25
	1931	0.66		1854	0.91
08	0137	6.64	23	0100	6.58
J	0752	0.67	V	0719	0.70
	1355	6.50		1324	6.33
	2005	0.89		1932	0.84
09	0211	6.47	24	0140	6.70
V	0827	0.92	S	0801	0.64
	1430	6.21		1407	6.27
	2037	1.21		2013	0.91
10	0244	6.20	25	0222	6.68
S	0901	1.25	D	0845	0.73
	1504	5.87		1451	6.09
	2109	1.58		2057	1.10
11	0316	5.87	26	0307	6.52
D	0936	1.63	L	0933	0.94
	1540	5.49		1540	5.81
	2142	1.97		2145	1.38
12	0352	5.51	27	0357	6.24
L	1014	2.01	M	1026	1.25
	1621	5.10		1635	5.49
	2221	2.36		2240	1.69
13	0434	5.15	28	0455	5.90
M	1101	2.37	MI	1127	1.56
	1712	4.74		1739	5.21
	2310	2.70		2345	1.98
14	0530	4.82	29	0604	5.60
MI	1205	2.65	J	1238	1.80
	1824	4.48		1855	5.06
15	0022	2.95	30	0103	2.12
J	0649	4.61	V	0722	5.42
	1333	2.75		1356	1.87
	1954	4.43		2015	5.13

## DICIEMBRE

DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS
01	0227	2.05	16	0146	2.94
S	0843	5.46	D	0802	4.62
	1512	1.75		1430	2.65
	2128	5.39		2050	4.69
02	0342	1.78	17	0258	2.76
D	0953	5.64	L	0907	4.77
	1615	1.51		1527	2.44
	2228	5.73		2142	5.00
03	0443	1.45	18	0355	2.43
L	1052	5.88	M	1002	5.04
	1708	1.28		1616	2.15
	2319	6.06		2227	5.39
04	0535	1.16	19	0445	2.03
M	1141	6.08	MI	1050	5.36
	1754	1.11		1701	1.82
				2311	5.82
05	0004	6.32	20	0532	1.60
MI	0621	0.97	J	1137	5.68
	1225	6.20		1746	1.50
	1835	1.05		2355	6.23
06	0044	6.45	21	0618	1.21
J	0702	0.91	V	1224	5.96
	1305	6.21		1831	1.23
	1913	1.09			
07	0121	6.47	22	0041	6.58
V	0740	0.97	S	0706	0.89
	1342	6.13		1312	6.14
	1947	1.23		1917	1.05
08	0156	6.38	23	0128	6.81
S	0816	1.13	D	0754	0.70
	1417	5.98		1400	6.21
	2020	1.44		2004	0.98
09	0229	6.21	24	0215	6.89
D	0849	1.36	L	0842	0.65
	1451	5.76		1448	6.17
	2052	1.68		2052	1.03
10	0301	5.98	25	0304	6.82
L	0923	1.62	M	0931	0.74
	1525	5.50		1538	6.03
	2124	1.96		2142	1.17
11	0334	5.71	26	0354	6.61
M	0957	1.91	MI	1022	0.95
	1601	5.21		1630	5.82
	2159	2.25		2234	1.40
12	0410	5.41	27	0446	6.28
MI	1036	2.20	J	1115	1.23
	1642	4.93		1725	5.58
	2238	2.53		2330	1.67
13	0451	5.10	28	0544	5.89
J	1121	2.46	V	1212	1.54
	1732	4.67		1827	5.37
	2327	2.78			
14	0543	4.82	29	0035	1.94
V	1216	2.66	S	0649	5.52
	1834	4.51		1317	1.81
				1937	5.26
15	0030	2.94	30	0150	2.11
S	0648	4.64	D	0803	5.26
	1323	2.73		1428	1.96
	1946	4.52		2052	5.30
			31	0312	2.09
			L	0921	5.20
				1541	1.95
				2201	5.51

MAREAS DALCAHUE Hacer sgtes. correcciones: Sumar 27 minutos a la hora pleamar / Sumar 27 minutos a la hora bajamar

Hacer ajuste de horario en los meses correspondientes - EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS  
Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

# MAREAS Puerto Chacabuco 2018

JULIO						AGOSTO						SEPTIEMBRE					
DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS
01	0325	2.06	16	0353	2.34	01	0408	2.09	16	0518	2.38	01	0513	2.30	16	0638	2.39
D	0900	0.89	L	0929	0.52	MI	0947	0.94	J	1107	0.82	S	1120	0.90	D	1320	0.99
	1524	2.54		1558	2.81		1606	2.28		1729	2.28		1731	1.98		1932	1.85
	2152	0.74		2219	0.36		2225	0.79		2334	0.80		2325	0.88			
02	0359	1.98	17	0448	2.27	02	0453	2.08	17	0615	2.33	02	0608	2.29	17	0102	1.19
L	0929	0.97	M	1021	0.68	J	1035	1.01	V	1220	0.96	D	1235	0.94	L	0741	2.35
	1556	2.41		1650	2.62		1653	2.14		1840	2.08		1845	1.87		1443	0.99
	2225	0.84		2311	0.56		2309	0.88								2051	1.82
03	0439	1.92	18	0545	2.22	03	0545	2.08	18	0038	0.98	03	0032	0.98	18	0215	1.24
M	1004	1.07	MI	1121	0.86	V	1138	1.08	S	0717	2.32	L	0713	2.31	M	0847	2.35
	1633	2.27		1750	2.41		1754	2.00		1347	1.01		1404	0.89		1548	0.92
	2304	0.93					2000	1.96		2000	1.96		2009	1.83		2206	1.86
04	0527	1.89	19	0011	0.75	04	0007	0.96	19	0152	1.09	04	0152	1.01	19	0318	1.22
MI	1051	1.16	J	0646	2.20	S	0645	2.11	D	0825	2.35	M	0826	2.38	MI	0947	2.38
	1721	2.14		1237	0.99		1302	1.09		1511	0.95		1523	0.73		1636	0.84
	2356	1.01		1901	2.23		1910	1.91		2122	1.94		2133	1.90		2259	1.95
05	0625	1.89	20	0122	0.89	05	0121	1.00	20	0259	1.11	05	0305	0.95	20	0412	1.17
J	1202	1.23	V	0754	2.22	D	0753	2.18	L	0930	2.42	MI	0936	2.51	J	1037	2.43
	1826	2.02		1405	1.02		1433	0.99		1615	0.84		1622	0.54		1714	0.75
				2020	2.12		2032	1.89		2232	1.99		2242	2.04		2338	2.04
06	0107	1.04	21	0234	0.95	06	0233	0.97	21	0354	1.07	06	0407	0.83	21	0458	1.09
V	0733	1.94	S	0903	2.32	L	0903	2.31	M	1025	2.51	J	1036	2.68	V	1119	2.47
	1338	1.22		1528	0.94		1545	0.80		1702	0.73		1711	0.35		1747	0.68
	1944	1.96		2141	2.09		2152	1.95		2322	2.07		2334	2.21			
07	0220	1.00	22	0333	0.94	07	0333	0.88	22	0443	1.01	07	0503	0.67	22	0010	2.13
S	0845	2.05	D	1005	2.46	M	1005	2.48	MI	1111	2.59	V	1130	2.84	S	0539	1.00
	1504	1.09		1632	0.80		1641	0.58		1741	0.64		1756	0.19		1156	2.50
	2103	1.97		2249	2.14		2257	2.07								1817	0.60
08	0318	0.91	23	0424	0.90	08	0428	0.76	23	0001	2.14	08	0019	2.38	23	0039	2.21
D	0947	2.22	L	1056	2.60	MI	1058	2.67	J	0525	0.95	S	0554	0.51	D	0615	0.90
	1608	0.88		1722	0.66		1728	0.36		1150	2.64		1219	2.96		1229	2.53
	2213	2.04		2340	2.20		2348	2.22		1815	0.58		1839	0.09		1846	0.54
09	0407	0.79	24	0510	0.84	09	0519	0.61	24	0034	2.20	09	0101	2.52	24	0106	2.28
L	1038	2.43	M	1140	2.71	J	1148	2.85	V	0604	0.89	D	0643	0.39	L	0649	0.80
	1659	0.64		1803	0.56		1813	0.19		1225	2.66		1306	3.01		1302	2.54
	2311	2.15								1847	0.53		1922	0.06		1914	0.49
10	0453	0.66	25	0020	2.26	10	0033	2.35	25	0104	2.23	10	0144	2.61	25	0134	2.36
M	1123	2.64	MI	0552	0.79	V	0609	0.48	S	0639	0.84	L	0730	0.34	M	0723	0.71
	1745	0.41		1218	2.77		1235	2.99		1257	2.66		1351	2.97		1334	2.53
				1840	0.49		1857	0.07		1917	0.51		2005	0.11		1945	0.46
11	0000	2.26	26	0055	2.28	11	0117	2.45	26	0132	2.25	11	0228	2.65	26	0205	2.42
MI	0539	0.54	J	0630	0.76	S	0656	0.38	D	0711	0.80	M	0817	0.37	MI	0758	0.63
	1208	2.82		1253	2.79		1322	3.05		1327	2.63		1435	2.84		1408	2.48
	1829	0.23		1915	0.47		1941	0.03		1946	0.50		2047	0.22		2017	0.45
12	0045	2.35	27	0127	2.27	12	0200	2.51	27	0201	2.26	12	0314	2.64	27	0239	2.48
J	0625	0.43	V	0704	0.76	D	0743	0.34	L	0743	0.77	MI	0905	0.46	J	0836	0.59
	1252	2.96		1325	2.76		1407	3.04		1358	2.58		1521	2.64		1445	2.40
	1913	0.10		1947	0.48		2025	0.07		2015	0.51		2129	0.40		2051	0.48
13	0129	2.41	28	0157	2.24	13	0246	2.51	28	0230	2.28	13	0402	2.60	28	0316	2.51
V	0711	0.37	S	0736	0.77	L	0829	0.38	M	0816	0.75	J	0956	0.61	V	0919	0.60
	1337	3.04		1355	2.71		1452	2.93		1430	2.52		1611	2.40		1526	2.27
	1958	0.06		2017	0.52		2110	0.19		2045	0.53		2212	0.61		2127	0.55
14	0214	2.42	29	0227	2.20	14	0334	2.48	29	0303	2.29	14	0450	2.53	29	0359	2.52
S	0756	0.35	D	0806	0.80	M	0916	0.49	MI	0852	0.75	V	1053	0.77	S	1006	0.65
	1423	3.03		1424	2.63		1539	2.75		1505	2.42		1708	2.17		1614	2.12
	2043	0.10		2047	0.57		2155	0.36		2118	0.58		2258	0.84		2208	0.67
15	0302	2.40	30	0257	2.15	15	0425	2.43	30	0341	2.30	15	0542	2.45	30	0446	2.50
D	0842	0.40	L	0836	0.83	MI	1008	0.65	J	0933	0.78	S	1200	0.91	D	1103	0.73
	1509	2.96		1454	2.53		1629	2.52		1544	2.29		1816	1.97		1714	1.97
	2130	0.20		2117	0.63		2242	0.57		2154	0.66		2352	1.05		2256	0.81
			31	0329	2.12				31	0424	2.30						
			M	0909	0.88				V	1021	0.83						
				1527	2.42					1631	2.13						
				2149	0.71					2235	0.76						

Hacer ajuste de horario en los meses correspondientes - EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS  
Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

# MAREAS Puerto Chacabuco 2018

OCTUBRE						NOVIEMBRE						DICIEMBRE					
DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS
01	0539	2.46	16	0003	1.22	01	0054	1.02	16	0131	1.40	01	0156	1.00	16	0204	1.36
L	1212	0.79	M	0649	2.32	J	0732	2.47	V	0756	2.10	S	0823	2.42	D	0808	1.97
	1828	1.85		1359	1.04		1431	0.68		1516	1.06		1506	0.67		1504	1.07
	2358	0.96		2004	1.74		2048	1.94		2136	1.79		2130	2.15		2128	1.93
02	0643	2.42	17	0117	1.32	02	0217	1.01	17	0257	1.37	02	0315	0.93	17	0325	1.24
M	1336	0.79	MI	0752	2.25	V	0846	2.50	S	0906	2.08	D	0935	2.43	L	0922	1.98
	1950	1.82		1511	1.02		1536	0.58		1600	0.98		1601	0.60		1548	0.96
				2123	1.76		2158	2.09		2228	1.92		2230	2.34		2217	2.09
03	0120	1.03	18	0233	1.34	03	0330	0.90	18	0401	1.25	03	0423	0.78	18	0421	1.05
MI	0757	2.44	J	0858	2.23	S	0954	2.57	D	1006	2.12	L	1040	2.46	M	1023	2.05
	1459	0.69		1602	0.96		1628	0.47		1635	0.88		1649	0.54		1626	0.84
	2113	1.90		2227	1.85		2254	2.28		2305	2.07		2320	2.55		2257	2.28
04	0240	0.99	19	0338	1.29	04	0433	0.74	19	0449	1.08	04	0521	0.61	19	0506	0.83
J	0910	2.52	V	0956	2.24	D	1055	2.65	L	1056	2.19	M	1138	2.51	MI	1113	2.14
	1601	0.54		1641	0.87		1714	0.37		1706	0.76		1734	0.49		1703	0.71
	2223	2.05		2310	1.96		2341	1.96		2336	2.24					2333	2.48
05	0348	0.87	20	0431	1.20	05	0529	0.58	20	0529	0.89	05	0004	2.74	20	0546	0.60
V	1015	2.65	S	1045	2.28	L	1149	2.70	M	1138	2.27	MI	0611	0.46	J	1157	2.23
	1651	0.38		1714	0.78		1757	0.31		1738	0.64		1227	2.53		1742	0.59
	2316	2.24		2342	2.09								1817	0.46			
06	0447	0.71	21	0514	1.07	06	0025	2.68	21	0007	2.41	06	0046	2.88	21	0010	2.67
S	1112	2.78	D	1126	2.34	M	0620	0.44	MI	0607	0.69	J	0658	0.37	V	0626	0.40
	1736	0.25		1743	0.68		1238	2.71		1217	2.34		1312	2.51		1239	2.30
							1839	0.29		1812	0.53		1859	0.47		1822	0.49
07	0001	2.43	22	0010	2.21	07	0107	2.81	22	0039	2.58	07	0127	2.94	22	0049	2.82
D	0541	0.54	L	0552	0.92	MI	0709	0.36	J	0645	0.50	V	0741	0.34	S	0707	0.25
	1203	2.87		1203	2.40		1323	2.66		1255	2.38		1353	2.45		1320	2.34
	1819	0.17		1813	0.59		1921	0.32		1847	0.45		1939	0.52		1904	0.42
08	0044	2.59	23	0038	2.34	08	0149	2.89	23	0113	2.72	08	0206	2.93	23	0131	2.93
L	0631	0.42	M	0628	0.76	J	0755	0.35	V	0724	0.36	S	0823	0.38	D	0750	0.16
	1251	2.89		1238	2.44		1407	2.56		1334	2.38		1433	2.35		1403	2.35
	1901	0.15		1843	0.50		2001	0.41		1925	0.40		2016	0.60		1947	0.39
09	0126	2.71	24	0107	2.47	09	0230	2.89	24	0151	2.82	09	0243	2.87	24	0214	2.96
M	0719	0.35	MI	0703	0.61	V	0841	0.40	S	0806	0.28	D	0904	0.47	L	0835	0.15
	1336	2.83		1313	2.46		1451	2.41		1415	2.34		1511	2.22		1449	2.31
	1943	0.19		1915	0.43		2040	0.54		2004	0.40		2050	0.73		2031	0.42
10	0209	2.78	25	0139	2.58	10	0311	2.83	25	0232	2.86	10	0319	2.75	25	0300	2.93
MI	0806	0.36	J	0741	0.50	S	0926	0.50	D	0850	0.27	L	0943	0.61	M	0922	0.21
	1421	2.70		1350	2.44		1534	2.24		1500	2.26		1550	2.08		1540	2.25
	2024	0.30		1949	0.40		2117	0.70		2046	0.46		2122	0.87		2117	0.51
11	0253	2.78	26	0214	2.67	11	0350	2.73	26	0316	2.84	11	0352	2.60	26	0347	2.84
J	0854	0.43	V	0821	0.43	D	1011	0.65	L	0938	0.33	M	1021	0.76	MI	1012	0.33
	1506	2.51		1429	2.37		1620	2.07		1551	2.16		1629	1.95		1635	2.17
	2104	0.46		2026	0.42		2153	0.87		2130	0.57		2153	1.01		2206	0.65
12	0337	2.74	27	0253	2.71	12	0429	2.59	27	0404	2.76	12	0425	2.45	27	0439	2.70
V	0943	0.55	S	0904	0.42	L	1059	0.81	M	1030	0.43	MI	1101	0.91	J	1106	0.49
	1554	2.30		1512	2.25		1709	1.91		1650	2.06		1713	1.85		1736	2.12
	2144	0.66		2105	0.49		2228	1.04		2220	0.71		2225	1.15		2303	0.81
13	0421	2.65	28	0336	2.70	13	0509	2.45	28	0457	2.66	13	0501	2.29	28	0538	2.54
S	1035	0.70	D	0952	0.48	M	1151	0.96	MI	1129	0.56	J	1146	1.04	V	1208	0.64
	1647	2.09		1601	2.12		1803	1.79		1756	1.99		1803	1.78		1839	2.09
	2225	0.87		2147	0.61		2307	1.20		2319	0.87		2306	1.28			
14	0506	2.54	29	0423	2.65	14	0553	2.30	29	0559	2.54	14	0546	2.14	29	0014	0.94
D	1133	0.86	L	1046	0.57	MI	1256	1.07	J	1239	0.66	V	1248	1.12	S	0645	2.39
	1746	1.92		1702	1.99		1904	1.72		1905	1.97		1904	1.76		1320	0.75
	2308	1.06		2235	0.77											1947	2.13
15	0554	2.43	30	0516	2.57	15	0003	1.34	30	0033	0.98	15	0020	1.37	30	0138	1.00
L	1240	0.98	M	1151	0.66	J	0648	2.18	V	0709	2.46	S	0649	2.02	D	0800	2.28
	1852	1.80		1813	1.89		1413	1.11		1358	0.70		1404	1.13		1432	2.02
				2336	0.92		2019	1.72		2018	2.02		2019	1.81		2059	2.24
			31	0619	2.50										31	0303	0.94
			MI	1309	0.72										L	0918	2.24
				1929	1.87											1532	0.77
																2203	2.41

Hacer ajuste de horario en los meses correspondientes - EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS  
Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

# Maximiza los ahorros de tu negocio mientras cuidas el medio ambiente.

- Generación, Cogeneración y Trigeneración
- Central Térmica Ultra Eficiente
- Bombas de Calor
- Generación y Manejo de Vapor
- GLP
- Suministro Eléctrico



Visítanos en

[www.abastible.cl](http://www.abastible.cl)



Para más información escríbenos a

[solucionesenergeticas@abastible.cl](mailto:solucionesenergeticas@abastible.cl)



# Tolerancia de *Caligus rogercresseyi* al tratamiento con agua dulce



Universidad Austral de Chile  
Conocimiento y Naturaleza

Sandra Bravo<sup>1</sup>, Verónica Pozo<sup>1</sup>, María Teresa Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Austral de Chile

<sup>2</sup>Universidad San Sebastián

Los productos utilizados para el control del piojo de mar, corresponden a pesticidas que fueron inicialmente desarrollados para el control de parásitos en la ganadería. Todos tienen efectos adversos para el ambiente acuático si no son usados apropiadamente. Estos pesticidas deben tener la propiedad de matar al parásito, sin provocar toxicidad en el hospedador y deben ser inocuos para el medio ambiente, a las concentraciones y períodos de aplicación recomendados por los laboratorios que desarrollaron el producto. El mal uso de estos productos pueden provocar problemas en el ambiente acuático y en los organismos que habitan en las zonas circundantes si no son usados apropiadamente (Wang et al., 2011, Kumar et al., 2011; Ait et al., 2011; Shen et al., 2012).

Uno de los grandes problemas que se han evidenciado en Chile y en otros países, es la pérdida de sensibilidad del piojo de mar frente al uso repetitivo de un mismo producto (Jones et al., 1992; Denholm et al., 2002; Sevatdal & Horsberg 2003; Bravo et al., 2008b), por lo que en el último tiempo la investigación ha estado dirigida a buscar métodos alternativos a los farmacológicos, entre los cuales se destacan los tratamientos con baños de agua dulce.

La salinidad ha mostrado tener un efecto importante sobre la sobrevivencia del piojo de mar, principalmente para los estadios de vida libre (nauplius y copepoditos), lo que ha llevado a que algunos centros de cultivos sean localizados en zonas estuarinas para evitar las infestaciones por estos parásitos. Es así que para *Lepeophtheirus salmonis*, parásito que infecta a los salmones en el hemisferio norte, se ha reportado una mayor tasa de crecimiento y una mayor tasa de asentamiento a salinidad de 34‰ comparado con salinidad de 24‰ (Tucker et al., 2000). La salinidad también ha mostrado afectar la eclosión de los huevos y el desarrollo de los estados de vida libre en *L. salmonis* (Wooten et al., 1982). Johnson & Albright (1991) encontraron que los estados de nauplius no se desarrollan a salinidad menor a 15‰ y que a salinidad menor a 25 ‰ se obtuvieron nauplius menos activos, observándose mortalidad y problemas de muda en los copepoditos. En British Columbia ha sido reportado que las larvas de *L. salmonis* no alcanzan el estado infeccioso a salinidad menor a 30‰ (Brooks, 2005). Pike & Wadsworth (1999) re-

portaron que ejemplares adultos de *L. salmonis* mueren a salinidad menor a 12‰. Aun cuando la sobrevivencia de *L. salmonis* mejora a salinidad entre 20‰ y 25‰, el desarrollo de los copepoditos permanece bajo a salinidad menor a 30‰. Por otro lado, Heuch et al. (1995) reportaron que los copepoditos de *L. salmonis* evitan sectores con salinidad menor a 20‰.

Para el caso de *Caligus rogercresseyi*, en estudios realizados previamente en condiciones controladas de laboratorio (Bravo et al., 2008a), se reportó que los ejemplares adultos no logran sobrevivir por más de 30 minutos en agua dulce (0‰). A 15‰ se reportó una sobrevivencia de 20% a las 24 horas de exposición en parásitos colectados desde zonas con alta salinidad (>25‰), en comparación al 80% de sobrevivencia registrado en parásitos colectados desde zonas altamente influenciadas por agua dulce (<25‰), incidiendo en la intensidad de infestación

Considerando la sensibilidad mostrada por el piojo de mar a la baja salinidad, se realizaron estudios de tolerancia de *C. rogercresseyi* al agua dulce (Bravo et al., 2015) en centros de cultivos localizados en el área de Calbuco, Región de Los Lagos (41°44'LS; 73°09'W). El primer estudio se efectuó en un centro de cultivos en el cual la salinidad fue de 26‰. El segundo estudio se realizó en un centro de cultivos con salinidad de 30‰.

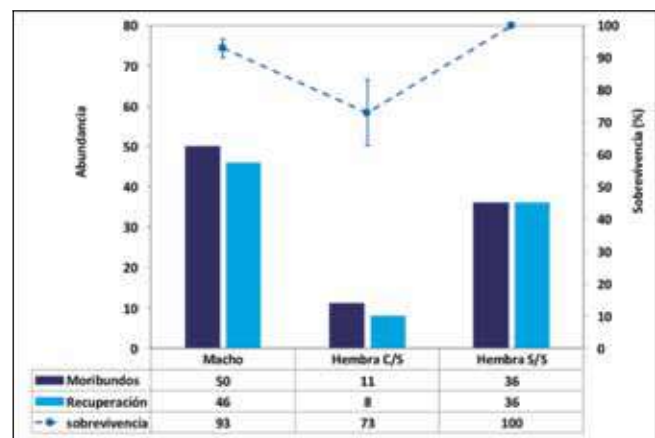


Figura 1: Sobrevivencia ( $\pm$  error estándar) de ejemplares adultos de *Caligus rogercresseyi* expuestos a agua dulce (0‰).

Los resultados arrojados por el primer estudio mostraron que los ejemplares adultos de *C. rogercresseyi* sometidos a desafíos con agua dulce, sin el hospedador, lograron la inconsciencia a los 30 minutos de exposición. Sin embargo, al ser retornados los parásitos inconscientes a agua de mar fresca (26‰), se registró un 93% de recuperación en los machos; 73% en las hembras con saco y 100% en las hembras sin saco (Fig. 1).

Los resultados obtenidos en el estudio dirigido a evaluar la tolerancia de *C. rogercresseyi* parasitando a trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), sometidas a tratamientos con baños de agua dulce, mostraron una efectividad del 57% en la reducción de adultos totales a salinidad de 0‰; 49% con salinidad de 5‰ y 15% con salinidad de 8‰. La mayor eficacia para las tres concentraciones se registró para los machos (75%), resultando más tolerantes las hembras a la menor salinidad, registrándose una eficacia de 41% (Fig.2).

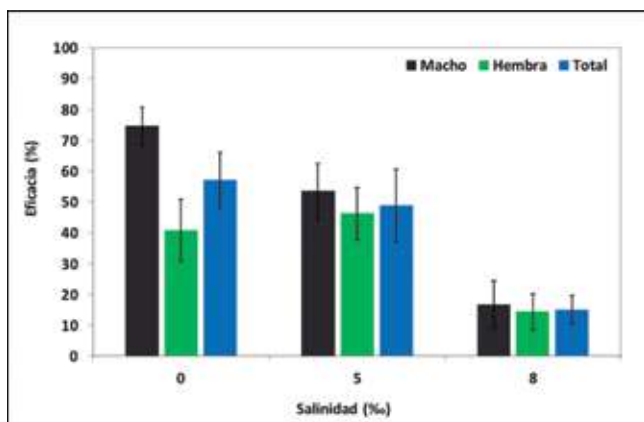


Figura 2: Eficacia ( $\pm$  error estándar) de tratamientos con agua dulce para el control de *Caligus rogercresseyi* (0‰; 5‰ y 8‰).

Los resultados arrojados por el segundo estudio, en el cual se sometieron a desafío a machos y hembras de *C. rogercresseyi* sin hospedador, mostraron 100% de mortalidad a 0‰ y 100% de sobrevivencia a 30‰ a las 24 h de exposición. La sobrevivencia de las hembras fue de 45% y 20% para los machos mantenidos a 15‰ expuestos por 24 horas, en tanto que a 20‰ se registró 60% de sobrevivencia para hembras y 65% para machos (Fig.3).

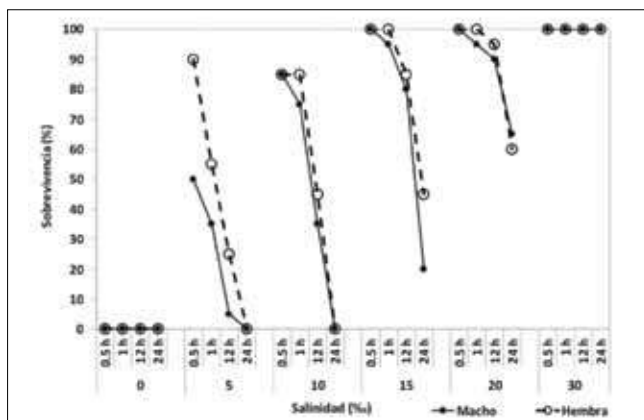


Figura 3: Sobrevivencia de machos y hembras de *Caligus rogercresseyi* expuestos a diferentes gradientes de salinidad.

Los resultados obtenidos con el desafío de los copepoditos a agua dulce, mostraron que los copepoditos de *C. rogercresseyi* no soportaron salinidades menores a 30‰, registrándose solo 15% de sobrevivencia a salinidad de 25‰ después de un minuto de exposición (Fig.4).

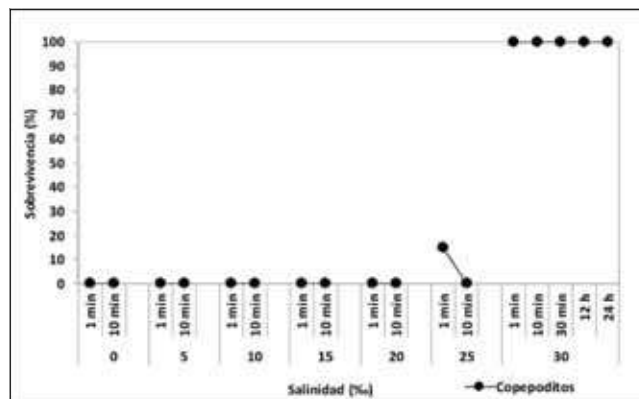


Figura 4: Sobrevivencia de copepoditos de *Caligus rogercresseyi* expuestos a diferentes gradientes de salinidad.

Al igual que los resultados obtenidos en el marco del proyecto Fondef DO411255 (Bravo et al., 2008a), los parásitos colectados desde el centro con salinidad de 26‰, presentaron mayor tolerancia a la baja salinidad que los parásitos colectados en el sector con salinidad de 30‰. Para ambos casos, las hembras presentaron mayor tolerancia a la menor salinidad que los machos (Tabla 1), lo cual puede ser explicado por la cualidad de las hembras de preservar la especie bajo condiciones límites de sobrevivencia.

## CONCLUSIONES

Las hembras con saco mostraron mayor susceptibilidad a los tratamientos con agua dulce que las hembras sin saco, registrándose un 73% de recuperación versus 100% para las hembras sin saco. Sin embargo, al igual que los tratamientos con peróxido de hidrógeno (Bravo et al., 2010b), los tratamientos con baño de agua dulce no provocan un efecto de toxicidad, como es el caso de los pesticidas empleados para el control del piojo de mar. Los parásitos solo se sueltan del pez, quedando inconscientes y recuperándose una vez que son retornados nuevamente a salinidad alta.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que aun cuando la prevalencia y abundancia es reducida en sectores con baja salinidad (Bravo et al., 2008a), la alternativa de realizar tratamientos con baños de agua para el control de *Caligus* no es una buena opción, debido a que solo se logró una eficacia del 57% a los 30 minutos de exposición de las truchas parasitadas, registrándose una menor eficacia en las hembras (41%), hacia las cuales debieran ir dirigidas las medidas de control, considerando que éstas son las responsables de las nuevas generaciones (Bravo 2010).

Importante es señalar que los parásitos de la familia Caligidae se caracterizan por presentar una membrana adoral que rodea el cefalotórax (Fig.5) y que les permite mantenerse firmemente adheridos a la superficie corporal del pez por un largo período

**Tabla 1:** Comparación de la tolerancia de *Caligus rogercresseyi* a diferentes gradientes de salinidad en muestreos realizados en el 2007 versus 2013.

Salinidad	Tiempo exposición(h)	% Supervivencia			
		Hembras		Machos	
		2007	2013	2007	2013
0‰	0,5	0	0	0	0
	1	0	0	0	0
	12	0	0	0	0
	24	0	0	0	0
5‰	0,5	60	90	40	50
	1	50	55	40	35
	12	40	25	20	5
	24	40	0	20	0
10‰	0,5	100	85	90	85
	1	100	85	90	75
	12	60	45	80	35
	24	60	0	80	0
15‰	0,5	90	100	100	100
	1	90	100	100	95
	12	60	85	80	80
	24	40	45	40	20
20‰	0,5	100	100	100	100
	1	100	100	100	95
	12	60	95	70	90
	24	60	60	70	65
30‰	0,5	100	100	100	100
	1	100	100	100	100
	12	100	100	100	100
	24	100	100	100	100



**Figura 5:** Membrana adoral alrededor del cefalotórax de *Caligus rogercresseyi* (Foto: Sandra Bravo).



**Figura 6:** Hembra *Lepeophtheirus salmonis* adherida a salmón del Atlántico retornante en río de Noruega (Foto: Trygve Poppe)

de tiempo, protegiéndolos de condiciones ambientales adversas, como es el caso de bajas concentraciones de salinidad (Fig. 6). Hahnenkamp & Fyhn (1985) reportaron que ejemplares adultos de *L. salmonis* sobreviven hasta siete días adheridos al salmón del Atlántico en agua dulce, en tanto que Stone et al. (2002) al realizar tratamiento por baño de 3 horas con agua dulce en salmón del Atlántico, no encontraron diferencias en la supervivencia de *L. salmonis* entre los peces tratados y los peces control.

## REFERENCIAS

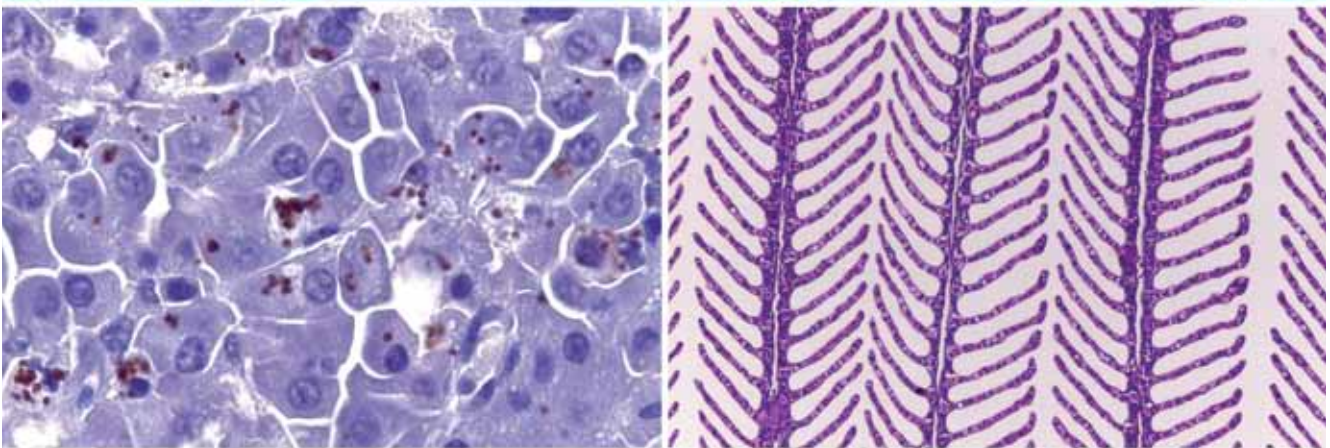
- Ait A. M.; Ait F. M.; Mouabad A. 2011. Effects of cypermethrin (Pyrethroid insecticide) on the valve activity behavior, byssal thread formation, and survival in air of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 60: 462-470.
- Bravo S. 2010. The reproductive output of sea lice *Caligus rogercresseyi* under controlled conditions. Exp Parasitology 125, 51-54.
- Bravo S., Pozo V., Silva M.T. 2015. Evaluación de la efectividad del tratamiento con agua dulce para el control de *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo, 2000. Lat. Am.J.Aquat. Res. 43(2) 322-328.
- Bravo S, Treasurer J, Sepulveda M, Lagos C. 2010. Effectiveness of hydrogen peroxide in the control of *Caligus rogercresseyi* in Chile and implications for sea louse management. Aquaculture 303:22-27.
- Bravo S, Pozo V, Silva M. 2008a. The tolerance of *Caligus rogercresseyi* to salinity reduced in southern Chile. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 28:197-204.
- Bravo S, Sevattal S, Horsberg T. 2008b. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile. Aquaculture 282, 7-12.
- Brooks K. M. 2005. The Effects of water temperature, salinity, and currents on the survival and distribution of the infective copepodid stage of sea lice (*Lepeophtheirus Salmonis*) originating on Atlantic salmon farms in the Broughton Archipelago of British Columbia, Canada. Reviews in Fisheries Science, 13:177-204, 2005
- Denholm I., Devine G.J., Horsberg T.E., Sevattal S., Fallang A., Nolan D.V., Powell R. 2002. Analysis and management of resistance to chemotherapeutants in salmon lice *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) (Copepoda: Caligidae). Pest Management Science 58, 528-536.
- Hahnenkamp L., Fyhn, H. J. 1985. The osmotic response of salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae), during the transition from sea water to fresh water. Journal of Comparative Physiology B 155, 357-365
- Heuch, P.A., Parsons, A., Boxaspen, K., 1995. Diel vertical migration: a possible host-finding mechanism in salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids? Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52, 681- 689.
- Johnson SC, LJ Albright. 1991. Development, growth, and survival of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) under laboratory conditions. J. Mar. Biol. Assoc. UK 71: 425-436.
- Jones M.W., Sommerville C., Wootten R., 1992. Reduced sensitivity of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis*, to the organophosphate dichlorvos. Journal of Fish Diseases 15, 197 - 202.
- Kumar, A., Sharma, B., Pandey R. S. 2011. Cypermethrin induced alterations in nitrogen metabolism in freshwater fishes. Chemosphere 83: 492-501.
- Pike AW, SL Wadsworth. 1999. Sea lice on salmonids: their biology and control. Adv. Parasit. 44: 233-337
- Sevattal S., Horsberg T.E., 2003. Determination of reduced sensitivity in sea lice (*Lepeophtheirus salmonis* Krøyer) against the pyrethroid deltamethrin using bioassays and probit modeling. Aquaculture 218, 21 - 31.
- Stone J., Boyd S., Sommerville C., Rae, G. H. 2002. An evaluation of freshwater bath treatments for the Control of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*, infections in Atlantic salmon, *Salmo salar*. Journal of Fish Diseases 25, 371-373
- Tucker CS, C Sommerville, R Wootten. 2000. The effect of temperature and salinity on the settlement and survival of copepodids of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. 23: 309-320.
- Wang, Z-H, Nie, X-P, Yue, W-J. 2011. Toxicological effects of cypermethrin to marine phytoplankton in a co-culture system under laboratory conditions. Ecotoxicology 20:1258-1267.
- Wootten R, JW Smith, EA Needham. 1982. Aspects of the biology of the parasitic copepods *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* on farmed salmonids, and their treatment. Proc. R. Soc. Edinb. Sect. B 81: 185-197.



# Patología avanzada Histopatología VETERINARIA

## Nuestros Servicios

**Score Histológico**  
**Detección de FANs**  
**Evaluación de dietas**  
**Análisis Reproductivos**  
**Detección de Patógenos**  
**Planimetría de células y tejidos**  
**Evaluación del estado de esmoltificación**  
**Detección de metales pesados & toxicología**  
**Evaluación de deformaciones músculo esqueléticas**



**▶ Siguenos!**     
[www.patologia-veterinaria.com](http://www.patologia-veterinaria.com)

**▶ Te esperamos en AquaSur**  
 Stand A-342 / 17, 18, 19 y 20 de octubre de 2018

📍 Libertad 590, Puerto Montt, Región de Los Lagos, Chile  
 ☎ +56 65 2710 232, Código Postal: 5507363

 **VEHICE**  
 VETERINARY HISTOPATHOLOGY CENTER

✉ [info@vehice.cl](mailto:info@vehice.cl) 🌐 [www.vehice.cl](http://www.vehice.cl)

# Melanina - Melanomacrófagos - Melanosis



Universidad Austral de Chile  
*Conocimiento y Naturaleza*



Carlos Sandoval<sup>1,2</sup>, Enrique Paredes<sup>3</sup>, Manuel Ulloa<sup>2</sup>, Barbara Etcharren<sup>2</sup>, Fernanda Molina<sup>2</sup>, Paulo Salinas<sup>4</sup>, Paulina Moreno<sup>2</sup>

<sup>1</sup> M.V., MSc (c). Escuela de Graduados, Fac. Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

<sup>2</sup> Investigación & Desarrollo Laboratorio Vehice

<sup>3</sup> M.V., Dr. med.vet. Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile.

<sup>4</sup> MV, MSc, PhD. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

La melanina es un pigmento de amplia distribución en la naturaleza, incluida dentro de un grupo, los cuales son responsables de la coloración de plantas y animales.

En mamíferos, a la melanina se le atribuye como principal función la protección solar, sin embargo, en vertebrados ectotermos cumple una función inmunológica, jugando un rol importante en la defensa antimicrobiana.

En contraste a los mamíferos y aves, los vertebrados ectotérmicos poseen células tipo inflamatorias productoras de melanina llamadas melanomacrófagos (Roberts 1975; Agius & Roberts 2003), los cuales contienen fragmentos derivados de las células fagocitadas, principalmente eritrocitos y pigmentos como la melanina, lipofuscina y hemosiderina (Micale y Perdichizzi, 1990; Passantino y col., 2005; Bombonato y col., 2007).

En peces, el avance en la escala evolutiva se correlaciona con una mayor organización celular de los melanomacrófagos. En peces óseos se presentan en grupos celulares organizados denominados centros melanomacrófagos (Ferguson, 1989). En peces, se observan frecuentemente en inflamaciones crónicas asociadas a un daño tisular severo, por lo tanto, han sido considerados como monitores del estado de salud, dado que existen reportes que evidencian una estimulación en las líneas linfoides por medio de CD83+ (Haugarvoll et al. 2006).

La melanina es sintetizada en los melanosomas, organelo incluido en los melanocitos, ubicados en la dermis. (Agius and Roberts, 2003). Respecto a los melanomacrófagos, son producidos en las células madres del tejido mesenquimal hematopoyético de riñón y bazo (Sichel et al. 1997) y en algunas especies se puede presentar en hígado. En salmonídeos se producen en la línea celular SHK-1 ubicada en el intersticio de la cabeza del riñón, las cuales se expresan en transcripciones de la familia de las tirosinasas y produce los melanosomas, específicamente se expresan por la proteína TYRP-2/Dct.

## Los pigmentos de los centros de melanomacrófagos

Los centros melanomacrófagos poseen pigmentos orgánicos con alto peso molecular de color amarillo, café-amarillento y negro, los que son insolubles en la mayoría de los solventes, esta definición incluye la melanina y lipofuscina. El origen y la naturaleza de estos pigmentos son diferentes, al igual que sus roles bioquímicos. Junto a los macrófagos, la lipofuscina aparece como el pigmento más abundante, seguida por la melanina.

### MELANINA

Se encuentra en agregados complejos que absorben y neutralizan radicales libres, cationes y otros potenciales agentes tóxicos derivados de la degradación y fagocitosis de material celular. De igual forma, se sugiere que la melanina puede ser importante en la producción de componentes bactericidas, especialmente peróxido de hidrógeno, y que sus precursores de la quinona, cuando la activación enzimática está restringida a bajas temperaturas, pueden ser bactericidas y tener un beneficio heterotérmicos. Sobre la melanogénesis, esta toma lugar en los melanocitos, que son melanóforos inmaduros que producen activamente melanina. Estas células son capaces de convertirse en melanóforos y subir a una capa melanófora funcional (Roberts 1975).

### LIPOFUSCINA

Es el resultado de la polimerización oxidativa de ácidos grasos poliinsaturados. Estos productos pueden acumularse en el pez como resultado de deficiencias dietarias (Pickford, 1953). Se han observado incrementos en los depósitos de lipofuscina en caquexias de diferentes especies. De igual forma, este incremento es frecuente en enfermedades infecciosas, problemas nutricionales y alteraciones por tóxicos. Se tienen dificultades para determinar la diferencia entre la Lipofuscina y los cuerpos ceoides, dado que son parte del mismo proceso oxidativo.

## HEMOSIDERINA

Es un pigmento relativamente insoluble, granular y de color café, y sus pigmentos contienen proteínas y componentes férricos. Esta proviene del catabolismo de la hemoglobina durante el reciclamiento de la eritropoyesis, que se da cuando un tejido se satura con ferritina (compuesto tradicional de acumulación de hierro), posteriormente se almacena en forma de hemosiderina intracelular.

Pueden existir dos causas que explican el incremento de la hemosiderina: i) el incremento de metabolismo por daño de los eritrocitos; y ii) la sobre retención de hierro en los centros de melanomacrófagos como mecanismo protectorio.

La hemosiderina se presenta en los tejidos en alteraciones patológicas como por ejemplo en casos de anemia hemolítica (Roberts, 2001) y ayunos prolongados (Angius 1979<sup>a</sup>)

### Funciones de los pigmentos

Dentro de las funciones descritas para los centros de melanomacrófagos, se encuentra el almacenamiento de fosfolípidos de derivados celulares y hierro luego de la eritropoyesis, deposición de patógenos de resistencia como bacterias y esporas de parásitos y presentación de antígenos a respuesta inmune, promoviendo la línea linfoide.

Estudios sugieren que la función principal de los melanomacrófagos es la desintoxicación y reúso de materiales tanto exógenos como endógenos. También se presentan en mayor tamaño y número ante degeneraciones tisulares, con una alta importancia respecto a patógenos intracelulares.

### Melanomacrófagos como indicadores de estrés ambiental

Como en los vertebrados, el estrés somete a los peces a una susceptibilidad ante enfermedades, acompañado por alteración en la cantidad de células leucocitarias, observándose un incremento de granulocitos y una disminución en la cantidad de células linfocitarias. El efecto más prominente es el aumento de la cantidad de células fagocíticas y el mejoramiento en la degradación de glóbulos rojos.

La cantidad y tamaño de los melanomacrófagos pueden verse alterados por causas fisiológicas tales como la edad. Wolke, George & Blazer (1995) han señalado que los melanomacrófagos son biomarcadores de contaminación ambiental.

Se sugiere la participación de los centros de melanomacrófagos en las enfermedades y en los consecuentes cambios observados en el organismo provocados por factores tales como la inanición y exposición química. Estos centros son indicadores sensibles ante el estrés por las condiciones del ambiente acuático.

### Melanomacrófagos y enfermedades infecciosas

Los macrófagos del riñón juegan un papel importante en la proliferación intracelular de bacterias en la patogénesis de ciertas

afecciones crónicas como la tuberculosis (Chinabut 1999), nocardiosis (Chen 1992) y BKD (Wolke 1975). Los macrófagos llevan los agentes etiológicos altamente resistentes de estas afecciones a los centros esplénicos o renales para la deposición y a menudo crean los focos iniciales de infección. Con la proliferación intracelular de las bacterias altamente resistentes, estas se convierten en los granulomas esplénicos y renales característicos de tales afecciones crónicas.

Los centros también desempeñan un papel importante en afecciones como la vibriosis y yersiniosis. En ambas condiciones existe una anemia hemolítica grave y cuando la afección es crónica, es posible detectar grandes cantidades de hemosiderina en las células de los melanomacrófagos (Hjeltnes y Roberts 1993).

Al igual que las infecciones bacterianas, muchas infecciones virales tienen una predilección por los tejidos hematopoyéticos de los peces y generalmente inician focos o zonas más extensas de necrosis aguda. Estos invariablemente incluyen melanomacrófagos, pero generalmente parece dar como resultado la destrucción indiscriminada de tales centros junto con otros elementos hematopoyéticos.

En infecciones fúngicas se observa una necrosis simultánea de los centros melanomacrófagos junto con otros elementos tisulares, especialmente en riñón, donde los granulomas grandes de hongos desplazan o destruyen los tejidos renales y hematopoyéticos (Carmichael, 1966).

Cuando el estrés, el trauma o una enfermedad han llevado a una hembra a reabsorber óvulos dentro del ovario en lugar de progresar al desove, o cuando grandes áreas de la piel son dañadas por ulceración traumática, se desarrollan centros de melanomacrófagos, en grandes cantidades dentro del tejidos de soporte (Roberts 2001).

## Causas de Melanosis Muscular

### Etiología Melanosis Muscular

- Traumatismos
- Fracturas de espinas
- Infecciones bacterianas
- Infecciones parasitarias
- Infecciones virales-Piscine reovirus (PRV)
- Efectos secundarios por vacunación
- Idiopático

Rebelan & Magali, 1975; Larsen *et al.*, 2012; Nylun *et al.*, 2011; Bjorgen *et al.*, 2015

# Distintos Patrones de Melanosis



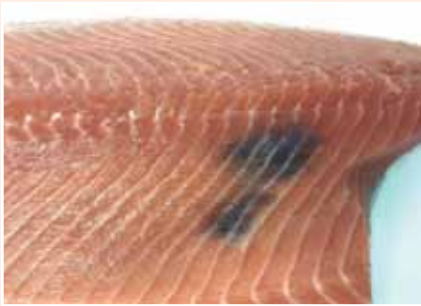
Melanosis Peduncular.  
Imagen Carlos Sandoval.



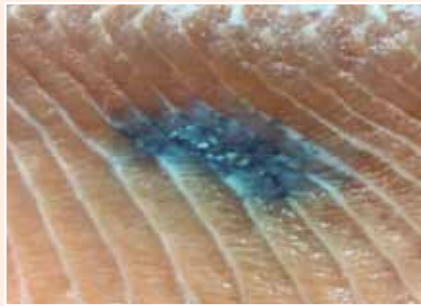
Melanosis Muscular.  
Imagen Carlos Sandoval.



Melanosis Muscular.  
Imagen Carlos Sandoval.



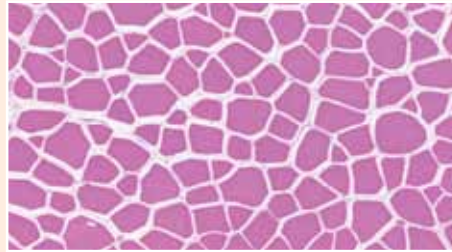
Melanosis Muscular. Imagen Carlos Sandoval.



Melanosis Muscular. Imagen Carlos Sandoval.



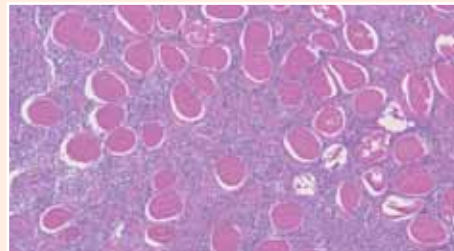
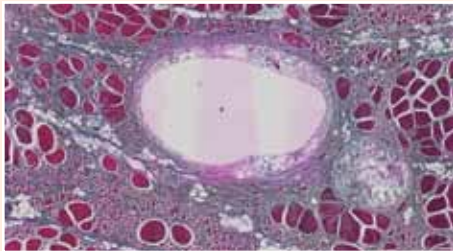
Melanosis Muscular. Imagen Carlos Sandoval.



Músculo Sano. H&E.  
Imagen Carlos Sandoval.

Músculo. T. Mas-  
son. Se observa  
músculo con  
fibrosis, melanina  
y presencia de  
vesículas vacías  
sugerentes a exci-  
pientes oleosos.

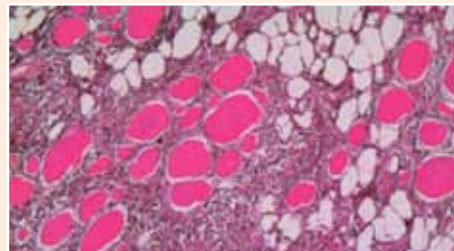
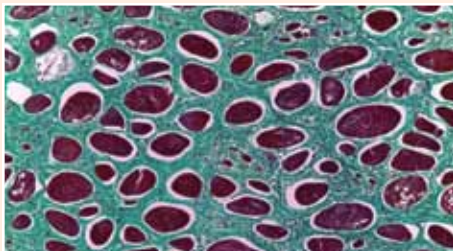
Imagen Carlos  
Sandoval.



Músculo. H&E.  
Músculo con in-  
flamación, fibrosis  
y depósitos de  
melanina.  
Imagen  
Carlos Sandoval.

Músculo. T. Mas-  
son. Músculo con  
fibrosis intersticial  
y depósitos de  
melanina.

Imagen Carlos  
Sandoval.



Músculo. H&E.  
Melanoma.  
Imagen  
Carlos Sandoval.



Somos una empresa que se dedica a la **GESTIÓN AMBIENTAL DE CONCESIONES, MONITOREO FLORACIONES ALGALES NOCIVAS y CAPACITACIONES**



**GESTIÓN AMBIENTAL DE CONCESIONES**

- Certificación de Conformidad Ambiental de Resoluciones de Calificación Ambiental (RCA).
- Gestión de pertinencias ante Servicio de Evaluación Ambiental (SEA)
- Planes de Cumplimiento Ambiental (PCA) para presentar a Superintendencia del Medio Ambiente (SMA)
- Plan de Manejo de Residuos Sólidos y Peligrosos (RESPEL)
- Validación cartográfica y Relocalizaciones de Concesiones

**CAPACITACIONES**

“Identificación y cuantificación de microalgas nocivas para salmones”

“Manejo de mortalidades de salmones y sistemas de ensilaje”

“Gestión ambiental de sustancias y residuos peligrosos”

“Normativa ambiental y sanitaria aplicable a la acuicultura”

**MONITOREO FLORACIONES ALGALES NOC (FAN)**

- Monitoreo microalgas nocivas a bordo de Wellboat (siembra y cosecha de salmones)
- Monitoreo on site (en centros de cultivo)
- Análisis de muestras fitoplancton en laboratorio Puerto Montt, Puerto Aysén, Punta Arenas, Puerto Natales
- Identificación de microalgas nocivas mediante técnicas moleculares
- Evaluación de riesgo de mortalidad de salmones ante Floraciones Algaes Nocivas
- Implementación y puesta en marcha de Programa de Monitoreo de Floraciones Algaes Nocivas
- Evaluación de eficacia de sistemas de mitigación ante Floraciones Algaes Nocivas



[WWW.NORTHPATAGONIA.CL](http://WWW.NORTHPATAGONIA.CL)



[CLAUDIA.URIBE@NORTHPATAGONIA.CL](mailto:CLAUDIA.URIBE@NORTHPATAGONIA.CL)



+56 9 9256 6661 / PUERTO MONTT - CHILE

# Identificación morfológica y molecular DE MICROALGAS ICTIOTÓXICAS PARA SALMONES



Universidad Austral de Chile  
Conocimiento y Naturaleza

Claudia Uribe,<sup>1</sup> Mauricio Vargas-Uribe<sup>2</sup>

<sup>1</sup> North Patagonia Asesorías Ltda. Pasaje 6 Nro 2051. Cardonal. Puerto Montt, Chile

<sup>2</sup> Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Isla Teja S/N Valdivia, Chile.

email contacto: claudia.uribe@northpatagonia.cl



## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la identificación y monitoreo especies ictiotóxicas para salmones se ha llevado a cabo mediante microscopía óptica con apoyo de personal capacitado en los centros de cultivo, o con ayuda de analistas en laboratorios y a bordo de well-boats. No obstante, microalgas ictiotóxicas como *Alexandrium catenella*, *Pseudochattonella verruculosa* y *Heterosigma akashiwo* son difíciles de identificar, considerando que son de tamaños pequeños a medianos (10 – 20  $\mu\text{m}$ ), presentan morfos crípticos (morfológicamente similares, pero genéticamente diferentes), y además en muestras de campo se encuentran en otros estados de su ciclo de vida, lo que requiere de avanzado conocimiento taxonómico del observador. En estudios de laboratorio se han evaluado otras formas de reconocimiento de microalgas nocivas, tales como uso de lectinas fluorescentes específicas (Okamoto et al. 2000, Cho et al. 2001), el uso de anticuerpos (Scholin et al. 2003), o la identificación a través de Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR). Esta última técnica ha sido utilizada en diversos estudios para la caracterización de diferentes cepas de *Alexandrium catenella* provenientes de diferentes lugares de Sur de Chile (Aguilera-Belmonte et al. 2011, Varela et al. 2012, Cruzat et al. 2018). Por otro lado se ha utilizado en años recientes para identificar quistes de *Heterosigma akashiwo* (Corea) (Kim et al. 2016) y como parte de programas de monitoreo regulares de *Heterosigma akashiwo* en Noruega (Engesmo et al. 2018). En tanto que para la especie *Pseudochattonella verruculosa* se ha evaluado la especificidad y sensibilidad de la técnica (PCR) con cepas danesas (Eckford-Soper and Daugbjerg 2016). La Reacción en Cadena de la Polimerasa ofrece una solución complementaria, confirmatoria, rápida, de bajo costo y de mayor pre-

cisión a la identificación de microalgas nocivas para peces. La selección de secuencias de DNA específicas como blanco para la reacción de PCR permite la identificación especie-específica y es aplicable a todos los estados de vida de la especie monitoreada. Durante el programa de monitoreo de microalgas nocivas para salmones 2017-2018, la empresa North Patagonia llevo a cabo la identificación morfológica y molecular de las especies nocivas *Alexandrium catenella*, *Pseudochattonella verruculosa* y *Heterosigma akashiwo* con ayuda de investigadores del Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Austral de Chile y el apoyo de CORFO con su línea Voucher de Innovación.

## METODOLOGÍA

Para la identificación morfológica de las microalgas en sus distintas etapas del ciclo de vida se observaron muestras de campo y de cultivos mono-específicos de las especies *Alexandrium catenella*, *Heterosigma akashiwo* y *Pseudochattonella verruculosa*. Se observó la morfología celular y se generó un registro fotográfico.

Para la identificación molecular se diseñaron partidores de PCR convencional dirigidos a polimorfismos de genes codificantes para rRNA de cada especie, se sintetizaron en Macrogen (Seúl, Corea del Sur). Las pruebas experimentales con muestras de cultivo y muestras de campo se llevaron a cabo mediante PCR convencional seguido de visualización de resultados mediante geles de agarosa. La identificación positiva generó bandas únicas de tamaño correspondiente al esperado para cada especie, y la identidad del amplicón fue confirmada mediante secuenciación automática en Macrogen (Seúl, Corea del Sur).

## RESULTADOS

### *Alexandrium catenella* (Whedon & Kofid) Balech, 1985

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA (Guiry and Guiry 2018)  
Phylum: Myzozoa / Clase: Dinophyceae / Orden: Gonyaucales / Familia: Ostreopsidaceae / Genero: *Alexandrium*

### DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Fase vegetativa:** Especie tecada de tamaño pequeño a mediano, en muestras de campo típicamente forma cadenas con células aplastadas anteroposteriormente levemente más anchas que largas (Fig. 1). La parte apical es redondeada y la antapical es levemente cóncava. En muestras de cultivo de laboratorio se presentan células solitarias con forma redondeada isodiamétrica (Fig. 2). El cingulum no está sobrepuesto, sino que presenta un desplazamiento de 1 a 1,5 ancho.



Figura 1: Cadena de *A. catenella* de muestras de campo de Canal Darwin, Aysén. (Enero del 2018) (gentileza Pamela Urrutia. Marine Harvest).



Figura 2. Célula de *A. catenella* de cultivo monoalgal con forma isodiamétrica.

La identificación mediante placas (tecas) distingue una placa apical (P1) que es ancha y que está unida a la placa del poro apical (Po) que es subtriangular, en tanto no se presenta un poro ventral en placa 1'. El color de la célula varía desde el amarillo-verde al café-rojo que le da un aspecto "anaranjado" muy característico y que se debe a la presencia de pigmentos como clorofila a, peridina, clorofila c2, diadinoxantina, dinoxantina y B-caroteno (Carreto et al. 2001). El rango de tamaño está entre 20-48  $\mu\text{m}$  de longitud y 18-32  $\mu\text{m}$  de ancho (Fukuyo 1985).

**Fase reproductiva:** Esta especie durante la reproducción sexual forma gametos que se unen para formar un estado de quiste donde el protoplasma se separa de la teca y toma una forma

elongada, cilíndrica, redondeada y sin ornamentos en la superficie del quiste. Al interior se observan gránulos de almidón de reserva, gotas lipídicas incoloras y una a dos granos de color rojo. (Fig. 3)



Figura 3: Quiste de resistencia de *A. catenella*. Sector Quellón. (Gentileza Fabiola Villanueva. @FAN).

### IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

La identificación molecular de *Alexandrium catenella* se realiza utilizando uno de dos juegos de partidores, denominados Acat1 F/R y Acat2 F/R, diseñados en el marco del proyecto CORFO en su línea de Voucher de Innovación. La reacción de PCR fue estandarizada con muestras de campo que habían sido previamente identificadas como positivas a la presencia de la microalga. La figura 4 muestra que, posterior al procesamiento inicial de la muestra para limpiar preservantes utilizados en toma de muestra, la reacción de PCR arrojó bandas positivas para ambos sets de partidores. Estas bandas fueron de tamaño apenas superior a 500pb y apenas inferior a 750pb, para los juegos Acat1 F/R y Acat2 F/R, respectivamente, de acuerdo a los tamaños indicados por el estándar de tamaño molecular; los cuales se corresponden con los tamaños esperados de 570pb y 698pb para los juegos Acat1 F/R y Acat2 F/R, respectivamente.

Un aspecto clave en la identificación de esta microalga por PCR fue el procesamiento de la muestra previo a la reacción de la

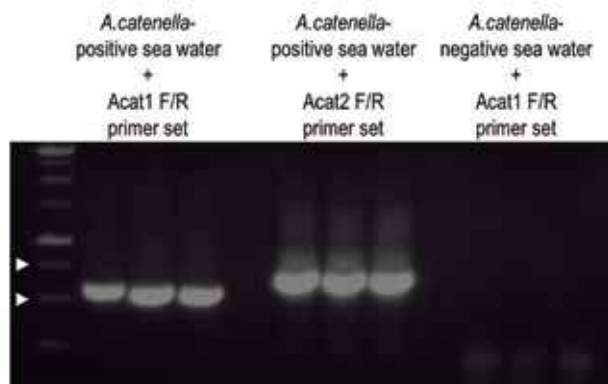


Figura 4: Detección de *A. catenella* en muestras de agua de mar utilizando PCR con partidores Acat1 F/R o Acat2 F/R. Se muestran 3 muestras contaminadas con la microalga y Lugol, ensayadas con ambos sets de partidores, y 3 muestras de agua de mar sin contaminar y sin Lugol. Las puntas de flecha indican bandas del estándar de tamaño molecular de 750pb (superior) y 500pb (inferior).

polimerasa. Las muestras obtenidas en campo, originalmente destinadas a análisis por microscopía, contenían importantes concentraciones de Lugol para su transporte y posterior análisis morfológico. Sin embargo, Lugol es un conocido inhibidor de PCR (Godhe et al. 2002, Auinger et al. 2008). Los tratamientos previos a la muestra, descritos en la literatura (Auinger et al. 2008), permitieron una óptima detección de *A. catenella* a pesar de haber sido preservada en soluciones yodadas.

### *Pseudochattonella verruculosa*

(Y. Hara & Chihara) S. Tanabe-Hosoi, D. Honda, S. Fukaya, Y. Inagaki & Y. Sako, 2007.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA (Guiry and Guiry 2018)

Phylum: *Ochrophyta* / Clase: *Dictiochophyceae* / Orden: *Florensiellales* / Familia: *Florensiellales incertae sedis* / Genero: *Pseudochattonella*

### DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Fase vegetativa:** En su estado vegetativo tiene una forma piriforme-ovoide (Fig. 5), no obstante, cuando éstas se colocan sobre un portaobjeto o una cámara de conteo al poco tiempo su forma se vuelve esférica (Fig. 6). Poseen 2 flagelos que emergen desde la parte anterior de la célula que le dan un movimiento lento sobre su propio eje, movimiento que pierde pasado un tiempo en las cámaras de conteo. Posee numerosos cloroplastos discoidales distribuidos en toda la célula, sin embargo, en ciertas ocasiones estos cloroplastos migran hacia un lado de la célula dejando un espacio sin estos. En la periferia de la célula se aprecian en estado vegetativo unos mucocistos (como vellosidades) y en la fase estacionaria estos mucocistos toman una forma de gotas oblongas. El color de la microalga es dorado



Figura 5: Célula vegetativa de *P. verruculosa* de muestras de campo. Estuario. (febrero del 2016) forma ovoide con mucocistos Carlos Sandoval. VEHICE)



Figura 6: Célula vegetativa de *P. verruculosa* de cultivo monoalgal con forma esférica.

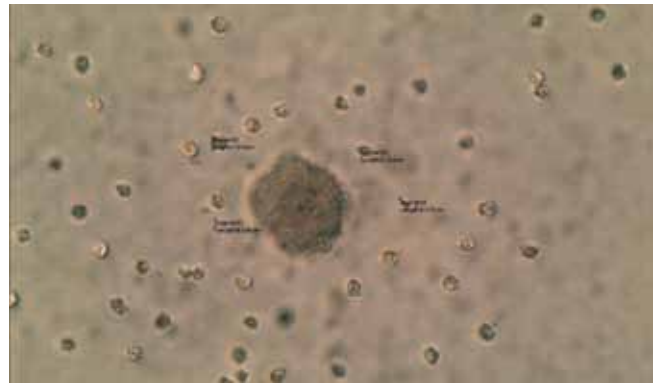


Figura 7: Plasmodio de *P. verruculosa* y células hijas alrededor (estado reproductivo) de cultivo monoalgal.

(verde-café-amarillo) característico de la clase Dictiochophyceae por la presencia de clorofila a, clorofila  $c_2$ ,  $c_3$  y como carotenoide principalmente fucoxantina. Los tamaños oscilan entre 8 – 20  $\mu\text{m}$  (Chang et al. 2014).

**Fase reproductiva:** Durante la fase de reproducción sexual las células se unen formando un cigoto. Al interior de este cigoto ocurren sucesivas divisiones (citocinesis) que dan origen a células multinucleadas que se unen a otras células multinucleadas llamadas “plasmodios” (Fig. 7) que pueden medir 200  $\mu\text{m}$  o más y que en su interior albergan “células hijas” de menor tamaño (3  $\mu\text{m}$ ) con similares características a las células vegetativas y que se liberan al romperse el plasmodio (Fig. 7) (Chang et al. 2014).

### IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

Para la detección de *P. verruculosa* mediante reacción en cadena de la polimerasa, se diseñaron 3 sets de partidores dirigidos a distintos polimorfismos en secuencia génica codificante para distintos rRNA. De estos partidores, el set integrado por partidores Pver F y Pver R amplificaron eficientemente muestras de campo positivas a *P. verruculosa* tomadas en presencia de Lugol. La figura 8 muestra el resultado obtenido con muestras de campo tomadas a 0m, 5m, 10m y 20m de profundidad. El producto de PCR obtenido en varias de las muestras fue de tamaño similar al esperado de 658pb, como se juzga por la migración de la banda entre las bandas de 500pb y 75'pb del estándar de tamaño molecular.

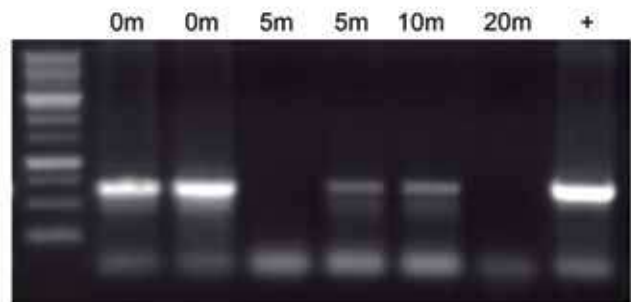


Figura 8: Detección de *P. verruculosa* en muestras de campo tomadas a distintas profundidades y preservadas con Lugol para análisis inicial por microscopía (positiva para 0 m/0m/5 y 10 m. Negativa para 5 m y 20 m. Banda amplificada es de 658pb. + corresponde a una muestra de aislado de *P. verruculosa* mantenido en cultivo que fue utilizado como control positivo.



Al igual que en el caso de detección de *A. catenella*, las muestras tomadas en campo para detección de *P. verruculosa* fueron preservadas inicialmente con Lugol para el análisis microscópico, por lo que el tratamiento previo y la optimización de la reacción de PCR fue esencial para una correcta detección de la microalga. Cabe mencionar que 2 muestras fueron negativas a la reacción de PCR bajo estas condiciones, posiblemente debido a la baja cantidad de microalga a las profundidades medidas. Las reacciones de PCR de muestras tomadas en superficie fueron mucho más eficientes (Figura 10, comparar intensidad de bandas amplificadas) que aquellas tomadas a mayor profundidad.

## *Heterosigma akashiwo*

(Y. Hada) Y. Hada ex Y. Hara & M. Chihara 1987

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA (Guiry and Guiry 2018)

Phylum: Ochrophyta / Clase: Raphidophyceae / Orden: Chattonellales / Familia: Chatonellaceae / Genero: *Heterosigma*

### DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

**Fase vegetativa:** Células con forma de “papa” levemente comprimidas dorso-ventralmente y varían desde formas esféricas a ovoides u oblongas. Posee 2 flagelos subiguales, heterodinámicos uno de los flagelos en dirección anterior móvil y el otro posterior es rígido, los flagelos emergen de un surco oblicuo en la zona subapical. Posee muchos cloroplastos de color café-amarillo a café localizados en la periferia, el tamaño aproximado de las células es de 25  $\mu\text{m}$  (Fig. 9). Después de un rato sobre las cámaras de conteo, expuestas a la luz, la célula se rompe y los cloroplastos se unen para dar una forma de “mora” (Fig. 10)



Figura 9: Célula vegetativas de *H. akashiwo* de cultivo monoalgal.



Figura 10: Célula vegetativas de *H. akashiwo* en forma de “mora” de cultivo monoalgal.

**Fase reproductiva:** Esta especie forma quistes de resistencia, aglutinando masas de células no móviles. Los quistes poseen un poro de germinación a través del cual el citoplasma emerge para germinar y convertirse en una nueva célula vegetativa y son de color verde-amarillo a café con tamaños cercanos a las 3  $\mu\text{m}$ . (Fig. 11) (Kim et al. 2015).



Figura 11: Quiste de *H. akashiwo* de cultivo monoalgal.

### IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

Finalmente, para la detección molecular de *Heterosigma akashiwo*, se diseñaron partidores para PCR convencional, los que se denominaron Haka F y Haka R. Al igual que con las muestras de *A. catenella* y *P. verruculosa*, las muestras positivas resultaron en la amplificación de una única banda, en este caso de 556pb, mientras que aquellas negativas a la presencia de la microalga no resultaron en formación de producto de PCR. De este modo, la utilización de PCR con este set de partidores sirve como complemento y confirmación de la identificación por microscopía de *H. akashiwo*.

### CONCLUSIÓN

Las características morfológicas de las especies ictiotóxicas para salmones *A. catenella*, *P. verruculosa* y *H. akashiwo* coinciden plenamente con lo descrito por otros autores tanto en su estado vegetativo como en estado reproductivo (Aguilera-Belmonte et al. 2011, Chang et al. 2014, Kim et al. 2015). No obstante, en aquellos morfos como por ejemplo forma esférica de *Pseudochattonella verruculosa* o en quistes de *Pseudochattonella* y *Heterosigma* con tamaños muy pequeños (< 3  $\mu\text{m}$ ) la tarea de identificación se hizo compleja y requirió de un conocimiento avanzado de taxonomía.

Por otro lado, se logra desarrollar la técnica molecular de PCR para la identificación especie-específica de muestras de campo usando partidores dirigidos a regiones de rDNA. Si bien se ha descrito que estas secuencias presentan variabilidad entre y dentro de un clado como en el caso de cepas chilenas de *Alexandrium catenella* provenientes de diferentes sectores de la macrozona Sur-Austral, la diferenciación con otras especies relacionadas, por ejemplo *Alexandrium tamarense*, es muy significativa (Varela et al. 2012), por lo que es poco probable que partidores dirigidos a detección rDNA de cepas chilenas de *A. catenella* reaccionen de manera cruzada con rDNA de especies evolutivamente cercanas.

La utilización complementaria de ambas técnicas (morfológica y molecular) en programas de monitoreo futuros en la industria salmonera permitirían tener aproximaciones en la identificación en centros de cultivo y confirmatorias en laboratorios que en conjunto darán precisión a los análisis.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera-Belmonte, A., I. Inostroza, J. M. Franco, P. Riobó and P. I. Gómez (2011).** "The growth, toxicity and genetic characterization of seven strains of *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech 1985 (Dinophyceae) isolated during the 2009 summer outbreak in southern Chile." *Harmful Algae* 12: 105-112.
- Auinger, B. M., K. Pfandl and J. Boenigk (2008).** "Improved methodology for identification of protists and microalgae from plankton samples preserved in Lugol's iodine solution: combining microscopic analysis with single-cell PCR." *Appl Environ Microbiol* 74(8): 2505-2510.
- Carreto, J. I., M. O. Carignan and N. G. Montoya (2001).** "Comparative studies on mycosporine-like amino acids, paralytic shellfish toxins and pigment profiles of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense*, *A. catenella* and *A. minutum*." *Marine Ecology Progress Series* 223: 49-60.
- Chang, F. H., J. E. Sutherland, M. McVeagh and M. Gall (2014).** "Molecular phylogeny, pigment composition, toxicology and life history of *Pseudochattonella cf. verruculosa* (Class Dictyochophyceae) from Wellington Harbour, New Zealand." *Harmful algae* 34: 42-55.
- Cho, E. S., B. D. Choi, Y. C. Cho, T. J. Kim and H. G. Kim (2001).** "Discrimination of three highly toxic *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) isolates using FITC-conjugated lectin probes." *Journal of plankton research* 23(1): 89-96.
- Cruzat, F. A., C. Muñoz, R. R. González-Saldía, A. Inostroza and K. B. Andree (2018).** "High genetic variability of *Alexandrium catenella* directly detected in environmental samples from the Southern Austral Ecosystem of Chile." *Marine Pollution Bulletin* 127: 437-444.
- Eckford-Soper, L. K. and N. Daugbjerg (2016).** "A quantitative real-time PCR assay for identification and enumeration of the occasionally co-occurring ichthyotoxic *Pseudochattonella farcimen* and *P. verruculosa* (Dictyochophyceae) and analysis of variation in gene copy numbers during the growth phase of single and mixed cultures." *Journal of Phycology* 52(2): 174-183.
- Engesmo, A., D. Strand, S. Gran-Stadniczeñko, B. Edvardsen, L. K. Medlin and W. Eikrem (2018).** "Development of a qPCR assay to detect and quantify ichthyotoxic flagellates along the Norwegian coast, and the first Norwegian record of *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae)." *Harmful Algae* 75: 105-117.
- Fukuyo, Y. (1985).** "Morphology of *Protogonyaulax tamarense* (Lebour) Taylor and *Protogonyaulax catenella* (Whedon and Kofoid) Taylor from Japanese coastal waters." *Bulletin of Marine Science* 37(2): 529-537.
- Godhe, A., D. M. Anderson and A.-S. Rehnstam-Holm (2002).** "PCR amplification of microalgal DNA for sequencing and species identification: studies on fixatives and algal growth stages." *Harmful Algae* 1(4): 375-382.
- Guiry, M. and G. Guiry (2018).** *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 07 August 2018.
- Kim, J.-H., J. H. Kim, P. Wang, B. S. Park and M.-S. Han (2016).** "An Improved Quantitative Real-Time PCR Assay for the Enumeration of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) Cysts Using a DNA Debris Removal Method and a Cyst-Based Standard Curve." *PLOS ONE* 11(1): e0145712.
- Kim, J.-H., B. S. Park, P. Wang, J. H. Kim, S. H. Youn and M.-S. Han (2015).** "Cyst morphology and germination in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae)." *Phycologia* 54(5): 435-439.
- Okamoto, T., D. Kim, T. Oda, K. Matsuoka, A. Ishimatsu and T. Muramatsu (2000).** "Concanavalin A-Induced Discharge of Glycocalyx of Raphidophycean Flagellates, *Chattonella marina* and *Heterosigma akashiwo*." *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 64(8): 1767-1770.
- Scholin, C., E. Vrieling, L. Peperzak, L. Rhodes and P. Rublee (2003).** "Detection of HAB species using lectin, antibody and DNA probes." *Manual on harmful marine microalgae* 2: 131-164.
- Varela, D., J. Paredes, C. Alves-de-Souza, M. Seguel, A. Sfeir and M. Frangópulos (2012).** "Intraregional variation among *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) strains from southern Chile: Morphological, toxicological and genetic diversity." *Harmful Algae* 15: 8-18.



# LOBOS

— INDUSTRIAL —  
TECNOLOGÍA EN DISOLUCIÓN  
BRINE SOLUTIONS

## TECNOLOGÍA QUE ENTREGA CONFIANZA

K+S Chile, a través de su marca Lobos Industrial provee al mercado de tecnología de punta que permite disolver sal en centros de cultivo.



Optimiza y mejora los procesos de logística y producción asociados a la disolución de sal, facilitando la aplicación del producto y resguardando la bioseguridad en los centros de cultivo.

Contacto +569 9828 3127 +569 7749 6881

info@ks-chile.com

www.ks-chile.com





**HOTEL  
CABAÑA DEL LAGO**  
PUERTO VARAS • CHILE



# Eventos frente al Lago Llanquihue



Privilegiándose a tan solo algunos pasos del centro de la ciudad e increíbles vistas panorámicas del Lago Llanquihue y los volcanes, Hotel Cabaña del Lago se posiciona como uno de los lugares más emblemáticos y atractivos en el Sur de Chile para destacar sus Eventos de manera notable e inolvidable en Puerto Varas.

VER MÁS PROGRAMAS



FREE WIFI / PARKING



**Somos Puerto Varas...**

CONSULTA POR VALORES DE APERTURA EN EVENTOS Y PROGRAMAS  
RESERVAS AL 65 2200 100 · RESERVAS@HCDL.CL · WWW.HOTELCABANADELLAGO.CL



## En Cabaña del Lago Hotel de Puerto Varas

### La mejor opción para las actividades corporativas de tu empresa

El hotel ofrece todo tipo de servicios como eventos, charlas, capacitaciones, seminarios y celebraciones en un entorno de ensueño.

Si andas buscando un lugar para celebrar la fiesta de fin de año de tu empresa o bien necesitas hacer un evento más pequeño, Hotel Cabaña del Lago se ha consolidado como la mejor alternativa en Puerto Varas. Sí, porque cuenta con una gran infraestructura, el mejor servicio y una privilegiada vista al lago Llanquihue y a los volcanes.

En el *Club House del hotel* –construido a base de maderas nativas, piedra volcánica y materiales reciclados de la zona– hay un magnífico salón de 276 mts<sup>2</sup>, con capacidad para 200 personas, una vista espectacular al lago, terraza para cóctel y acceso privado a un precioso jardín de lavanda.

Además, está el *Salón Petrohué* de 122 mts<sup>2</sup> y el *Salón Calbuco* de 75 mts<sup>2</sup>. Todos los salones cuentan con el equipamiento tecnológico necesario para realizar cualquier actividad corporativa y, por supuesto, servicio de alimentos y bebidas.



El salón del Club House tiene 276 mts<sup>2</sup>, capacidad para 200 personas y está completamente equipado.

También, el hotel dispone del *Restaurante Phillipi* y la *Terraza Ailén 75*, ambos privados, y con una linda vista al Llanquihue, ideales para realizar coffee breaks, reuniones ejecutivas,

directorios, almuerzos de trabajo, cenas grupales, celebraciones sociales, cocktails, parrilladas y buffet de carnes y pescados. Uniendo los dos espacios, su capacidad es para 120 personas.

### La piscina, ideal para un momento de esparcimiento



Después de una reunión de negocios, nada mejor que relajarse en la piscina climatizada del hotel.

Si el evento corporativo a realizarse es con alojamiento, nada mejor que aprovechar la piscina climatizada de 200 mts<sup>2</sup>, la más grande de la zona y con una tinaja exterior con capacidad para 10 personas. De seguro que todos quedarán encantados con este espacio de relax.

Ya lo sabes, Hotel Cabaña del Lago se adapta a todos tus requerimientos, preocupándose de hasta el más mínimo detalle para que tu evento resulte exitoso y quede en la memoria de cada uno de los asistentes, quienes no olvidarán su mágica estancia en un entorno inigualable, con el Llanquihue como telón de fondo.

Más información en [www.hcdl.cl](http://www.hcdl.cl)

# Herramientas Biotecnológicas para impulsar I+D e innovación en acuicultura



Jaime Romero  
Laboratorio de Biotecnología de Alimentos  
INTA, Universidad de Chile.



Nuestro quehacer en I+D enfatiza la colaboración científica y tecnológica con otras entidades académicas y con entes privados. Buscamos estar alineados con las necesidades del país tanto en nuestras líneas de I+D+i como en la formación de capital humano avanzado. Nos esforzamos en que el conocimiento generado en nuestras investigaciones constituyan desarrollos útiles para el país, permitiendo así aportar capacidades para un mejor desempeño productivo. El grupo de académicos, postdoctorados, doctores en formación y profesionales que laboran en nuestro laboratorio incluyen diversas experticias. Dentro de la gamma de experticias se cuentan ecología microbiana, (meta)genómica, genómica, RNAi, Fagoterapia, uso de peces axénicos, entre otras. Todas ellas nos han permitido un amplio abanico de posibilidades de interacción y cooperación. Además, esta base nos ha proyectado en el campo de aplicaciones en la interfase I+D e innovación en acuicultura, con la generación de solicitudes de patentes que han sido concedidas en Chile y EEUU. En este contexto presentamos un resumen de los avances que hemos obtenidos en diferentes líneas de acción y algunos de los nuevos proyectos basados en herramientas biotecnológicas.

## 1. Microbiota: interfase para la salud intestinal en múltiples especies

El foco nuestro estudio es el microbioma/microbiota de peces de interés comercial. La microbiota es un conjunto de microorganismos en continuo contacto con el hospedero que otorga beneficios como estimulación del sistema inmune y actividades metabólicas para la obtención de nu-

trientes. Conociendo estos microorganismos y sus propiedades se pueden generar herramientas para mejorar la nutrición de los peces, apuntando a potenciar la salud intestinal (absorción de nutrientes; conversión) y la inmunidad de los peces (respuesta a enfermedades). En consecuencia, este conocimiento tiene el potencial de mejorar la producción y hacerla más sustentable.

Microbiota en especies para la diversificación. Recientemente, nuestro grupo logró caracterizar la microbiota de peces incluyendo salmónidos, palometa, lenguado y congrio. La microbiota se caracterizó mediante secuenciación más íva usando aproximación de metagenoma dirigido usando regiones V3 o V4 del 16SrRNA (Ramírez & Romero 2017, a y b). En todos estas especies se compararon ejemplares silvestres y de acuicultura en la búsqueda de identificar aquellos elementos microbianos que puedan “perderse” en el proceso de domesticación. Se considera

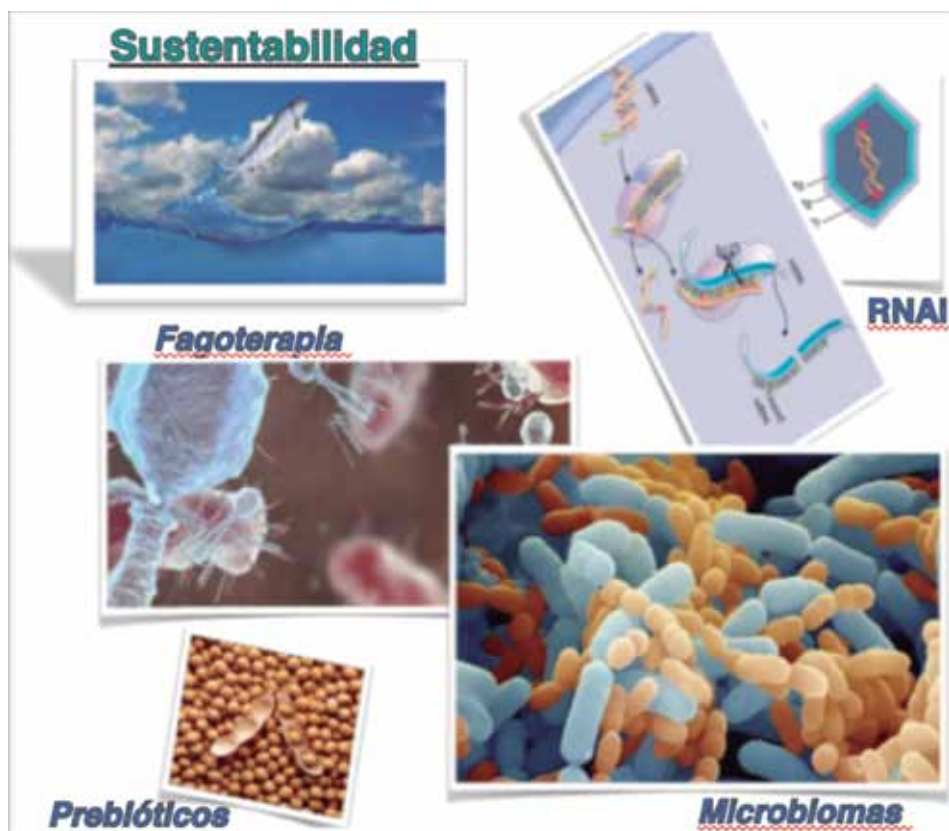
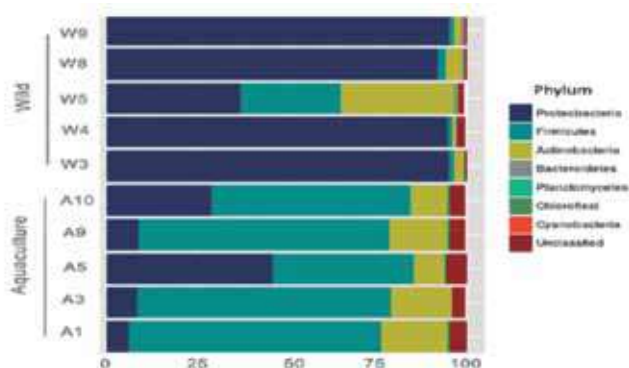


Figura 1. Muestra algunas de las herramientas biotecnológicas en las que se basan las líneas de I+D+i del Laboratorio de Biotecnología de los Alimentos INTA\_U.Chile, buscando mejorar la competitividad y sustentabilidad del sector.



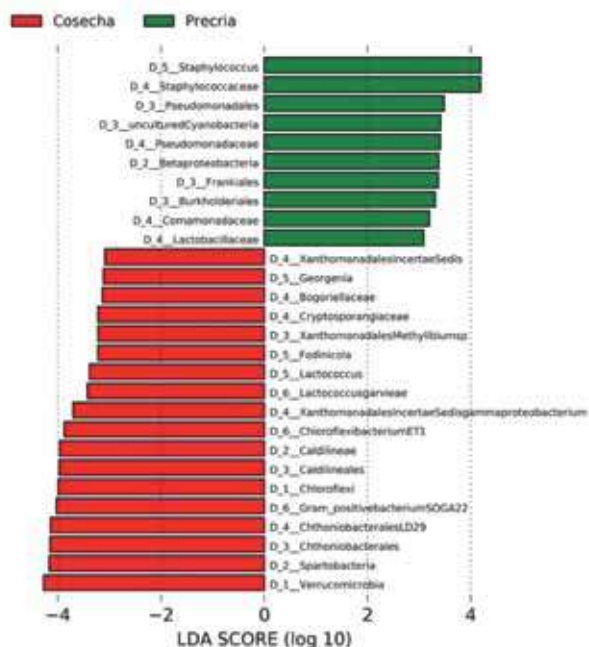
Figura 2. Muestra la abundancia relativa a nivel de phylum y grafica las diferencias que se encuentran entre peces silvestres (W) versus peces de acuicultura (A), en el caso particular de palometa (*Seriola lalandi*).



que en condiciones naturales, la microbiota ha evolucionado en conjunto con su hospedero y existen mecanismos para preservar al menos parte de esa microbiota (core microbiota) en la descendencia. La identificación de bacterias prevalentes en los peces silvestres abre la opción de “recuperar” aquellos componente de la microbiota que están presentes en forma natural en dichos hospederos, y que podrían convertirse en potenciales probióticos para mejorar las condiciones productivas (Salas-leiva 2017).



Figura 3. Análisis discriminante (LDA) magnitud del efecto (LEfSe) mostrando las Taxas con abundancia diferencial entre la microbiota de los camarones en la Precría con respecto a la de los camarones a cosecha.



En el caso del lenguado, los análisis de los microbiomas revelaron importantes diferencias entre los individuos provenientes de acuicultura, respecto a los ejemplares silvestres. El phylum más abundante en los ejemplares silvestres correspondió a *Proteobacteria* (70% aprox.), en contraste, los ejemplares de acuicultura solo presentaron 25% de este phylum y fueron dominados por bacterias del phylum *Firmicutes* (>70%). Recíprocamente, *Firmicutes* fue muy poco representado en ejemplares silvestres (Ramírez & Romero 2017a). A nivel de género, algunas bacterias también resultaron diferencialmente distribuidas, que destaca a *Arthrobacter* y *Psychrobacter* como géneros altamente representados en lenguados silvestres.

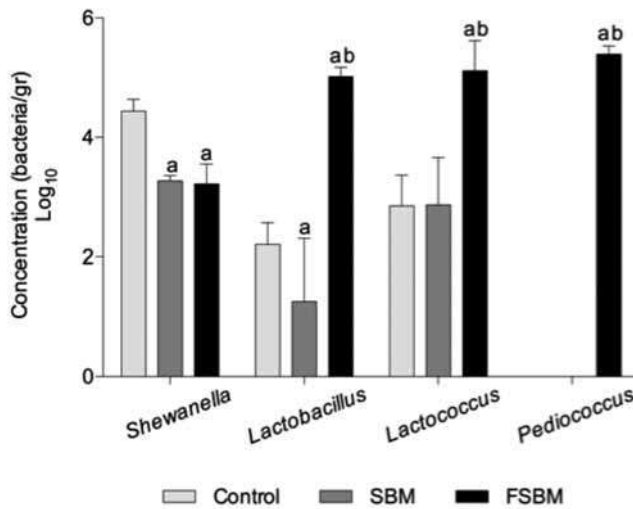
En el caso de palometa, los resultados a nivel de phylum también mostraron diferencias importantes entre ejemplares de acuicultura versus ejemplares silvestres. En palometas silvestres, los phyla más abundantes fueron *Proteobacteria* (83%), *Actinobacteria* (8%) y *Firmicutes* (7%). Mientras en acuicultura la abundancia relativa de los phylum fue *Firmicutes* (61%), *Proteobacteria* (20%) y *Actinobacteria* (14%). Estos resultados pueden apreciarse gráficamente en la siguiente figura que presenta las abundancias relativas de la microbiota de peces silvestre (W) comparadas con peces de acuicultura (A) (Figura 1).

Un aspecto muy importante de esta comparación de metagenomas es que las predicciones de función metabólica indicaron que ambas microbiotas pueden proveer de efectos benéficos a sus respectivos hospederos, ya sea en ambiente de acuicultura o silvestre, sin embargo, la microbiota de silvestres destacó por la abundancia de vías metabólicas relacionadas con síntesis de EPA/DHA, ácidos grasos de cadena corta (Ramírez & Romero 2017b). Nuestro grupo cuenta con estudios similares en otras especies, en particular salmónidos, que no han sido publicados aún y que serán enviados prontamente.

**Microbiota en especies importantes para la región (Latam).** Colaboraciones con investigadores de Ecuador nos han llevado a explorar la microbiota de especies como el camarón *Penaeus vannamei* en sistemas productivos. La composición de la microbiota bacteriana fue estudiada por secuenciación masiva, comparando la microbiota en 2 fases de cultivo: precría y cosecha de esta especie. Los resultados revelaron diferencias significativas en la composición de la microbiota del camarón entre ambas fases. Los OTUs más abundantes en fase de Precría fueron asignadas a los Phylum, CKC4 (33%) y Proteobacteria (26%), mientras en la Cosecha predominaron Proteobacteria (27%), Chloroflexi (19%) y Actinobacteria (15%). Se identificaron 205 OTUs que presentan una significativa distribución diferencial asociada a la Fase de cultivo muestreada. Algunos de estos taxa pueden observarse en la Figura 3. Estos resultados indican que la microbiota de *P. vannamei* en condiciones de cultivo intensivo en Ecuador se diferencia cualitativamente, durante el crecimiento del organismo y el desarrollo del sistema digestivo (Gainza 2018).



Figura 4. Representación del efecto de la dieta con FSBM sobre las poblaciones de bacterias lácticas en *Salmo salar*.



## 2. Prebióticos y probióticos

Las dietas comerciales para peces incluyen una considerable proporción de ingredientes vegetales, lo que puede ser una complicación para los peces carnívoros. En particular algunos ingredientes como la harina de soya pueden generar alteraciones a nivel de la mucosa intestinal, cuya génesis se asocia a algunos factores antinutricionales de este ingrediente. Por esta razón desarrollamos un proceso en base a fermentación en estado sólido, para reducir y eliminar algunos de estos factores, de modo de generar un ingrediente más inocuo (FSBM). La inclusión de este ingrediente en las dietas generó interesantes resultados, ya que alimentar con FSBM al salmón del Atlántico puede (1) aumentar la fisiología de la salud y crecimiento en peces promoviendo el crecimiento de bacterias lácticas intestinales, teniendo un efecto prebiótico, (2) promover la salud del intestino proximal aumentando la producción de mucina, y (3) aumentar la absorción transcelular intestinal de agua. Dado que la fermentación agota los azúcares fácilmente disponibles, el efecto prebiótico de FSBM puede deberse a la generación de azúcares derivados de pared vegetal (Catalán 2018). Lo más interesante es el efecto de aumentar la carga de bacterias frecuentemente asignadas a beneficios para el hospedero como *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Pediococcus* (Figura 4).

Se requiere más investigación para comprender mejor los efectos de los compuestos bioactivos derivados del proceso de fermentación de los alimentos vegetales sobre la microbiota intestinal y los efectos sobre la salud y el crecimiento de los peces.

En paralelo el grupo ha realizado estudios ensayando el potencial probiótico de diversas cepas bacterianas y de levaduras. En este contexto destaca el trabajo del estudio de la levadura *Debaryomyces hansenii* y su inclusión en rotíferos que se emplearon como la dieta de larvas de pez cebra (Opazo 2017). El trabajo en este modelo permitió sustentar el uso de esta levadura en rotíferos y

deberán explorarse las potencialidades de esta estrategia en animales de producción que requieran dieta viva.

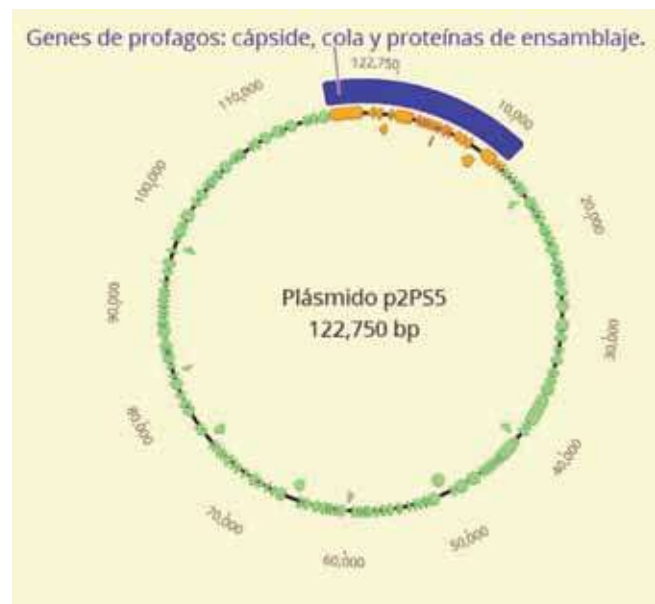
## 3. Fagoterapia: contribución a la gestión sanitaria sin antibióticos

La gestión sanitaria pública y privada en la acuicultura, es un tema estratégico para aumentar la competitividad de la acuicultura chilena. Actualmente, se considera a la Piscirickettsiosis como la enfermedad bacteriana más importante que afecta al cultivo de salmónidos en agua de mar en Chile, lo que constituye en una seria amenaza para la sustentabilidad de esta industria. Una externalidad negativa es el uso intensivo de antibióticos para controlar esta patología y la creciente presión de los consumidores para buscar una reducción en el uso de fármacos. Una de las opciones más promisorias es la aplicación de fagoterapia. La fagoterapia consiste en emplear fagos específicos para el control de infecciones bacterianas. Recientemente, los investigadores del Laboratorio de Biotecnología de Alimentos de INTA, se adjudicaron un nuevo fondo para generar las bases del desarrollo e implementación de un tratamiento por fagoterapia para el control de *Piscirickettsia salmonis*.

Los bacteriófagos (fagos) son virus que infectan exclusivamente bacterias y, por lo tanto, son inofensivos para las células del hospedero eucarionte (peces, humanos, plantas). Se estima que los bacteriófagos son la entidad biológica más abundante del planeta, por ejemplo, se pueden encontrar en ambientes acuáticos,  $10^5$  fagos por ml. Dentro de esta abundancia hay también una gran diversidad. Existen bacteriófagos líticos que luego de penetrar una bacteria patógena/objetivo, son capaces de replicarse en su interior y destruirla a través de lisis. Esto permite liberar una nueva



Figura 5. Representación del plásmido p2PS5 que muestra genes de fago en *P. salmonis*.





progenie de fagos, constituida por cientos o miles de partículas virales que infectarán más bacterias patógenas/objetivo repitiendo el ciclo lítico, lo que permite el uso de estos virus en aplicaciones biotecnológicas para tratamientos profilácticos y terapéuticos de peces, moluscos y en otras áreas productivas. De esta forma y dada su gran capacidad bactericida, los bacteriófagos o fagos surgen como una atractiva estrategia de control de *P. salmonis*.

A pesar de que hasta la fecha no se han descrito fagos contra *P. salmonis*, un análisis detallado de los genomas disponibles muestra que en ellos es posible encontrar diversos elementos asociados a genes de fagos incluso a evidencias de la existencia de profagos. Además, algunos de éstos se encuentran en elementos genéticos móviles como plásmidos. En la Figura 5 se muestra un esquema del plásmido p2PS5. Este plásmido fue identificado en la cepa PM51819A de *P. salmonis*, aislada desde *Salmo salar* cultivado en Chile. En la secuencia de este plásmido se identificó una región de aproximadamente 18kb (en azul) que concentra genes que codifican para proteínas características de fagos (en naranja), entre ellas, algunas proteínas estructurales como las que conforman la cápside y la cola de los fagos, además de proteínas de ensamblaje, necesarias para la formación de los mismos.

La fagoterapia constituye una alternativa prometedora contra *P. salmonis*, considerando el rol intracelular de esta especie patogénica y la presencia de elementos de fagos en sus elementos genéticos. También es muy importante hacer notar que el uso de bacteriófagos para el control de esta patología permitiría la aplicación de componentes naturales que no signifiquen un riesgo en salud humana, como tampoco un impacto ambiental negativo en el medio acuático donde se realice esta actividad productiva, no afectando la flora y fauna asociada al cultivo, como tampoco produciendo un efecto de letéreo sobre la microbiota presente en estos sistemas.

#### 4. Otros desarrollos recientes en temas de interés.

**Calígs.** En salmicultura, son dos principalmente las enfermedades más incidentes en la estructura de costos de la industria. Por un lado, está el piojo de mar y, por otro, *P. salmonis*. Esto motiva los esfuerzos para desarrollar innovaciones biotecnológicas aplicadas al campo de la acuicultura con el objetivo de crear alternativas terapéuticas a los patógenos/parásitos que afectan a la industria. En este contexto, el uso de la tecnología de RNA de interferencia (RNAi), emerge como una alternativa terapéutica prometedora. Los RNAi constituyen un sistema de regulación de la expresión génica celular, silenciando (bloqueando) el proceso de síntesis proteica, principio denominado “gene silencing” o silenciamiento génico. Actualmente, el grupo del Laboratorio de Biotecnología de INTA está involucrado en un proyecto de I+D para explorar la aplicación de esta tecnología sobre el piojo de mar (Fondef Idea 2 etapas).

#### *Renibacterium salmoninarum* - BKD.

La enfermedad renal bacteriana (BKD) causa un alto nivel de mortalidad y morbilidad en la acuicultura de salmónidos en todo

el mundo. El agente causante de BKD, *Renibacterium salmoninarum*, tiene una tasa de mutación lenta y un genoma altamente conservado, lo que limita el poder discriminatorio de las técnicas de tipificación convencionales, como la secuencia de múltiples locus (MLST) y la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). La secuenciación del genoma completo (WGS) permite que casi todas las variaciones genómicas se utilicen para el trazado molecular y la reconstrucción filogenética. Esta técnica se ha aplicado con éxito a la epidemiología a escala fina de patógenos humanos. Por primera vez, se aplicó WGS a una colección de aislamientos de *R. salmoninarum* de Chile para colocar los aislados chilenos dentro del contexto de una colección global de aislados. Los resultados apuntan a múltiples presentaciones de BKD en Chile, a partir de fuentes globales en un período de 30 años, seguidas de una rápida distribución dentro de Chile (Bayliss 2018). Este estudio proporciona más información para construir una base para el desarrollo de estrategias de manejo de enfermedades.

#### Referencias

Salas-Leiva J, Opazo R., Remond C., Uribe, E., Velez, A., Romero, J. (2017) Characterization of the intestinal microbiota of wild-caught and farmed fine flounder (*Paralichthys adspersus*). Latin Am J Aquat Res: 45, 370-378

Ramírez C., & Romero J. (2017). Fine Flounder (*Paralichthys adspersus*) microbiome showed important differences between wild and reared specimens. *Frontiers in Microbiology*, 8, 271.

Ramírez C., & Romero J. (2017). The microbiome of *Seriola lalandi* of wild and aquaculture origin reveals differences in composition and potential function. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1844,.

Gainza, Oreste; Ramirez, Carolina; Salinas Ramos, Alfredo; Jaime Romero. (2018) Intestinal Microbiota of White Shrimp *Penaeus vannamei* Under Intensive Cultivation Conditions in Ecuador. *Microbial Ecology* 75, 562-568.

Catalán N., Villasante A., Wacyk J., Ramirez C., Romero J. (2018) Fermented Soybean Meal Increases Lactic Acid Bacteria in Gut Microbiota of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10, 566-576.

Opazo R, Fuenzalida K, Plaza F, Romero J. (2017) Performance of *Debaryomyces hansenii* as a diet for rotifers for feeding zebrafish larvae. *Zebrafish*: 14, 187-194 .

Bayliss S., Verner-Jeffreys D., Ryder D., Suarez R., Ramirez R., Romero J., Pascoe B. Sheppard S.K., Godoy M., Feil E.J. (2018) Genomic epidemiology of the commercially important pathogen *Renibacterium salmoninarum* within the Chilean salmon industry. *Microbial Genomics*. 2018.4 doi: 10.1099/mgen.0.000201.

EQUIPO DE TRABAJO	
Académicos	PostDocs
Jaime Romero	Alejandro Villasante
Rafael Opazo	Pamela Cordova
Gastón Higuera	Elías Figueroa



## Apoyo en la lucha contra la caligidosis

Con un mejoramiento continuo y que se adapta a cada cliente en particular, según sus procedimientos e infraestructuras.



### PRODUCTOS

Faldones para baño de caligus

Lona cerrada para baño de caligus

Toldos y cubre alimentos

Ropa de Agua

Telas Industriales

Redes de Cultivo



### CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES

- Resistencia a la tracción y al desgarro.
- Estructuraciones resistentes para cada cliente en particular.
- Herméticamente desarrolladas.
- Peso ideal para un fácil manejo.
- Flotabilidad Neutra muy fácil de operar.
- Sistemas de lastre de acuerdo a las características de cada centro.
- Velocidad de entrega.
- Servicios de reparaciones.
- Servicios de modificaciones de tamaño.
- Porta BioLonas.
- Durabilidad garantizada mínima un ciclo de cultivo.
- Para cultivos de agua mar y dulce.

Celular: +56 9 99696122

Contacto: EdoTrujillo@biolona.cl

www.biolonas.cl



**PLASTICOS AUSTRAL SPA.**



## NUESTROS PRODUCTOS

*Bolsas net-bag para redes*  
*Insumos para selladoras*  
*Cintas de canalización*  
*Mangas polietileno e*  
*Invernadero*  
*Rollos prepicado*  
*Mallas raschel*  
*Bolsas basura*  
*Malla faenera*  
*Bolsas vacio*  
*Bolsas bins*  
*Fundas - Laminas*



652286420 652286416  
 +569 5411 9904



PCOTAPOS@PLASTICOSAUSTRAL.CL  
 MCARDENAS@PLASTICOSAUSTRAL.CL

**PARCELA 22 ALTO LA PALOMA - PUERTO MONTT**

# Producción de biofilm en bacterias y su relación con enfermedades de peces



Universidad Austral de Chile  
Conocimiento y Naturaleza



Alex Romero<sup>a,c,\*</sup>, Natacha Santibáñez<sup>a,c</sup>, Frank Vera<sup>a,c</sup>, Rodrigo Vargas<sup>a,c</sup>, Matias Vega<sup>a</sup>, Alejandro Yáñez<sup>b,c</sup>, Juan Guillermo Cárcamo<sup>b,c</sup>, Ricardo Enríquez<sup>a</sup>, Roxana González-Stegmaier<sup>a,b,c</sup>, Christian Oliver<sup>a,c</sup>, Tatiana Pérez<sup>a,c</sup>, Jaime Figueroa<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

<sup>b</sup>Instituto de Bioquímica y Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile

<sup>c</sup>Centro FONDAPE: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR), Chile

\*alexromero@uach.cl

## Definición de biofilm

En la actualidad, los biofilms han sido definidos como estructuras dinámicas y complejas de microorganismos, constituidos por altas densidades de células (entre  $10^8$  a  $10^{11}$  células por  $g^{-1}$  peso húmedo) embebidas en una matriz autogenerada de sustancias poliméricas extracelulares (Extracellular Polymeric Substances, EPS), con capacidad adherente entre ellas y/o a una superficie determinada (Flemming et al., 2016; Houry et al., 2012). En estas estructuras biológicas altamente hidratadas (97-98% de agua), la composición de los EPS es variable, dependiendo del ecosistema del biofilm, pero típicamente presentan una mezcla de polisacáridos (en su mayor parte), proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, lo que refuerza la matriz y le confiere propiedades visco-elásticas (Flemming and Wingender, 2010; Houry et al., 2012).

## Producción de biofilm

La formación de biofilm es un proceso altamente complejo en el que se reconocen distintas etapas: se inicia con la adhesión reversible de las bacterias planctónicas a una superficie, cambiando posteriormente a unión irreversible donde las bacterias comienzan a formar microcolonias en la matriz de EPS. Progresivamente, las colonias se van expandiendo, formando un fenotipo con las primeras estructuras tridimensionales y algunos espacios no colonizados entre ellas, luego estos espacios invadidos cubren toda la superficie y las estructuras tridimensionales crecen. Finalmente, las bacterias son dispersadas desde la forma sésil reentrando a la forma planctónica para difundir y colonizar nuevas superficies (Figura 1). Este evento puede ocurrir en todo el biofilm o sólo en una parte, y se origina en respuesta a un sinnúmero de factores como; falta de nutrientes, competencia, fluctuaciones de oxígeno y fierro, sobrepoblación, etc., promoviendo la iniciación de nuevos biofilms en otros sitios (Rasamiravaka et al., 2015; Kim and Lee, 2016; Kostakioti et al., 2013; Marshall et al., 2012; Rabin et al., 2015). Debido al arreglo físico y espacial de la matriz, ésta puede actuar como un “escudo protector”

contra la difusión y la acción de antimicrobianos dificultando el acceso de las drogas bactericidas, restringiendo su modo de acción sólo a la superficie (Epstein et al., 2011). La resistencia a antimicrobianos estaría mediada por variados mecanismos en el biofilm y que pueden actuar en forma conjunta como por ejemplo; baja penetración o inactivación de antimicrobianos en la matriz, un estado metabólico bacteriano alterado, la formación de células persistentes y la resistencia inducida por concentraciones sub-letales del antimicrobiano dentro del biofilm (Tote et al., 2010). Estas características, le otorgan al biofilm una participación importante en las capacidades patogénicas de las bacterias en infecciones crónicas, favoreciendo la persistencia en el hospedero y el desarrollo de la enfermedad (Isiaku et al., 2017; Thuptimjang et al., 2015).

## Bacterias de ambientes acuáticos productoras de biofilm

En acuicultivos los agentes bacterianos pueden adherirse y formar biofilms en las superficies de las cañerías de agua, estanques, bateas de incubación, componentes de los equipos de recirculación y sistemas de bio-filtración, e incluso en las superficies internas o externas de los peces, causando exposiciones recurrentes a infecciones y consecuentemente peces portadores asintomáticos (Albornoz et al., 2017; King et al., 2004). En este sentido, Cai y Arias (2017), señalan que materiales como PVC, redes y otros usados en la salmonicultura, son colonizados por bacterias formadoras de biofilm, tales como: *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas hydrophila* y *Edwardsiella* spp. En conclusión, sus resultados demuestran que estos sustratos podrían constituir un reservorio para estos patógenos en centros de cultivo. Por lo tanto, los biofilms bacterianos no sólo proporcionarían resistencia a antibacterianos y biocidas, también constituirían una reserva importante de patógenos que persistirían por un largo tiempo en los ambientes acuáticos de cultivo (Wingender and Flemming, 2011). Algunos ejemplos de patógenos de peces productores de biofilm incluyen: *Francisella* spp, *Vibrio cholerae*, *Pseudomo*

*nas aeruginosa*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Piscirickettsia salmonis* (Albornoz et al., 2017; Levipan and Avendano-Herrera, 2017; Marshall et al., 2012; Twomey et al., 2012). Para efectos de esta nota, hemos considerado relevante enfocarnos en las características de la producción de biofilm de la bacteria más importante que afecta a peces en agua de mar, asociado al cultivo de salmónidos en Chile, *Piscirickettsia salmonis*.

## Biofilm y *Piscirickettsia salmonis*

Inicialmente, Marshall y col., (2012), describen en un trabajo pionero, el desarrollo de biofilm en *P. salmonis*, mostrando por primera vez que esta bacteria expuesta a condiciones de estrés, produce grandes agregados bacterianos que se asemejan a formas típicas de biofilm, lo que sugirió la posibilidad de que este patógeno pueda usar esta forma de crecimiento para sobrevivir en ambientes marinos, o simplemente como un factor de virulencia. Además, otros estudios, relacionados a la formación de biofilms por bacterias marinas, han sugerido que la matriz de EPS puede acumularse en forma de capsula, aumentando su poder patogénico e inhibiendo el sistema inmune por su capacidad de mimetizarse con las células de su hospedero (Manivasagan y Kim, 2014). Datos recientes señalan que existen genes involucrados en la producción de polisacáridos relacionadas a la producción de biofilm y cápsula, evidencia obtenida por la comparación *in silico* de los genogrupos LF y EM de *P. salmonis* (Nourdin-Galindo y col, 2017). A su vez, Albornoz y col., (2017), describen la relación de la expresión de genes del operón cheYZA asociados a la quimiotaxis de *P. salmonis*, con la producción de biofilm en dos aislados de la bacteria. Otra evidencia de que *P. salmonis* sería capaz de formar biofilm, lo constituye el trabajo de Eppinger y col., (2013), quienes lograron determinar la presencia de genes pili tipo IV en el genoma de *P. salmonis*, casi idénticos a los descritos en *V. cholerae*, lo cual puede estar relacionado con la formación de estructuras tipo panal entre bacterias, observadas por Larenas y col., (2003) y a las que denominó: complejo de anclaje piscirickettsial (PAC). En su conjunto, estos hallazgos en *P. salmonis*, indicarían la expresión de factores de virulencia involucrados en mecanismos para la formación de comunidades microbianas embebidas en biofilm. Actualmente, estudios derivados del proyecto Fondecyt 1171357 desarrollado en la UACH, han demostrado que la cepa LF-89 de *P. salmonis* es capaz de producir biofilm en superficie de poliestireno en la mayoría de las condiciones estudiadas, destacando como las que inducen mayor producción de biofilm las altas concentraciones de NaCl de 24,6 y 32,1 g/L (Figura 2). Paralelamente el análisis bioinformático del genoma de 19 aislados de *P. salmonis* develó la presencia de grupos de genes relacionados con la formación de biofilm y microcolonias, adhesión, quorum sensing y síntesis de polisacáridos (Tabla 1), todos relevantes en el cambio de vida planctónica a sésil. Adicionalmente,

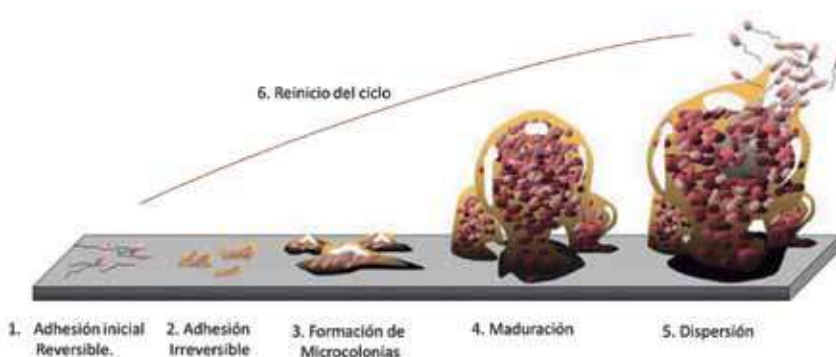


Figura 1. Formación de biofilm en bacterias (tomado y modificado desde Stratul et al., 2008).

se continuarán realizando nuevas aproximaciones para analizar la formación biofilm por parte de *P. salmonis* en el marco de la interacción patógeno-hospedero, lo que permitirá obtener mayor comprensión de los mecanismos patogénicos que la bacteria utiliza en su hábitat natural y conocer, tanto la respuesta inmune como la respuesta a estrés en modelos *in vitro* (líneas celulares) y modelos *in vivo* (salmón Atlántico y trucha arcoíris).

## Conclusiones

La formación de biofilm por parte de algunos agentes bacterianos, se transforma en una estrategia no sólo de persistencia en el medio ambiente, sino que además de resistencia antibiótica y de virulencia en algunos casos.

En sistemas acuáticos, los biofilms se convierten en un mecanismo de supervivencia y persistencia de bacterias en el ambiente, y pudieran contribuir a aumentar la patogenicidad y virulencia bacteriana.

Nuestros estudios sugieren que *P. salmonis* posee la capacidad para formar biofilm. Lo anterior se ve respaldado según análisis *in silico*, revelando la existencia de genes relacionados con la formación de biofilm para diferentes cepas, y estudios *in vitro*, donde la cepa LF-89 produjo biofilm como respuesta a diferentes condiciones de cultivo estudiadas, sobretodo cambios en la salinidad del medio.

Fondecyt 1171357; Fondap 15110027.

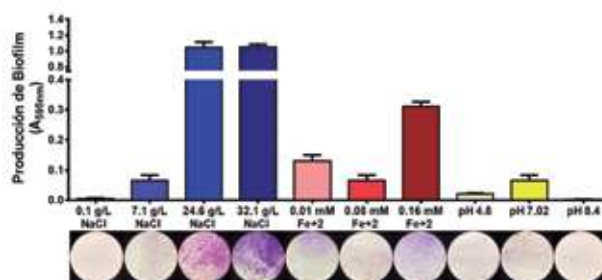


Figura 2. Producción de biofilm por *P. salmonis*. La cepa LF-89 de *P. salmonis* fue crecida en medio con diferentes condiciones de NaCl (0,1; 7,1; 24,6 y 32,1 g/L), citrato Férrico (0,01; 0,08 y 0,16 mM) o pH (4,8; 7,02 y 8,4) en placa de 96 pocillos a 18°C por 8 días. Se cuantificó la producción de biofilm mediante el método de Cristal Violeta

en quintuplicado, bajo el eje x se muestran fotografías representativas para cada condición con un aumento de 200X.

Tabla 1. Identificación de genes asociados a biofilm analizados in silico, en aislados de *P. salmonis*.

Función relacionada a Biofilm	Número de genes <i>P. salmonis</i>	Presencia en aislados de <i>P. salmonis</i>
Quimiotaxis	3	2
Formación de Biofilm	8	19
Formación de Microcolonia	2	19
Adhesión	2	19
Quorum sensing	5	19
Síntesis de Polisacáridos	7	19

## Referencias

**Albornoz R et al (2017)** Identification of chemotaxis operon cheYZA and cheA gene expression under stressful conditions in *Piscirickettsia salmonis*. *Microb Pathog* 107, 436-441.

**Cai W & Arias CR (2017)**. Biofilm formation on aquaculture substrates by selected bacterial fish pathogens. *Journal of aquatic animal health*, 29(2), 95-104.

**Eppinger M et al (2013)** Draft Genome Sequence of the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *Genome Announc*. Nov-Dec; 1(6): e00926-13.

**Epstein AK et al (2011)** Bacterial biofilm shows persistent resistance to liquid wetting and gas penetration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 995-1000.

**Flemming HC y Wingender J (2010)** The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8, 623-633.

**Flemming HC et al (2016)** Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol* 14, 563-575.

**Houry A et al (2012)** Bacterial swimmers that infiltrate and take over the biofilm matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 13088-13093.

**Isiaku AI et al (2017)** Biofilm is associated with chronic streptococcal meningoenzephalitis in fish. *Microb Pathog* 102, 59-68.

**Kim SK y Lee JH (2016)** Biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Microbiol* 54, 71-85.

**King RK et al (2004)** Identification of Bacterial Pathogens in Biofilms

of Recirculating Aquaculture Systems. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 13, 125-133.

**Kostakioti M et al (2013)** Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *Csh Perspect Med* 3.

**Larenas JJ et al (2003)** Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and in vitro study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. *Diseases of Aquatic Organisms* 56, 25-30.

**Levipan HA y Avendano-Herrera R (2017)** Different Phenotypes of Mature Biofilm in *Flavobacterium psychrophilum* Share a Potential for Virulence That Differs from Planktonic State. *Front Cell Infect Microbiol* 7, 76.

**Manivasagan P y Kim S (2014)** Chapter Five - Extracellular Polysaccharides Produced by Marine Bacteria. *Advances in Food and Nutrition Research*. Volume 72. Pages 79-94

**Marshall SH et al (2012)** Biofilm generation by *Piscirickettsia salmonis* under growth stress conditions: a putative in vivo survival/persistence strategy in marine environments. *Res Microbiol* 163, 557-566.

**Nourdin-Galindo G et al (2017)** Pan -Genome analysis of *Piscirickettsia salmonis* reveals genomic divergences within genogroups. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* (in -press).

**Rabin N et al (2015)** Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem* 7, 493-512.

**Rasamiravaka T et al (2015)** The Formation of Biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: A Review of the Natural and Synthetic Compounds Interfering with Control Mechanisms. *Biomed Res Int*. 2015: 759348.

**Stratul S et al (2008)** On the molecular basis of biofilm formation. *Oral biofilms and systemic infections*. *TMJ*, 58, 118-123.

**Thuptimdang P et al (2015)** Effect of silver nanoparticles on *Pseudomonas putida* biofilms at different stages of maturity. *J Hazard Mater* 290, 127-133.

**Tote K et al (2010)** Inhibitory effect of biocides on the viable masses and matrices of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol* 76, 3135-3142.

**Twomey KB et al (2012)** Bacterial cis-2-unsaturated fatty acids found in the cystic fibrosis airway modulate virulence and persistence of *Pseudomonas aeruginosa*. *ISME J* 6, 939-950.

**Wingender J y Flemming HC (2011)** Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *Int J Hyg Environ Health* 214, 417-423.





Universidad Austral de Chile  
Escuela de Graduados - Sede Puerto Montt

Doctorado en Ciencias  
de la Acuicultura

Programa  
**ACREDITADO**



**3 años**

Hasta noviembre 2021

*Ve más allá*

**DOCTORADO**

en Ciencias de la Acuicultura

- REPRODUCCIÓN, DESARROLLO Y CRECIMIENTO DE RECURSOS ACUÍCOLAS
- NUTRICIÓN ACUÍCOLA
- SUSTENTABILIDAD Y MANEJO DE RECURSOS MARINOS
- SANIDAD Y PRODUCCIÓN ANIMAL
- BIOLOGÍA MOLECULAR ACUÍCOLA
- GENÉTICA ACUÍCOLA



**G9**

UNIVERSIDADES  
PÚBLICAS  
NO ESTATALES



**CONTACTO**

marcelaastorga@uach.cl / egpm@uach.cl  
+56 65 227 7122 / +56 65 227 7142  
[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)



**Dr. Mauricio Pineda**  
correo@postgrado.uach.cl



**DOCTORADO**  
en Ciencias de la Acuicultura

*“El desarrollo del Doctorado en Acuicultura me permitió tener una visión más amplia y actualizada de todo el ámbito científico relacionado con la acuicultura. Para mí actualmente ha constituido una herramienta fundamental en mi desarrollo profesional permitiéndome el impulso de nuevos desafíos científicos y productivos en la institución en donde trabajo ”*

[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)

BASES BIOLÓGICAS PARA EL CULTIVO LARVARIO EN HATCHERY DEL CIRREPEDIO GIGANTE  
*Austromegabalanus psittacus* (Molina, 1782)

Los efectos del tipo, concentración de alimento, temperatura y salinidad sobre la duración, sobrevivencia y metabolismo de los estados larvales de *Austromegabalanus psittacus* y su influencia en la energía de las Cypris y juveniles recién metamorfoseados fueron examinados. Se utilizaron tres tipos de alimento: *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* y una mezcla de ambas microalgas en proporción 1:1 y tres concentraciones  $2 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$  y  $6 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Las temperaturas utilizadas fueron 9, 12, 15, 18 y 21 °C y salinidad de 20, 24, 28 y 32 PSU. El desarrollo más prologado fue en Mix- $2 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (16,7 días) y el menor en Mix- $4 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (14,04 días). Con *I. galbana* el desarrollo naupliar no se completó, muriendo el 100% de las larvas en Nauplius V. El contenido energético proporcionado por lípidos y proteínas a las Cypris fue afectado significativamente por la dieta, concentración y la interacción de ambos factores. El

menor  $K_2$  se registró en la más baja de las concentraciones de alimento Mix- $2 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (6,01%) y con la dieta *C. gracilis* se observaron los mejores  $K_2$  (22, 92–28,25%). A temperaturas entre 9 y 21 °C en conjunto con salinidades de 28 y 32 PSU se completó el desarrollo larval. A 20 y 24 PSU el 100 % de las Cypris murieron. El desarrollo más prologado se obtuvo a 9 °C/32 PSU (33,57) y el menor en 21 °C/24 PSU (8,50 días). En 15 y 18 °C con salinidades de 28 y 32 PSU se obtuvo la menor mortalidad acumulada, mayor contenido de lípidos y proteínas en consecuencia un mayor contenido energético, mayores niveles de producción (*P*) y mejor eficiencia neta de crecimiento ( $K_2$ ). Los resultados muestran que la dieta, temperatura y salinidad tienen una importante influencia sobre el desarrollo larval, sobrevivencia y acumulación de energía en *A. psittacus*.



**Dr. J. Max Blanc**  
jblanc@uach.cl



**DOCTORADO**  
en Ciencias de la Acuicultura

*“Este doctorado es importante por que me hace feliz. Por que cierra un ciclo de aquellos que se anidaron en la infancia, entender el océano y las criaturas que lo habitan, un océano que lo viví intensamente en el puerto de Lebu, Provincia de Arauco –en aquel entonces-. Tenía una deuda conmigo y otra con el. Cada vez que lo estudio y lo entiendo mas globalmente -equilibrios y meta equilibrios- me comprometo más por que me doy cuenta de lo vital y tremendamente vulnerable que es. Entonces... estoy cumpliendo una promesa que solo la puedo resolver trabajando, viviéndolo con muy alto valor de compensación. ”*

[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)

CADMIO EN SESTON Y FRACCIÓN DE ENRIQUECIMIENTO [*CdM.chilensis*] / [*CdSeston*] EN EL MAR INTERIOR DE CHILOÉ

La industria mitilícola Chilena representa una actividad relevante para la economía y el desarrollo nacional, eminentemente exportadora es sometida a regulaciones internacionales que cautelan preferentemente los aspectos de inocuidad alimentaria. La presencia de metal cadmio—dependiendo de su concentración— provoca rechazos en productos de exportación, dilatación de cosechas, incertidumbre comercial y riesgos en la industria. No existe relación que permita

reconocer y cuantificar adecuadamente las vías tróficas que expliquen enriquecimiento de Cd en *Mytilus chilensis*. Logrado resolver la restricción señalada, es posible hacer pronósticos asertivos en cuanto a reconocer los sustratos que transportan este metal, los ecosistemas marinos (canales, bahías, fiordos) y estaciones del año con características de susceptibilidad de transferir Cd a biofiltros. El objetivo general fue estudiar la relación [Cd] en seston y en *Mytilus*



*chilensis* para explicar el enriquecimiento (transferencia) en cultivos de choritos. Este objetivo se abordó en cuatro capítulos relacionados. El **Primer capítulo** describe una metodología de muestreo en *M. chilensis* que asegura una variabilidad de la [Cd] leída y que permite observar las relaciones y tendencias espacio/temporales de las transferencias de cadmio que incluye el análisis de tejidos blandos, contenido en hepatopáncreas y valvas. El **Segundo capítulo** describe la transferencia de cadmio a valvas de *M. chilensis*, en los ecosistemas señalados y estaciones del año, lo que dice relación con la disposición final de dichos subproductos y el efecto que provocarían en los fondos de bancos naturales. El **Tercer capítulo** describe las relaciones de transferencia de cadmio en los ecosistemas estudiados considerando las condiciones espaciales para los tres ecosistemas típicos. El **Cuarto capítulo** describe el comportamiento de [Cd] en cuatro estaciones sucesivas para los tres ecosistemas seleccionados. Los resultados muestran que existe la posibilidad de bajar la variabilidad de los resultados lecturas de [Cd] en *M.*

*chilensis* de forma poder observar las tendencias en el orden de décimas de mg Cd kg<sup>-1</sup> sustrato seco. La [Cd] en valvas es suficientemente baja para disponer de esos subproductos en aplicación agrícola y sugerir que no existe acumulación de Cd en bancos naturales con valvas de individuos muertos. Existe correlación interesante entre [Cd] de valvas y tejidos blandos. Canales y bahías marinas no tienen diferencia significativa en sus relaciones de transferencia de cadmio, y si fiordos. Seston nocturno (contiene micro zoo) logra tener una correlación positiva y significativa como elemento de transferencia del metal hacia *M. chilensis*. La transferencia de este metal es estacional y distinta dependiendo del tipo de tejido que se trata. Existe una modulación significativa en primavera y no así en época de verano avanzado. En otoño e invierno la [Cd] en contenido de hepatopáncreas incrementa y en tejidos blandos disminuye, para los tres ecosistemas. Además, la profundidad puede tener efecto incremental de [Cd] en cuanto la zona de cultivo sea más somera.



Dr. Hugo Silva  
hugosilva.oliva@gmail.com



**DOCTORADO**  
en Ciencias de la Acuicultura

*“El programa ha sido una gran oportunidad para mejorar y enfrentar mis debilidades. En conjunto con sus académicos nos han impulsado a nuevos niveles de interacción que han permitido ser parte de la responsabilidad de las mejoras que nuestro país y comunidad científica necesitan hoy, sin perder un enfoque sustentable y de diversificación. Esto último, debería aplicarse a cada área de desarrollo que uno debe enfrentar y que en mi caso está asociada a biotecnología.”*

[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)

#### ESTUDIOS DE PROTECCIÓN EN *Salmo salar* CONTRA *Piscirickettsia salmonis* POR IgY anti-P. SALMONIS ADMINISTRADA ORALMENTE

*Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*) es una bacteria descrita como la causante del “síndrome rickettsial salmónido” (SRS). La incidencia de SRS, actualmente no ha disminuido, lo que representa grandes pérdidas económicas, US \$ 500 millones y US \$ 700 millones, para la industria del salmón (AQUA, agosto de 2015). SRS, generó 79% de todas las mortalidades en *Salmo salar* (Sernapesca, octubre de 2016). Para reducir impacto de SRS, la industria chilena ha incorporado mejor gestión, vacunación y uso de antibióticos. Este proyecto realizó un tratamiento alternativo con inmunidad pasiva, la cual, usa la inclusión de anticuerpos preformados (IgY, generados en gallina) contra SRS, en lugar de intentar inducir anticuerpos en peces (IgM) mediante la estimulación con antígenos del patógeno. Esta estrategia, se aplica en etapas de producción animal donde no es posible usar antibióticos, por razones de seguridad alimentaria. La terapia de inmunidad pasiva se ha utilizado con éxito en la terapia biomédica, diag-

nóstica y profiláctica de enfermedades (Michael et al., 2010), así como contra patógenos acuáticos (Lee et al., 2000). El proyecto generó las siguientes innovaciones: (i) La producción de un antígeno de *P. salmonis* y un IgY anti-*P. salmonis* para conferir inmunidad pasiva contra el patógeno, el cual, es estable y seguro en los ecosistemas acuáticos y en la salud pública. (ii) Optimización de administración oral usando diversas tecnologías, mediante el desarrollo y la mejora de la tecnología de microencapsulación de anticuerpos. (iii) Inclusión de micropartículas cargadas con IgY anti-*P. Salmonis*, en alimento de salmónidos, lo que permite una alternativa de tratamiento (inmunidad pasiva) de los peces contra SRS, y así mismo, la administración oral, reduce los problemas asociados con la manipulación de peces y sus riesgos asociados. (iv) Esta biotecnología es homologable para el tratamiento y/o profilaxis de otros patógenos.



**CONTACTO**  
+ 56 65 2277142  
marcelaastorga@uach.cl  
[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)



Universidad Austral de Chile  
Escuela de Graduados - Sede Puerto Montt

# Anticuerpos que ayudan entender la inmunidad de los peces salmónidos y prometen ser herramientas para la mejora de vacunas



**Dra. Mónica Imarai**

Laboratorio de Inmunología, Centro de Biotecnología Acuícola.  
Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología  
Universidad de Santiago de Chile  
Email: monica.imarai@usach.cl



Chile y el Reino Unido están entre los principales productores de salmónidos de la acuicultura y son el 2° y 3° mayor productor de salmón del Atlántico en el mundo. A pesar del éxito productivo de esta industria, las enfermedades de los peces han tenido y siguen teniendo un gran impacto negativo en la producción. Por ejemplo, los brotes de anemia infecciosa del salmón en Chile redujeron dramáticamente la producción en la década pasada y la enfermedad bacteriana de la furunculosis casi paralizaron la industria salmonera del Reino Unido a fines de los 80's. Esta última enfermedad infecciosa fue controlada por el desarrollo de una vacuna altamente efectiva, que además de prevenir la mortalidad de peces, tuvo el beneficio ambiental adicional de reducir el uso de antibióticos en más de un 99% en la última década. Desde entonces, se han desarrollado vacunas eficaces, principalmente contra enfermedades bacterianas y vacunas antivirales de eficacia variable. En términos de las formulaciones, las vacunas que han producido inmunidad protectora se han desarrollado empíricamente, sin la debida consideración de los mecanismos implicados. La falta de conocimiento de los mecanismos inmunes que operan cuando se tiene una vacuna eficaz o que permite la exitosa recuperación de los peces después de una enfermedad infecciosa, limita el desarrollo tecnológico en el caso de enfermedades en las que existen vacunas poco eficaces, limita la velocidad a la que se pueden desarrollar nuevas vacunas para enfermedades emergentes y afecta las cuestiones éticas que rodean la necesidad de pruebas con patógenos en todas las etapas del desarrollo de vacunas de peces.

Con la secuenciación de los genomas de la trucha arco iris y del salmón del Atlántico, sabemos más que nunca sobre los genes que existen en estas especies de peces y sobre los llamados genes parálogos presentes debido a los eventos de duplicación del genoma (WGD). Los múltiples parálogos complican los estudios de la función genética, debido al potencial de sub y neofuncionalización de dichos genes, y por la necesidad de producir múltiples proteínas recombinantes para estudiar la bioactividad



de proteínas. En el contexto de los genes inmunes, existen pares de genes que están comúnmente presentes, como se ve para la interleuquina 4/13 (IL-4/13) de salmónidos, donde la IL4/13A, IL-4/13B1 y IL4/13B2 son probablemente el resultado de estos eventos duplicación [1].

Si bien el conocimiento del sistema inmune de los mamíferos es muy extenso e informativo, y sirve de guía de estudios en otros vertebrados, existen muchos aspectos únicos dentro de cada grupo de vertebrados, como los peces, que hacen necesario avanzar en el conocimiento de los mecanismos de inmunidad en cada especie de interés. De hecho, un aspecto muy interesante de estudiar es la inmunidad adaptativa, aquella que es responsable de los deseados efectos de una vacuna, y que se originó hace casi 500 millones de años justamente en los peces con mandíbula. Las particularidades de la inmunidad adaptativa en los peces se ve por ejemplo en los tipos de anticuerpos de los teleosteos como los salmónidos, donde se han descrito 3 isotipos (IgM, IgT e IgD) en lugar de 5 que tienen los mamíferos; o en las citoquinas, donde existe una gran variedad de genes que codifican múltiples isoformas lo que no ocurre en especies de vertebrados superiores. Las células claves de la inmunidad adaptativa son los clásicos linfocitos T y B en todos los vertebrados con mandíbula,

siendo los linfocitos B aquellos responsables de la producción y secreción de anticuerpos. Mucho menos se sabe de los linfocitos T aunque son células claves de la respuesta inmune adaptativa.

En los peces, los linfocitos T han sido difíciles de identificar, aislar y caracterizar por la falta de anticuerpos que son una herramienta fundamental para la investigación en este campo. En los mamíferos en cambio, con estudios de más de ocho décadas, se sabe que los linfocitos T tienen una extraordinaria función reguladora y efectora en la inmunidad siendo responsables del reconocimiento de microorganismos patógenos (virus y bacterias) y, directa o indirectamente, responsables de su eliminación. Tras la interacción de complejo TCR-CD3 con un antígeno viral o bacteriano, los linfocitos T cooperadores también conocidos como linfocitos T CD4+ se diferencian a una variedad de linfocitos T conocidos como T *helper* (Th) 1, Th2 y Th17 y T reguladora inducida (Treg). Varias proteínas conocidas como citoquinas o interleuquinas, funcionan como mensajeros para la diferenciación, proliferación o activación de las funciones inmunes de estos mismos linfocitos T, linfocitos B o de otras células fundamentales de la inmunidad. Así, los linfocitos Th1 que se diferencian en presencia de interleuquina (IL)-12 e interferón (IFN)-gamma están involucradas en la inmunidad contra patógenos intracelulares como los virus, los lin-

Tabla de Anticuerpos

Anticuerpos	Inmunógeno	Tipo de anticuerpo	Molécula que reconoce	Célula que reconoce	Referencia/ Proyecto
CD4-1	Péptido	Policlonal (conejo)	CD4-1 de trucha arcoíris y salmón del Atlántico	Linfocitos T, células mieloides	Maisey et al., 2016
CD4-1 Clon 109	Péptido	Monoclonal (ratón)	CD4-1 de trucha arcoíris y salmón del Atlántico	Linfocitos T	RCUK-Conicyt/ Fondecyt
CD3e, Clon 1B3	Proteína CD3e recombinante	Monoclonal (ratón)	CD3e de trucha arcoíris	Linfocitos T	RCUK-Conicyt/ Fondecyt
CD8a	Proteína recombinante	Policlonal (ratón)	CD8a	Linfocitos T	Fondecyt

focitos Th2 que producen IL-4, IL-5 e IL-13 están implicados en la defensa contra las infecciones helmínticas y en la producción de anticuerpos, los linfocitos Th17 tienen un papel en la defensa del huésped contra bacterias y hongos extracelulares y los linfocitos Treg tienen un papel esencial en la regulación inhibitoria de las respuestas tipo Th1, Th2 y Th17. En los peces, las primeras evidencias de la presencia de linfocitos T provienen de estudios histológicos y posteriormente de los estudios genómicos y transcripcionales con los que se identificaron los genes homólogos del receptor de antígenos de los linfocitos T (TCR) y sus correceptores CD4-1, CD4-2, CD8. Los linfocitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> han sido más estudiados que los linfocitos T helper o T CD4<sup>+</sup> debido a que se desarrollaron anticuerpos contra la molécula CD8 hace ya una década [2]. Esto ha permitido aislar y estudiar estas células en diferentes especies. Solo recientemente, con la producción de anticuerpos monoclonales y policlonales contra CD4-1, CD4-2 o CD3 de algunas especies de peces como pez cebra, trucha y carpa se han identificado y estudiado algunas características de los linfocitos Th en los peces [3-5], sin embargo, no se conoce hasta ahora si las subpoblaciones Th1, Th2, Th17 y Treg existentes en los vertebrados superiores están también presentes como entidades separadas en los peces.

En este marco, las agencias que financian la investigación científica en el Reino Unido (RCUK) y en Chile (CONICYT) han apoyado el desarrollo de un proyecto de investigación de colaboración internacional entre el Scottish Fish Immunology Research Cen-

tre de la Universidad de Aberdeen y el Centro de Biotecnología Acuícola de la Universidad de Santiago de Chile, destinado a identificar las poblaciones de Th en peces teleosteos como una forma de ayudar al desarrollo de vacunas. El grupo de Aberdeen es líder mundial en el descubrimiento de genes y análisis de bioactividad de citoquinas de peces. Poseen el repertorio más grande de proteínas de citoquinas recombinantes de peces en el mundo, las que pueden usarse en el estudio de los linfocitos Th de los peces [6]. En el grupo del CBA en Santiago, así como en Aberdeen, han estado desarrollando reactivos (citoquinas recombinantes y anticuerpos) (Tabla 1) y métodos para estudiar células T en peces [7] y para demostrar la expresión de citoquinas inducidas por antígenos virales y bacterianos en linfocitos T CD4-1. En particular, nosotros hemos enfocado parte importante de nuestros esfuerzos a desarrollar anticuerpos contra moléculas claves de los linfocitos de los peces salmónidos. Uno de los usos más comunes de los anticuerpos contra moléculas propias de ciertas poblaciones celulares, es el análisis mediante citometría de flujo que permite identificar y cuantificar las poblaciones celulares de interés. De la misma manera, los anticuerpos se pueden usar para visualizar estas células aisladas o en los órganos donde residen y producen la respuesta inmune destinada a eliminar microorganismos patógenos. Dos de los anticuerpos están dirigidos contra el correceptor CD4-1 (Tabla 1). Uno es un policlonal preparado en conejo contra un péptido sintético de CD4-1 y el otro es un monoclonal preparado en ratón producido usando el mismo péptido sintético. La producción de anticuerpos contra el complejo CD3 de los linfocitos T, utilizando la proteína recombinante (Tabla 1) nos ha permitido identificar irrefutablemente los linfocitos T de la trucha arcoíris [5] que se observan y cuantifican mediante citometría de flujo (Figura 1) y visualizan mediante microscopía confocal como células que aparecen marcadas con los anticuerpos CD4-1 y CD3 $\epsilon$  a la vez.

Utilizando los anticuerpos en combinación con análisis transcriptómicos, estamos ahora en condiciones de determinar el tipo de respuesta inmune producida por los peces salmónidos contra diferentes patógenos o contra la aplicación de vacunas. Actualmente, estamos estudiando en la trucha, la respuesta a la aplicación de dos antígenos modelos de infección viral, las proteínas recombinantes VP1 y VP2 del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV). El aislamiento de la población de linfocitos T desde los peces inmunizados, utilizando los anticuerpos anti-CD4 y anti-CD3 y *cell sorting*, nos permitirá determinar la expresión transcripcional de un panel de genes de citoquinas en estas células y con ello el tipo de subpoblaciones linfocitarias respondedoras a estos antígenos virales.

En consecuencia, una de las más notables aplicaciones de estos anticuerpos será definir con más detalle que nunca los tipos linfocitos Th que se activan en la trucha como respuesta a la inmunización o como respuesta a la aplicación de vacunas. En el futuro, podremos además identificar el tipo de respuesta linfocitaria que otorga protección contra determinados microorganismos patógenos, que será además el tipo de respuesta deseada en el diseño de vacunas utilizadas en los peces.

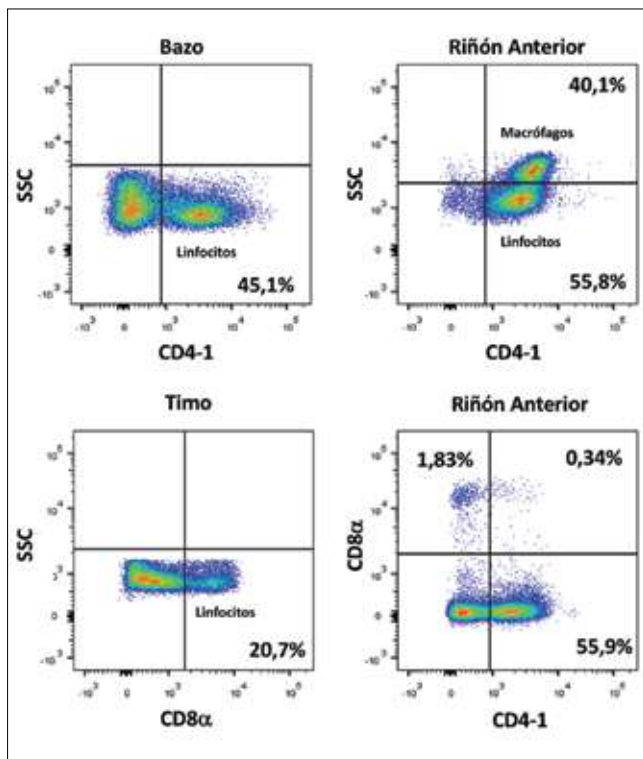


Figura 1: Análisis de linfocitos T mediante citometría de flujo. El anticuerpo monoclonal anti CD4-1 detecta la población de linfocitos T CD4-1<sup>+</sup> que alcanza diferentes porcentajes del total de leucocitos: en el bazo (45%), en el riñón anterior (55%). Los anticuerpos anti CD8 detecta la pequeña población de linfocitos T CD8<sup>+</sup> descrita en el riñón anterior (1,8 %) y también la población presente en el timo de las truchas (20%).

## EQUIPO DE EXPERTOS EN INMUNOLOGIA DE PECES

### Universidad de Santiago de Chile, Chile

- Dra. Mónica Imarai. Profesor Titular, Centro de Biotecnología Acuícola (CBA)
- Dra. Ana María Sandino, Profesor titular, CBA
- Dr. Kevin Maisey, Profesor Asistente, CBA

### Universidad de Aberdeen, UK

- Dr. Christopher Secombes, Regius Professor of Natural History, Head of the Scottish Fish Immunology Research Centre (SFIRC)
- Dr. Jun Zou, Research Manager, SFIRC
- Dr. Tiehui Wang, Senior Research Fellow

## Agradecimientos

- Valentina Wong, Bioquímico.
- Felipe Barraza, Ing. en Biotecnología.
- MSc. Agustín Trujillo, Veterinario.
- Ruth Montero, Bioquímico, Doctorado en Inmunología, Universidad de Greifswald
- Daniela Ruiz, Bioquímico, Doctorado en Microbiología, USACH.
- Camila Flores, Ing. en Biotecnología, Doctorado en Biotecnología, USACH.
- Carolina Espinoza, Técnico en Acuicultura.

## Fondos

MR N026 25X/1 Newton Picarte Fund. RCUK-CONICYT Fondecyt 1161015

## REFERENCIAS

1. Wang T, Secombes CJ: The evolution of IL-4 and IL-13 and their receptor subunits. *Cytokine* 2015, 75(1):8-13.
2. Toda H, Shibasaki Y, Koike T, Ohtani M, Takizawa F, Ototake M, Moritomo T, Nakanishi T: Alloantigen-specific killing is mediated by CD8-positive T cells in fish. *Dev Comp Immunol* 2009, 33(4):646-652.
3. Toda H, Saito Y, Koike T, Takizawa F, Araki K, Yabu T, Somamoto T, Suetake H, Suzuki Y, Ototake M et al: Conservation of characteristics and functions of CD4 positive lymphocytes in a teleost fish. *Dev Comp Immunol* 2011, 35(6):650-660.
4. Yoon S, Mitra S, Wyse C, Alnabulsi A, Zou J, Weerdenburg EM, van der Sar AM, Wang D, Secombes CJ, Bird S: First Demonstration of Antigen Induced Cytokine Expression by CD4-1+ Lymphocytes in a Poikilotherm: Studies in Zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS One* 2015, 10(6):e0126378.
5. Maisey K, Montero R, Corripio-Miyar Y, Toro-Ascuy D, Valenzuela B, Reyes-Cerpa S, Sandino AM, Zou J, Wang T, Secombes CJ et al: Isolation and Characterization of Salmonid CD4+ T Cells. *J Immunol* 2016, 196(10):4150-4163.
6. Zou J, Secombes CJ: The Function of Fish Cytokines. *Biology (Basel)* 2016, 5(2).
7. Hu Y, Maisey K, Subramani PA, Liu F, Flores-Kossack C, Imarai M, Secombes CJ, Wang T: Characterisation of rainbow trout peripheral blood leucocytes prepared by hypotonic lysis of erythrocytes, and analysis of their phagocytic activity, proliferation and response to PAMPs and proinflammatory cytokines. *Dev Comp Immunol* 2018, 88:104-113.



La citometría de flujo es una técnica altamente sensible y automatizada, que permite la identificación y caracterización (fenotipaje) de células utilizando anticuerpos marcadores.

# SCIMETRICA:

## Laboratorio de apoyo a la producción silvoagropecuaria y veterinaria basada en evidencia

Dinka Mandakovic<sup>1,2</sup>, Mario Caruffo<sup>1,2</sup>, Pablo Cabrera<sup>1</sup>, Igor Pacheco<sup>1,2</sup>, Alonso Carrasco Labra<sup>3</sup> Rodrigo Pulgar<sup>1,2,\*</sup>.

Scimetrica Lab. - Santiago, Chile.

Laboratorio de Genómica y Genética de Interacciones Biológicas - Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) - Universidad de Chile - Santiago, Chile.

McMaster University - Hamilton, Canadá.

\*rpulgar@uchile.cl

La medicina basada en evidencia (EBM, del inglés evidence-based medicine), es un enfoque de la práctica médica humana dirigida a optimizar la toma de decisiones haciendo uso de datos científicos provenientes de investigaciones previamente publicadas. Para lograr esto, se realizan revisiones sistemáticas, las cuales siguen un método explícito para resumir la información que se conoce acerca de determinado tema a tiempo presente. Éstas se distinguen de las revisiones narrativas en que provienen de una pregunta y de un protocolo de investigación estructurado, el cual evita la selección subjetiva de artículos (y sus sesgos asociados), promoviendo la revisión de la completitud de la evidencia existente respecto del tema de interés. El resultado de una revisión sistemática puede ser cualitativo o cuantitativo, empleándose en este último caso un estimador estadístico denominado metaanálisis.

A partir de la utilidad que se desprende del uso de la EBM en la toma de decisiones en ámbitos de la medicina, científicos de la Universidad de Chile asesorados por investigadores de la Universidad de McMaster en Canadá, hemos creado a Scimetrica, un laboratorio de análisis de datos científicos que recoge los fundamentos y procedimientos de la EBM para realizar revisiones sistemáticas y/o metaanálisis con foco en la producción silvoagropecuaria y veterinaria. El objetivo de este laboratorio es obtener información detallada y sin sesgo respecto de problemáticas de interés en la industria de la producción de animales, vegetales y alimentos en general, con el fin de apoyar su solución basándose en evidencia.

Nuestros primeros estudios, los cuales se encuentran en proceso de publicación en revistas científicas de corriente principal, se han enfocado en genómica, particularmente en la identificación de marcadores transcripcionales de respuesta de peces teleosteos a infecciones con diferentes patógenos. Esta información es relevante tanto para la comprensión de los elementos genéticos involucrados y posibles mecanismos de respuesta a infecciones en peces, como también para fundar las bases del desarrollo de nuevas estrategias de control basadas en evidencia científica. Como se muestra en la Figura 1, nuestras observaciones indi-

can que el uso de microarrays de ADN para evaluar de manera masiva la respuesta transcripcional de peces infectados con diferentes patógenos, tuvo un avance creciente desde el primer artículo en 2003 hasta el 2012, año en que se publicaron 13 artículos específicos de la temática, para luego caer a un artículo publicado en 2017, lo que pudo deberse al crecimiento de tecnologías alternativas y más informativas como el RNA-seq. Sin embargo, en el ámbito de nuestro interés, la tecnología de los microarrays dejó disponibles cientos de miles de datos en bases de datos públicas. Esta información fue reanalizada, permitiéndonos levantar nuevas hipótesis y obtener conclusiones generales en relación al tema de interés. Una de ellas, ilustrada en la Figura 2, indica que los países del hemisferio norte dan cuenta de la mayor contribución en términos de número de publicaciones (n=85 totales), destacando Noruega (n=21) seguido por China (n=18), España (n=14) y Canadá (n=12), todos grandes productores piscícolas. Interesantemente, aunque Chile es el segundo productor mundial de salmónidos cultivados después de Noruega, las 4 publicaciones generadas con afiliación en el país demuestran que no sólo el nivel de producción, sino que también el desarrollo científico y tecnológico de los países, dan cuenta de la magnitud del aporte al estado del arte.

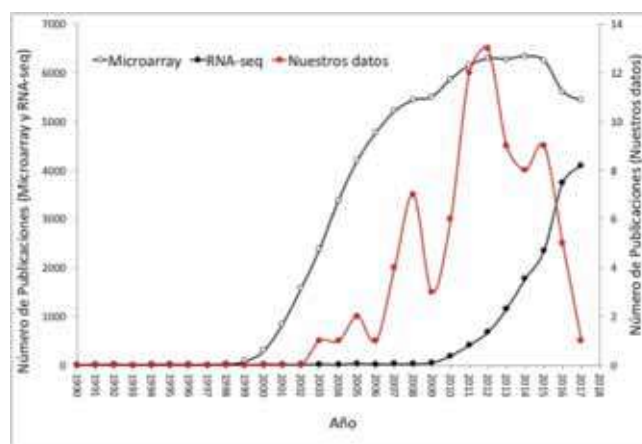


Figura 1. Distribución anual de las publicaciones en las que se utiliza microarray o RNA-seq para estudiar la respuesta transcripcional global.



Figura 2. Mapa de calor de la cantidad de publicaciones asociadas a la respuesta transcripcional de peces teleosteos a infecciones.

Desde el punto de vista de las especies de peces analizadas ( $n=13$ ), destaca que la mayoría de los estudios se han realizado en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) seguido por pez cebra (*Danio rerio*), que aunque no es un animal de producción, es el modelo clásico para peces teleosteos en investigación. Una serie importante de estudios se han realizado también en trucha arcoíris (*Onchorynchus mykiss*) e hirame japoneses (*Paralichthys olivaceus*). Otro aspecto destacado fue que la mayoría de los estudios se realizaron en peces juveniles (67.9%), mientras que un reducido número de estudios se realizaron en peces en estado adulto. De esta forma, hipotetizamos que dado el número de peces necesarios para hacer estos estudios y los costos de usar individuos pronto a ser cosechados, se favorece el uso de peces juveniles a pesar que algunos patógenos infecten peces en estados de desarrollo más avanzados.

Desde el punto de vista de los patógenos estudiados destacan 18 especies bacterianas, 13 tipos de virus y nueve parásitos y/u hongos. A pesar de la mayor diversidad de bacterias estudiadas, los estudios se distribuyen casi equitativamente entre bacterias ( $n=34$ ) y virus ( $n=35$ ), mientras que los otros patógenos son la minoría ( $n=16$ ). Las relaciones entre peces y patógenos que presentan la mayor frecuencia de estudios son salmones del Atlántico juveniles infectados con el “piojo del salmón” (*Le-*

*peophtheirus salmonis*), con el virus de la anemia infecciosa (ISAV) y con el piscine reovirus (PRV).

El conjunto de estos estudios ha permitido evaluar cambios de expresión génica con más de ciento diez mil datos, identificando genes cuya expresión cambia en respuesta a la infección de manera común para cualquier patógeno (marcadores generales de infección), de manera específica para bacterias (marcadores de infección bacteriana) y de manera específica para virus (marcadores de infección viral). Estos marcadores han sido clasificados de acuerdo a sus funciones biológicas, encontrándose procesos relacionados a la respuesta a patógenos (respuesta inmune) y otros no relacionados previamente a infecciones. La información generada promete ser sustrato de nuevas investigaciones, y foco de nuevos tratamientos o herramientas, como por ejemplo, la posibilidad de utilizar estos marcadores para evaluar la inmunocompetencia de individuos posterior a una vacunación o la detección de infecciones previo a la aparición de signos clínicos. Estos resultados son un ejemplo que representan el potencial de Scimétrica, que a partir de datos publicados en disciplinas no necesariamente asociadas a la medicina, puede llegar a proponer conclusiones de índole general o soluciones novedosas y útiles en el ámbito productivo.

## EL EQUIPO



Dinka Mandakovic Seyler



Igor Pacheco Cruz



Mario Caruffo Madrid



Pablo Cabrera Reyes



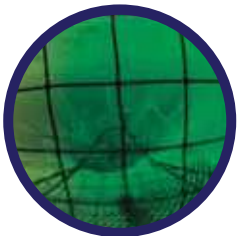
Rodrigo Pulgar Tejo



SOLUCIONES ROBOTICAS

*Más lejos y más profundo*

- Inspección robótica submarina en centros de cultivo.
- Extracción de mortalidad de peces.
- Inspección de lecho marino.
- Inspección de cascos de embarcaciones y estructuras flotantes.
- Servicios para la investigación científica submarina.



[www.tri-chile.cl](http://www.tri-chile.cl)



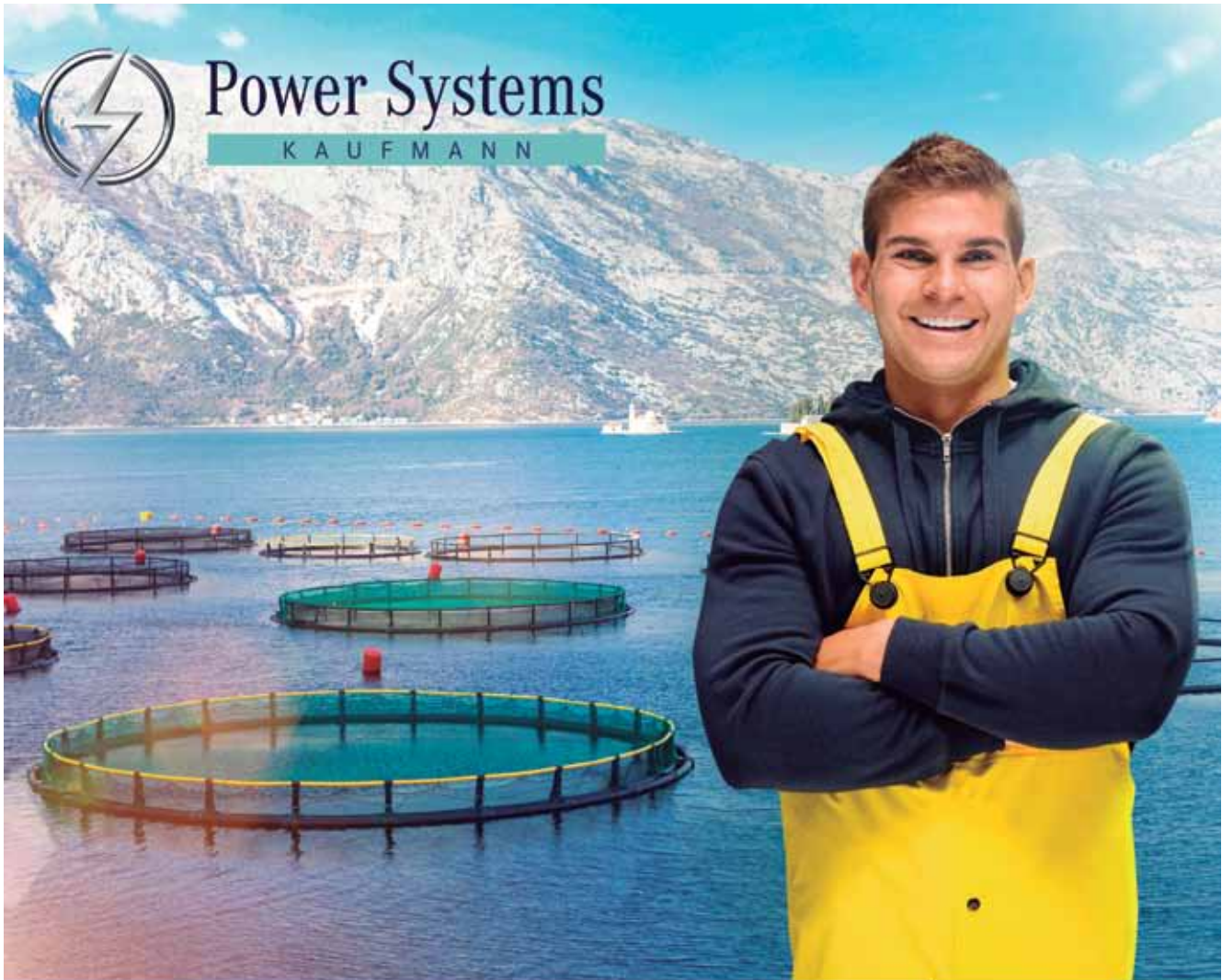
(065) 271 5598



[contacto@tri-chile.cl](mailto:contacto@tri-chile.cl)

Parque Nacional Queulat N°4068 - Valle Volcanes - Puerto Montt





## UNA ASESORÍA EXPERTA TE DA EL RESPALDO QUE NECESITAS Y TAMBIÉN MÁS CONFIANZA.

JUNTOS PARA QUE TU ENERGÍA NUNCA SE DETENGA.

Power Systems de Kaufmann es tu solución energética para ayudar a que tu empresa siempre siga avanzando.



ATENCIÓN  
24 HRS.  
(OPCIONAL)



SUCURSALES  
EN TODO EL PAÍS.



SERVICIO  
POST VENTA  
MULTIMARCA.



ASESORÍA  
EXPERTA.

KAUFMANN



Contacto: (56 2) 2481 4848 / [generadores@kaufmann.cl](mailto:generadores@kaufmann.cl)



### MOTORES PERKINS, FPT Y CUMMINS

- Potencias desde 10 a 2.500 kva.
- Líneas europea y asiática.
- Versión insonorizado o abierto.
- Tablero de transferencia automática opcional.
- Desarrollo de proyectos de ingeniería.
- Servicio técnico en todo Chile.

REPRESENTANTE EN CHILE.



[www.kaufmann.cl](http://www.kaufmann.cl)

# Plataforma para el despegue de la Acuicultura en el centro-norte



Axel Klimpel<sup>a</sup>, Claudia Navarrete<sup>b</sup>, Carolina Oliú<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Director Ejecutivo, Centro de Innovación Acuícola (AquaPacífico), Coquimbo, Chile  
axel.klimpel@aquapacifico.cl, 56-9-63665660

<sup>b</sup> Coordinador I+D, Centro de Innovación Acuícola (AquaPacífico), Coquimbo, Chile  
claudia.navarrete@aquapacifico.cl 56-9-44326012

<sup>c</sup> Coordinador Transferencia y Negocios, Centro de Innovación Acuícola (AquaPacífico), Coquimbo, Chile.  
carolina.oliu@aquapacifico.cl, 56-9-54009510



*En Acuicultura, el norte también existe, y tiene un potencial que ha sido poco explorado. Desde 2016, con el apoyo de Corfo, AquaPacífico está dando cuenta de esta realidad, articulando actores y generando una oferta de productos y servicios para impulsar la acuicultura en esta macrozona.*

*Moluscos y algas han sido los principales focos de desarrollo, activando industrias con promisorias expectativas de crecimiento.*

Cuando se habla de acuicultura en Chile, la mirada se va inmediatamente hacia el sur. La industria salmicultora, con 95% de las exportaciones del sector, surge como un gigante. A su lado, cada vez más dinámica, la mitilicultura crece a paso firme, posicionando a los mejillones (choritos) en distintos mercados.

Más de tres décadas de I+D en el norte del país, liderado por Fundación Chile y la Universidad Católica del Norte, con sus respectivos Centro Acuícola Tongoy y Centro Costero de Acuicultura y de Investigaciones Marinas (inserto en la Facultad de Ciencias del Mar), han generado un gran avance, aunque el desarrollo del sector productivo ha sido escaso. Menos del 1% de la acuicultura nacional, para llevarlo a cifras.

De ahí que ambas instituciones unieran sus capacidades, buscando cambiar esa realidad y creando para ello el Centro de Innovación Acuícola AquaPacífico. Con el apoyo de Corfo, desde 2016, AquaPacífico asumió el desafío de reimpulsar la acuicultura en la zona centro-norte.

Detrás de la exigua contribución a la acuicultura nacional, hay una actividad monoespecífica, basada principalmente en 2 gru-

pos de recursos (ostión y abalón); empresas pequeñas y medianas con modelos de producción intensivo o semi-intensivo; disminuida presencia de la acuicultura de pequeña escala (APE), escasa colaboración entre actores, y grandes desafíos para el desarrollo sustentable de la actividad.

En ese panorama, AquaPacífico propone la asociatividad como herramienta de fomento productivo, venciendo las desconfianzas, inaugurando una nueva era de colaboración, donde el Centro de Innovación Acuícola sea el necesario intermediario tecnológico entre las instituciones de I+D, las empresas y los gremios acuícolas del norte.

Juan Andrés Roeschmann, director de Centros Tecnológicos de Corfo, sostiene que “necesitamos como país complementar la I+D en acuicultura en el norte y abrirnos a otras especies, no sólo salmón, para utilizar el gran potencial de Chile y aumentar el valor agregado de nuestra producción acuícola en el norte. Es aquí donde el aporte de AquaPacífico es fundamental por su fuerte I+D con foco productivo. Como ejemplo, su contribución en estandarizar el cultivo de macroalgas es muy relevante para la cadena de valor de la industria acuícola”.

LÍNEA DE TRABAJO	DESCRIPCIÓN	ALCANCE	ESPECIES ACUÍCOLAS INVOLUCRADAS
<b>Escalamiento productivo</b>	Permite apoyar la acuicultura nacional mediante servicios específicos, generando información con respecto a la factibilidad técnica y económica de un nuevo desarrollo.	Asesorías de Investigación y desarrollo	Corvina ( <i>Cilus gilberti</i> )
			Palometa ( <i>Seriola lalandi</i> )
			Lenguado ( <i>Paralichthys adspersus</i> )
		Producción de especies de interés comercial	Ostra Japonesa ( <i>Crassostrea gigas</i> )
			Ostión del Norte ( <i>Argopecten purpuratus</i> )
			Almejas ( <i>Leukoma antiqua</i> )
		Bioensayos Capacitaciones	Navaja ( <i>Ensis macha</i> )
			Abalón rojo ( <i>Haliotis rufescens</i> )
			Microalgas y Macroalgas
Trucha ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )			
<b>Sanidad acuícola</b>	Desarrollo y aplicación de capacidades técnicas y analíticas destinadas al manejo sanitario y resguardo de bioseguridad acuícola	Análisis Histológicos	Algas, Moluscos Peces y Crustáceos
		Microscopía electrónica	
		Análisis Microbiológicos	
		Manejo Sanitario-Acuícola: Asistencia técnica	
		Curso teórico-práctico: Bacteriología aplicada.	
		Curso teórico-práctico: Enfermedades acuícolas.	
<b>Genética y Fisiología</b>	Servicios específicos ligados al campo de la genética y fisiología de especies hidrobiológicas, que permitan desarrollar capacidades técnicas y analíticas en el campo de la acuicultura	Genética Molecular	Moluscos, Peces y Crustáceos
		Estado fisiológico de especies hidrobiológicas	
		Diseño de programas de mejoramiento genético	
		Capacitaciones (Herramientas moleculares, técnicas DNA recombinante, genética poblacional, Fisiología comparativa y aplicada a organismos marinos)	
<b>Nutrición acuícola</b>	Aplicación de capacidades técnicas y analíticas en servicios específicos ligados al campo de la nutrición acuícola.	Análisis proximal	Campos de interés según cliente
		Determinación de lípidos y proteínas	
		Formulación y evaluación de dietas balanceadas	
		Producción de <i>pellet</i> a pequeña escala (asociativo).	
<b>Sostenibilidad ambiental</b>	Capacidad de registro y análisis de variables de interés o incidentes en el desarrollo productivo de la acuicultura oceánica y continental.	Mediciones oceanográficas físico-químicas de la columna de agua.	Especies hidrobiológicas de interés
		Caracterización del fondo marino.	
		Evaluación de líneas base del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA).	
		Batimetría de exploración.	
		Implementación de sistemas de monitoreo costero en tiempo real y auto-contenidos.	
		Modelación hidrodinámica regional de alta resolución.	
Capacitaciones, asesorías y consultorías.			
<b>Ingeniería y Tecnología acuícola</b>	Diseño, dimensionamiento e instalación de sistemas acuícolas marinos y terrestres para los recursos: alga, moluscos, crustáceos y peces	Diseño, dimensionamiento e instalación de sistemas de cultivo en todas sus etapas.	Especies hidrobiológicas de interés
		Diseño, dimensionamiento e instalación de Sistemas Acuícolas Recirculantes (SAR)	

## Ante las carencias, soluciones

Carolina Oliú, coordinadora de Transferencia y Negocios de AquaPacífico, detalla las principales carencias y obstáculos que enfrenta la industria acuícola en el centro norte de Chile, agrupadas en ámbitos legales, tecnológicos/financiamiento y comerciales/mercado. “Desde el punto de vista legal, las dificultades parten por optar a un área apta para la acuicultura (zona AAA) en un tiempo de tramitación que no sea extendido, donde el productor se ve atrapado en las tramitaciones, limitando el posicionamiento inicial y/o puesta en marcha de la actividad”.

La ejecutiva explica que, desde el punto de vista de las capacidades tecnológicas, “estas tienen directa relación con la capacidad de inversión existente en el rubro, tanto pública como privada. Si bien hay fondos públicos dirigidos a la I+D+i y el desarrollo de negocios, las tendencias productivas en acuicultura marcan las posibilidades de escalamiento; es ahí donde hay que reforzar las estrategias de inversión y donde creo que el Estado está en deuda. Actualmente, agrega Carolina Oliú, “la acuicultura destina la mayoría de su producción a fines alimenticios, por lo que también falta diversificación de especies y generación de nuevos productos y subproductos provenientes de esta actividad”.

Ante esas brechas, AquaPacífico posee una oferta de servicios (ver tabla) que permite disponer de capacidades técnicas y analíticas para fomentar el desarrollo del centro-norte, junto a la diversificación acuícola. Esto es muy relevante, dado que los servicios para la industria se encuentran focalizados en el sur de Chile, donde estos tienen una fuerte demanda debido al dinamismo de la actividad salmonera y de mitílidos.

“Mediante este portafolio de productos y/o servicios, AquaPacífico pone a disposición toda su experiencia técnica, con el compromiso de la búsqueda constante de nuevas alternativas que permitan mejorar la competitividad de cada sector productivo de la zona”, destaca la coordinadora de Transferencia y Negocios.

Este portafolio de servicios presenta una puesta en marcha hacia una oferta multidisciplinaria en campos de interés directo para

la diversificación acuícola de todos los sectores productivos de la

zona norte. Sin embargo, y en base a la capacidad técnica y de análisis, también se podrán ver beneficiados otros sectores productivos, como son las áreas de alimentos, agricultura, agroindustria, entre otros; además de atender ciertas necesidades de universidades y centros de Investigación.

Como respaldo a esta oferta de servicios y a la planificación de impulso productivo para los distintos sectores, AquaPacífico trabaja en base a las siguientes Líneas de Investigación Estratégica: Escalamiento productivo; sanidad acuícola; fisiología y genética acuícola; nutrición acuícola; sostenibilidad ambiental, e ingeniería y tecnología acuícola.

## I+D+i para el emprendimiento acuícola

Las Líneas de investigación se conforman por un capital humano que, en conjunto, suman 35 investigadores de validada experiencia y sus equipos de trabajo. El aporte de AquaPacífico es unificar y poner a disposición dicho capital humano con foco en fomentar y fortalecer el desarrollo de la acuicultura sustentable, integrando la investigación y la innovación con el emprendimiento acuícola.

Se trata, en definitiva, de capital humano que estaba en las instituciones socias (FCh y UCN) o en las coejecutoras (U. de Chile, con su Facultad de Ciencias Agronómicas e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos INTA, y la Universidad Austral de Chile UACH), pero que -al estar reunido con este foco, y con el agregado de los técnicos y profesionales propios de AquaPacífico- genera un real impacto para los objetivos propuestos.

“AquaPacífico está enfocado en desarrollar I+D+i para la generación de tecnología acuícola sostenible, que permita optimizar los actuales cultivos y diversificar la acuicultura de la zona norte. Buscamos generar y apoyar proyectos de investigación que produzcan un impacto positivo tanto en la producción de las distintas especies acuícolas, como en el bienestar del sector y el medio ambiente. En este sentido, se espera fortalecer y potenciar la Acuicultura de Pequeña Escala”, señala Claudia Navarrete Taito, coordinadora de I+D. Destaca que, actualmente, todas las líneas -en sus diferentes temáticas- están contribuyendo con los objetivos de AquaPacífico.



## Investigadores I+D por Línea

### GENÉTICA Y FISIOLÓGIA

- Federico Winkler, Doctor en Ciencias Biológicas- Genética
- Katherina Brokordt, Doctora en Biología mención Ecofisiología- Fisiología de moluscos
- Elisabeth von Brand, Doctor en Agricultura Genética- Genética
- Claudia Cárcamo, Doctorado en Biología- Genética
- Claudio Álvarez, Doctor en Biotecnología- Fisiología de peces
- Cristian Araneda, Doctor en Ciencias Biomédicas- Genética
- Angélica Larraín, Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos- Calidad de alimento
- Johana Defranchi, Biólogo Marino- Genética
- William Farías, Magíster en Ciencias del Mar-Genética

### SANIDAD ACUÍCOLA

- Karin Lohrmann, Doctor en Ciencias- Histología de moluscos
- Claudio Miranda, Doctor en Ciencias Biológicas- Patologías en acuicultura
- Rodrigo Rojas, Doctor en Acuicultura- Microbiología marina
- Enrique Paredes, Doctor en Medicina Veterinaria-Histología de peces
- Jaime Romero, Doctor en Microbiología- Biotecnología marina

### NUTRICIÓN ACUÍCOLA

- Pedro Toledo, Doctor en Acuicultura- Nutrición acuícola
- María L. Fernández, Magíster en Educación- Química y análisis
- Jurij Wacyk, Doctor en Fisiología- Nutrición de peces
- Alejandro Abarca, Magíster en Acuicultura – Moluscos bivalvos.

### SOSTENIBILIDAD AMBIENTAL

- Marcel Ramos, Doctor en Ciencias Biológicas mención Ecología- Oceanografía física
- Praxedes Muñoz, Doctor en Oceanografía- Oceanografía Química.
- María Valladares, Máster en Gestión Integrada de Áreas Litorales- Equipamiento y análisis de datos oceanográficos

### INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA ACUÍCOLA

- Alfonso Silva, Doctor en Biología- Cultivo de peces
- Héctor Flores, Magíster en Acuicultura Marina- Cultivo de peces
- Juan Macchiavello, Doctor en Ciencias- Cultivo de algas
- Germán Merino, Doctor en Biología e Ingeniería Agrícola- Ingeniería y tecnología RAS
- Joel Barraza, Ingeniero Civil Mecánico-Ingeniería y tecnología RAS
- Luis Pereira, Magíster en Ciencias- Cultivo de moluscos
- M<sup>º</sup> Cristina Morales, Doctor en Acuicultura- Cultivo de crustáceos

### ESCALAMIENTO PRODUCTIVO

- Juan Carlos Sánchez, Ingeniero Civil- I+D en acuicultura
- Carlos Estrada, Ingeniero en Acuicultura- Cultivo de abalones
- Franco Cerda, Magíster en Acuicultura- Operaciones acuícolas
- John Barraza, Magíster en Acuicultura- Bioseguridad
- Daniel Arriagada, Mg. en Ciencias de la Acuicultura- Cultivo de moluscos
- Ignacio Valdés, Ingeniero en Biotecnología Marina y Acuicultura- Formulación y desarrollo de proyectos



Durante sus dos primeros años de funcionamiento, AquaPacífico ha apoyado diversas capacitaciones, las que han permitido reforzar la investigación desarrollada por el personal del centro. Asimismo, ha contribuido con las instituciones generadoras en la postulación y ejecución de numerosos proyectos acuícolas a fondos públicos concursables. Entre los que han sido adjudicados están: “Valoración nutricional de productos del mar en la región de Coquimbo”; “Levaduras autóctonas para la producción sustentable de larvas de peces marinos”; “Producción masiva de semillas de Navaja (*Ensis macha*) en ambiente controlado: validación y optimización de la tecnología de cultivo”; “Producción de semillas de almeja (*Venus antiqua*) en ambiente controlado como alternativa productiva para el sector pesquero y acuícola: Optimización de la tecnología de cultivo”; “Marcadores de crecimiento de Abalón”, e “Identificación de oportunidades para el desarrollo de bioproductos marinos, como activo estratégico para la región de Coquimbo”.

Investigaciones, presentaciones en congresos y 11 artículos científicos con filiación AquaPacífico, además de artículos periodísticos en revistas especializadas, forman parte del intenso trabajo que ha realizado el centro, con la intención de difundir este conocimiento y contribuir al avance de la acuicultura.

### Impulso a los sectores productivos

Después de haber realizado un diagnóstico de la situación de la acuicultura en el norte, con un intenso recorrido por los sectores productivos, la determinación de AquaPacífico fue enfocarse inicialmente en lo que ya estaba en marcha en la zona que abarca las regiones de Atacama, Coquimbo y Valparaíso. “No significa que no vayamos a incorporar otras temáticas, pero sí entendimos que una buena parte de nuestra energía en el corto plazo tenía que estar puesta en la industria actual, compuesta principalmente por el ostión, el abalón, las algas y la acuicultura de pequeña escala (APE)”, enfatiza Axel Klimpel, director ejecutivo de AquaPacífico.

El sector productivo del abalón, compuesto por unas 25 empresas, fue el primero en ser abordado. A fines de 2017, se realizó el seminario “Desafíos del abalón en Chile: visión para una industria que quiere crecer”, evento en el que se logró reunir a los principales actores de la industria, iniciando un trabajo que hoy se traduce en el próximo lanzamiento de la hoja de ruta del área. Axel Klimpel destaca que se trata de “una industria potente desde el punto de vista tecnológico, debido a la exigencia que tiene el recurso, por lo que obliga a un alto nivel técnico de sus productores. No obstante, se necesita fortalecer ciertos aspectos.

Somos el quinto productor acuícola de abalón en el mundo, pero somos el único que no tiene ni está desarrollando un programa genético. Es un trabajo que es necesario realizar porque permite ir acortando el ciclo productivo y fortalecer la especie, generando resistencias a enfermedades y mejorando la calidad del producto”.

Alex Poblete, gerente de producción de Live Seafood Chile, coincide con Klimpel y destaca el trabajo de AquaPacífico “en incorporar como tema central el manejo genético de la población nacional de abalones, que es un punto que en Chile no estaba siendo abordado, siendo que las potencias mundiales -como China y Corea- sí lo están incorporando como algo muy relevante. Si esto se llevara a término, sería un gran aporte de AquaPacífico a la industria del abalón chilena”.

En paralelo al abalón, se está trabajando con el sector de algas, instalando una unidad para la producción de plántulas dirigidas a abastecer las necesidades de distintas industrias, al igual que para abastecer los programas estatales de cultivo y repoblamiento. Todo esto como un plan maestro de AquaPacífico, donde las distintas industrias se potencian entre sí, dado que también se requiere producción de algas para la alimentación de los abalones.

En el caso de las algas, el desafío es avanzar en el escalamiento productivo. “Se han hecho muchos programas de cultivo de algas y ahora hay que empezar a escalarlos. Vamos a incorporar la capacidad de AquaPacífico en la producción de plántulas de algas para apoyar el repoblamiento del sector pesquero artesanal en sus áreas de manejo y el plan de la Subsecretaría de Pesca de incentivo para la producción de algas, que requiere que existan lugares certificados que entreguen una plántula de calidad”, enfatiza el director ejecutivo, explicando que eso es parte del rol de la entidad “en la producción de semillas, juveniles y ahora plántulas, para que todos estos programas de repoblamiento, de incentivo a la acuicultura, tengan un suministro”.

El ostión es otro de los recursos que está en la mira de corto plazo de AquaPacífico, para el que se está organizando un seminario, que se realizará próximamente. Entre las soluciones propuestas para esta industria está desarrollar un nuevo protocolo para la producción de semilla de ostión, para darle autonomía y estabilidad a las empresas vinculadas.

## Acuicultura de Pequeña Escala

Una de las misiones de AquaPacífico es apoyar a las comunidades costeras, entregando opciones de desarrollo para devolver la productividad a las caletas. Con ese objetivo, la herramienta indicada es la Acuicultura de Pequeña Escala (APE). Muchos proyectos han tenido ese espíritu, pero no han logrado generar un cambio real, debido a la falta de acompañamiento en terreno y apoyo permanente. “Eso ya se está poniendo en práctica, a través del Programa de Acuicultura en Áreas de Manejo de la Provincia de Choapa, en conjunto con Minera Los Pelambres, y en la colaboración que estamos prestando a la Mesa de Pesca Atacama”, sostiene Axel Klimpel.

Adaptar la tecnología a la APE es uno de los retos, ofreciendo distintas opciones de cultivo en las áreas de manejo: ostión del norte, piure, algas, peces nativos como la cojinoba del norte, y el camarón de río, que abre una oportunidad también para una comunidad que no esté en la costa. “Lo importante es desarrollar estos programas sin generar frustración a las expectativas de las personas que participan en ellos -opina Klimpel-. Para ello, hay que ir bajando los riesgos, brindando apoyos concretos y sostenidos a estas iniciativas”.

Andrés Guajardo, encargado de Fomento y Desarrollo Acuícola de Atacama en AquaPacífico, comenta que hay satisfacción en los asociados a la Mesa de Pesca Atacama con la colaboración del centro, que complementa el PDT Cultiva Mar que se desarrolla en la zona: “Se ha comenzado un trabajo con un modelo participativo, donde los profesionales se han trasladado a las caletas pesqueras para levantar las necesidades e intereses de desarrollo asociados a la acuicultura de pequeña escala. Con esta base, se diseña un programa de iniciativas en función de la realidad de los pescadores y pescadoras, a fin de asegurar que las acciones realizadas logren el efecto deseado, que es la transformación desde el pescador depredador al pescador cultivador”.

La motivación de los pescadores en la implementación de los cultivos y la asistencia continua en las distintas etapas es clave para el éxito de estos programas APE, enfatiza Andrés Guajardo.

## Modelos asociativos

Luego de dos años desde el lanzamiento del proyecto AquaPacífico, el Centro de Innovación Acuícola ha ido dejando sus huellas en distintos sectores productivos y potenciando la I+D+i con aplicación concreta a las necesidades de la acuicultura.

“Pensamos que, con modelos asociativos, que permitan la colaboración entre los diversos sectores y gremios de la acuicultura del norte, se pueden aprovechar las oportunidades que hoy tenemos para hacer crecer esta actividad”, declara Axel Klimpel, destacando que “la diversificación acuícola, impulsada por Corfo, sólo será una realidad si se incorporan territorios que hoy han estado bastante ausentes de este desarrollo, como son los del centro norte de Chile”.



Comité técnico de AquaPacífico, compuesto por Juan Macchiavello, Carolina Oliú, Axel Klimpel, Claudia Navarrete Taito, Juan Carlos Sánchez, Alfonso Silva y Martin Hevia.



# MARYUN

TODO PARA LA INDUSTRIA



 [ventas@maryun.cl](mailto:ventas@maryun.cl)

 [www.maryun.cl](http://www.maryun.cl)

Santiago - Concepción - Osorno - Puerto Montt - Castro - Quellón

# PRODUCCIÓN DE BIOFLOC EN CHILE: Una alternativa emergente para una acuicultura basada en el mínimo recambio de agua



PONTIFICIA  
UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DE  
VALPARAÍSO



FONDEF  
Fondo de Fomento al Desarrollo  
Científico y Tecnológico

Ma. Cristina Morales<sup>3</sup>, Jorge Moreno<sup>3</sup>, Carlos Méndez<sup>1,3</sup>, Carla Galleguillos<sup>2,3</sup>, Carmen Álvarez<sup>3</sup> y David Ulloa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Doctorado en Acuicultura. Programa Cooperativo Universidad de Chile, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

<sup>2</sup>Magister en Acuicultura. Universidad Católica del Norte.

<sup>3</sup>Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar, Departamento de Acuicultura. Larrondo 1281, Coquimbo, Chile.

[mcmorale@ucn.cl](mailto:mcmorale@ucn.cl)

## Introducción

¿Qué es el Biofloc?, es lo primero que se consulta cuando se habla del tema en la acuicultura del norte de Chile. Un concepto relativamente nuevo en el lenguaje acuícola local y nacional, pero ya asociado al desarrollo de sistemas productivos acuícolas con un mínimo recambio de agua, donde las relaciones de carbono y nitrógeno son consideradas como la base para el control ambiental en este tipo de sistemas acuícolas (Avnimelech, 1999; Collazo & Arias, 2015).

El Biofloc (Fig. 1), corresponde a una suspensión activa, generada en agua dulce como también en agua salada, está conformada por organismos microbianos y materia orgánica, la cual puede ser observada como agregados de materia orgánica particulada que se forma a partir de las heces y el alimento no consumido por las especies acuícolas en cultivo, que en conjunto con las microalgas, bacterias y protozoos del sistema acuático, conforman una matriz o aglomerado llamado flóculos o bioflóculos (Avnimelech 2009; Emerenciano et al., 2013; Hargreaves, 2013).

La comunidad de estos bioflóculos también incluye a algunos organismos que forman parte de esta trama trófica, como protozoos, zooplancton y nematodos. Esta conformación de flóculos ha sido documentada por investigadores desde hace unos 20 años, considerando su aplicación a la acuicultura y desarrollada como una tecnología alternativa para el cultivo de crustáceos y peces (Avnimelech, 1999; Avnimelech, 2006; Wasielesky et al., 2006; Azim & Little, 2008; Zimmermann, 2010; Emerenciano et al., 2012a y b; Hargreaves, 2013; Kim & Jang, 2015).

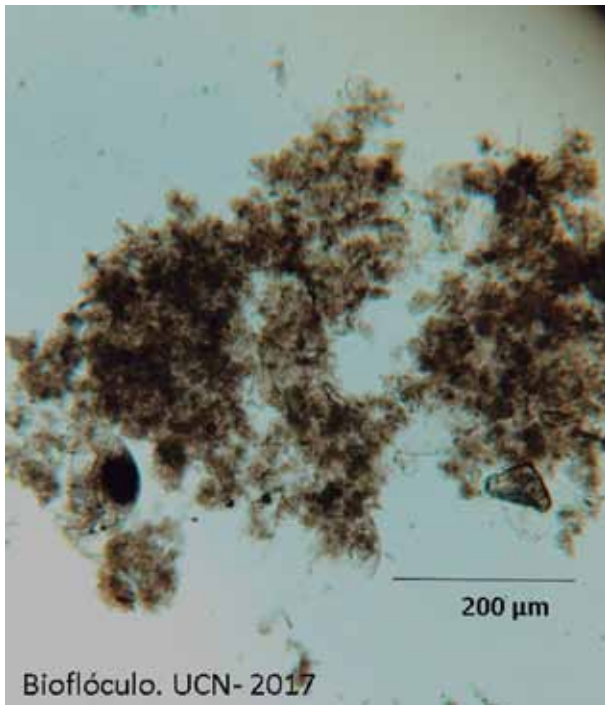


Figura 1: Bioflóculo obtenido de sistema de cultivo utilizando tecnología Biofloc, Laboratorio Crustáceos-UCN-2017.



Así, la tecnología Biofloc (TBF), se inicia con mayor intensidad a fines de la década del 90, cuando los sistemas de cultivo con recirculación de agua dan respuesta al control ambiental y a la reutilización del agua en acuicultura, los que, asociados a la manipulación de la actividad microbiana, dan inicio a un importante avance en el desarrollo acuícola con énfasis en la producción intensiva y súper intensiva de especies hidrobiológicas de agua dulce y agua de mar (Avnimelech, 1999; Avnimelech et al., 1986, Boyd & Tucker, 1998, Chamberlain et al., 2001).

El proyecto Fondef ID15110353 denominado “Producción de Biofloc estable y su aplicabilidad en la acuicultura a pequeña escala en zonas áridas”, ejecutado por investigadores del Laboratorio de Cultivo de Crustáceos de la Universidad Católica del Norte (UCN), propuso el desarrollo de la tecnología de cultivo basado en la producción de Biofloc, considerando su aplicación, a nivel de prototipo, al cultivo del camarón de río del norte *Cryphiops caementarius*. Esta especie es considerada elegible, debido a que la actividad acuícola propuesta para el camarón de río, en su fase de engorda, está basada en la optimización del uso del agua (Morales & Meruane, 2013; De los Ríos et al., 2013). Ello, porque se trata de una especie que habita los cursos de agua dulce del norte de Chile, cuyo desarrollo en el área acuícola se enmarca en la pequeña escala y con un enfoque productivo en un escenario de zonas áridas

Los principales objetivos de la primera etapa del proyecto fueron, generar un Biofloc usando agua dulce del norte de Chile, estable en sus características físicas, químicas y biológicas, para sustentar el cultivo de la especie de interés *C. caementarius* y aplicar la tecnología acuícola basada en el uso de Biofloc, al cultivo del camarón de río del norte, considerando la producción en laboratorio y posterior engorda de juveniles con dicha tecnología. Para fines de la presente publicación, se muestran resultados focalizados en el primer objetivo.



Figura 2. Diseño general del sistema de cultivo para la producción de Biofloc, en 12 unidades de estanques de 250 L. Foto Laboratorio de Cultivo Masivo de Crustáceos (CMC) de la Universidad Católica del Norte.

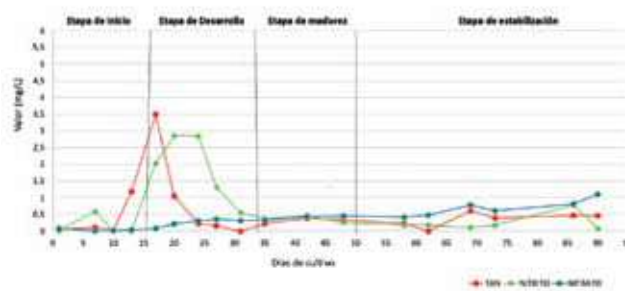


Figura 3. Representación gráfica de las etapas de la formación, desarrollo y estabilización de un sistema de cultivo con tecnología Biofloc. Esquema de elaboración propia a partir de antecedentes registrados durante las actividades del proyecto Fondef ID15110353.

## Materiales y método

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Crustáceos de la Universidad Católica del Norte, generando tres ciclos de producción. La instalación del sistema requirió mantener agua dulce para el cultivo, acorde con las características propias para el uso en acuicultura. Como referencia se usó la normativa que determina los requisitos para agua dulce destinada para la vida acuática (Norma Chilena 1.333/78, CO-NAMA; 1994).

El diseño experimental consideró 12 estanques de 250 L de capacidad y un sistema de aeración, suficiente para mantener los bioflóculos en suspensión, lo que provee del oxígeno para los procesos de respiración de los componentes bióticos generados. De esta manera, la concentración de oxígeno disuelto en el sistema se mantuvo en un nivel superior a los 5 mg L<sup>-1</sup>. La temperatura del agua fue de 25° C, mantenida con calefactores de 200 W con termostato, considerando que es la temperatura adecuada para el crecimiento del camarón de río, correspondiente a los valores ambientales en el río durante la estación de verano en el norte de Chile (Fig. 2).

Se consideró una biomasa inicial de camarones por estanque de 300 a 400 g m<sup>-2</sup>. Para dar inicio a la formación de microorganismos del Biofloc, se utilizó un inóculo de 25 litros de agua proveniente de un estanque de cultivo de camarón del mismo laboratorio. Como elemento principal para la formación de Biofloc es requisito el uso de una fuente de carbono orgánico (Ekasari et al., 2010) y el control de los componentes nitrogenados que se generan en el sistema. Por lo general la fuente inicial de carbono orgánico, proviene del alimento formulado que se entrega a los camarones en cultivo, en este caso se usó alimento con un 48,5 % de proteínas. Además, se usó, como fuente externa, dos productos naturales con alto contenido de carbono orgánico, la melaza (314.4 ± 7.8 g K<sup>-1</sup>) y la chancaca (361.4 ± 3.3 g K<sup>-1</sup>), que permitieron la mantención del sistema Biofloc, su estabilidad y madurez.

Para la cuantificación de la producción de bioflóculos se utilizó un cono Imhoff de un litro de capacidad, midiendo el volumen de Biofloc (VF,  $\text{ml L}^{-1}$ ) que corresponde al volumen de flóculos obtenidos en una muestra, la cual se deja decantar por 15 a 20 min. (Avnimelech, 2009). También, se llevó registro de los parámetros físico y químicos del agua y de la cantidad de bacterias heterotróficas totales y de la producción de fito y zooplancton.

## Resultados

Los resultados representan los indicadores de tres ciclos de producción realizados durante el proyecto. En cuanto al proceso de formación del sistema Biofloc, se establece que en aproximadamente 15 a 20 días ya es factible iniciar y comenzar a observar el desarrollo de bioflóculos. Las principales comunidades de organismos fitoplanctónicas que se observan en los bioflóculos generados, están representadas por tres grupos principales: Chlorophyceae, Bacillariophyceae y Cyanophyceae. Respecto de la comunidad zooplanctónica se encontró Rotíferos, cladóceros, nematodos, ciliados, copépodos, anélidos y amebas.

## Las cuatro etapas del Biofloc

Cuatro etapas en la formación de los sistemas Biofloc, fueron claramente identificadas (Fig. 3). Se determinó que el proceso de desarrollo y maduración del Biofloc, se va regulando con la adición de la fuente de carbono externa y registrando permanentemente las variables básicas que dan cuenta del funcionamiento del sistema.

Etapa de Inicio, en la que se evidencia una alta acumulación de amonio total, expresado como nitrógeno (TAN). Durante las primeras dos o tres semanas, se puede alcanzar valores mayores a  $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Incluso en algunos casos, pudiendo ser superiores a los  $10 \text{ mg L}^{-1}$ .

Etapa de Desarrollo, en este periodo los niveles de TAN comienzan a disminuir, mientras que los niveles de nitrito y nitrato se incrementan.

Etapa de Madurez, corresponde al periodo en que el sistema alcanza valores de TAN y nitritos menores o iguales a  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ . Etapa de Estabilización, Esta etapa se caracteriza por valores de TAN y nitritos bajos ( $< 1 \text{ mg L}^{-1}$ ) mantenidos en el tiempo, acompañados de incrementos continuos de los niveles de nitrato. Este estado de madurez es factible alcanzarlo en un periodo aproximado de 40 días y mantiene volúmenes de Biofloc (VF) en el rango de 10 a  $15 \text{ ml L}^{-1}$ .

## Discusión

En el proceso de I+D llevado a cabo durante la ejecución del proyecto se estableció que las externalidades biológicas generadas durante el proceso de cultivo de *Cryphiops caementarius* pueden ser biotransformadas aeróbicamente en bioflóculos de alto contenido proteico a través de la adición controlada de fuentes de carbono convencionales.



También se pudo evaluar que la tecnología Biofloc maximiza el uso del agua y del alimento en el cultivo de pequeña escala de *C. caementarius* durante la etapa de engorda, constituyendo una tecnología de cultivo adecuada para zonas áridas en Chile.

Fue posible generar dos protocolos de trabajo aplicados a nivel de prototipo. Para los protocolos se usó como referencia el uso de melaza y chancaca como fuente de carbono. (a) un protocolo para la producción de un Biofloc a nivel de prototipo, estable en sus características físicas, químicas y biológicas y (b) un protocolo para la producción de Biofloc, para su uso en la acuicultura del camarón de río en pequeña escala en zonas áridas del norte de Chile.

La aplicación de esta tecnología al cultivo de *C. caementarius*, ha generado bases que sustentan la factibilidad de esta especie como candidata para desarrollar acuicultura en la etapa de engorda, favoreciendo a su vez la mantención de la calidad y la reutilización del agua. Los resultados obtenidos a la fecha indican que es factible incrementar la densidad de cultivo hasta al menos  $30 \text{ ind. m}^{-2}$ , con una supervivencia cercana al 80 %.



*Cryphiops caementarius* ejemplar macho

situación que permite reducir drásticamente los efectos del comportamiento territorial del camarón.

Este proyecto finalizó su primera etapa en mayo de 2018 y se considera la formulación de la segunda etapa correspondiente a una investigación aplicada con miras a la masificación de los resultados y transferencia tecnológica de la tecnología Biofloc, aportando así al desarrollo de alternativas para la acuicultura regional y del norte del país.

Se agradece el financiamiento del Proyecto FONDEF IDeA en dos etapas ID15I10353 ejecutado por la Universidad Católica del Norte entre los años 2015 a 2018. También a los investigadores de la UCN, Dr. Jaime Meruane, Dr. Germán Merino y profesionales del Laboratorio de Cultivo de Crustáceos de la UCN Ing. Camila Salvador y Téc. Marcela Rozas. Se destaca la participación del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico de las Algas (CIDTA) de la UCN en el análisis de muestras de los experimentos.



Camarones juveniles para siembra en biofloc.

## Bibliografía

Avnimelech Y. 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176: 227-235.

Avnimelech Y. 2006. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach. *Aquacultural Engineering* 34: 172-178.

Avnimelech Y. 2009. *Biofloc technology - A practical Guide Book*. The World Aquaculture Society. 272 pp.

Avnimelech Y, Weber B, Hopher B, Milstein A & M Zorn. 1986. Studies in circulated fish ponds: Organic matter recycling and nitrogen transformation. *Aquac. Fish. Manag.* 17: 231-242.

Azim M & Little D. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283: 29-35.

Boyd, C E & C S Tucker. 1988. *Pond aquaculture water quality management*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers. 685 pp.

Chamberlain G, Avnimelech Y, McIntosh R & M Velasco. 2001. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C/N. Nutrient transformation and water quality benefits. *Global Aquac. Alliance Advocate* 4: 53-56.

Collazo-Lasso L & J Arias-Castellanos. 2015. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. *Orinoquia*, 19 (1): 77-86.

Corporación Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). 1994. Norma Chilena 1.333/78, aprobada por Decreto Supremo del Ministerio de Obras Públicas de Chile N°867/78

Ekasari J, Crab R & W Verstraete. 2010. Primary nutritional content of Bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(3):125-130.

Emerenciano M, Ballester E, Cavalli R & W Wasielesky. 2012a. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquac. Res.* 43: 447-457.

Emerenciano M, Cuzon G, Goguenheim J & G Gaxiola. 2012b. Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquac. Res.* 44: 75-85.

Emerenciano M, Gaxiola G & G Cuzon. 2013. Biofloc Technology (BFT): A review for aquaculture application and animal food industry. *Biomass Now - Cultiv. Util.* 301-328.

Hargreaves J. 2013. Biofloc production systems for aquaculture 1-12.

Kim S, Guo Q & I Jang. 2015. Effect of biofloc on the survival and growth of the postlarvae of three penaeids (*Litopenaeus vannamei*, *Fenneropenaeus chinensis*, and *Marsupenaeus japonicus*) and their biofloc feeding efficiencies, as related to the morphological structure of the third maxilliped. *J. Crust. Biol.* 35: 41-50.

Morales MC & J Meruane. 2013. The northern river shrimp *Cryphiops caementarius* (Decapoda, Palaemonidae), research chronology between 1958 and 2008, II: aquaculture research and development in northern Chile. *Crustaceana* 86 (12): 1452-1467.

De los Ríos-Escalante P, Jara C, Meruane J, Morales M, Rudolph E, Fuentealba C & G. Boxshall. 2013. Zoogeography of Chilean inland water crustaceans. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 41(5): 846-853

Wasielesky W, Atwood H, Stokes A & C Browdy. 2006. Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 258: 396-403.

Zimmermann S. 2010. Bioreactor technology for tilapia advances in Latin America. *The Global Aquaculture Advocate*. May/June 2010. 32pp.

# Primer Centro de Cultivo de Truchas Arcoíris bajo un Sistema de Recirculación

## SECTOR DE COPAQUILLA, REGIÓN DE ARICA Y PARINACOTA



Renzo Pepe Victoriano & Héctor Aravena Ambrosetti

Facultad de Recursos Naturales Renovables, Área de Biología Marina y Acuicultura, Universidad Arturo Prat - Arica - Chile  
rpepev@unap.cl



Figura 1. Centro de Cultivo Pukara de Copaquilla.

### INTRODUCCIÓN

El desarrollo productivo de las comunidades ubicadas en la franja precordillerana de la Región de Arica y Parinacota, presentan como principales fuentes de ingresos las actividades agrícola, ganadera y menor medida, el turismo. En el último tiempo, estas actividades, en muchos de los casos ancestral como la agricultura y la ganadería, han sufrido un claro deterioro y abandono, principalmente por la falta de alternativas diversificadoras que incentiven y evite uno de los principales problemas del territorio, como es la migración de la población joven a la ciudad.

La falta de oportunidades, mejoras tecnológicas y diversificación, a partir de inserción de nuevas alternativas productivas y sustentables, son temas a resolver. Las inmejorables condiciones ambientales que presentan muchos de los sectores de este territorio, tales como la existencia de vertientes de aguas de buena calidad, disponibilidad de espacio y entornos micro climáticos, son elementos claros de potencialidad, condiciones entre las cuales la acuicultura muestra favorables perspectivas para desarrollarse.

La acuicultura, tal como lo indica varios estudios realizados hasta la fecha en la región (Cordunap, Corfo, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura), se presenta como una real alternativa productiva, al identificar cultivos de especies dulceacuícola de valor comercial como una forma de aprovechar capacidades instaladas en la actividad agrícola de la zona, como estanques de acopio para riego, invernaderos, sistemas hidráulicos, entre otros, a los cuales se suma la posibilidad de reutilizar el agua las veces que sean necesarias antes de ser derivadas como destino final el riego de plantas y hortalizas.

La aplicación de herramientas como la recirculación en sistemas acuícolas se presenta como una potente alternativa para zonas precordilleranas. Un sistema de recirculación permite el control más preciso de los principales parámetros ambientales. La temperatura del agua, parámetro crítico para la mayoría de los organismos poiquilotérmico, como los peces, y que puede ser controlada mucho más económicamente en un sistema de

recirculación que uno a flujo abierto. El control de la temperatura del agua y de otros parámetros ambientales permite un crecimiento más rápido y un uso del alimento más económico o eficiente debido a la reducción de stress de los organismos cultivado.

La introducción de la acuicultura empleando sistemas de recirculación, busca generar un mayor nivel de desarrollo económico y social de estas localidades, principalmente de las comunas de Putre, designando la localidad de Copaquilla como una estación de prueba (Fig. 1) para definir variables técnicas, productivas y económicas, que permitan transferir a corto y mediano plazo modelos productivos sustentables para las comunidades de esta parte de la región y convertir a la acuicultura como una alternativa diversificadora y generadora de oportunidades y nuevos negocios, y así dar cumplimiento a las directrices que persigue la estrategia de desarrollo regional.

Dicho lo anterior, el objetivo de esta iniciativa fue Desarrollar el Cultivo de Trucha Arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de recirculación, como alternativa de desarrollo productivo para comunidades precordilleranas de la región de Arica y Parinacota.

## LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO

El proyecto se localiza en la quebrada de Copaquilla, localidad ubicada a 89 Km de distancia de la ciudad de Arica por la Ruta 11-CH, sector geográfico que forma parte de uno de los principales puntos turísticos de la Comuna de Putre, Provincia de Parinacota (Fig. 2).

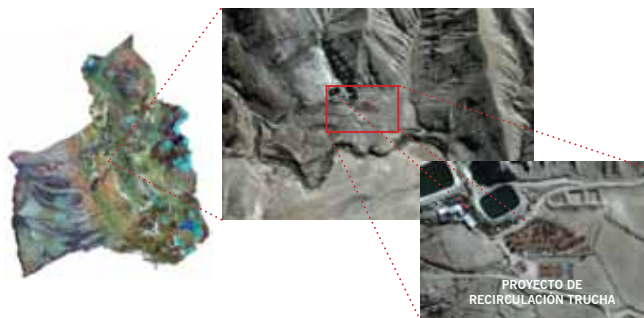


Figura 2. Ubicación Geográfica del Centro de Cultivo Pukara de Copaquilla.

## ANTECEDENTES GENERALES DE LA ESPECIE

*Oncorhynchus mykiss* (trucha arcoiris), es una especie íctica perteneciente a la familia Salmonidae (Fig. 3), originaria de las costas del Pacífico de América del Norte, que debido a su fácil adaptación al cautiverio, su crianza ha sido ampliamente difundida casi en todo el mundo. En Chile, se comienza a cultivar en 1974, sin embargo había sido introducida con anterioridad con fines de repoblamiento en el país.

## UNIDAD DE RECIRCULACIÓN PROPUESTA

El sistema cerrado de recirculación de agua que se instaló en Copaquilla (Fig. 4) está compuesto por 6 estanques circulares tipo australiano para la producción intensiva de truchas, provisto



Figura 3. Ejemplar adulto de *Oncorhynchus mykiss* (Trucha Arcoiris).

con sistema de drenaje central y conexiones hidráulicas para el abastecimiento de agua y de aireación; un sistema de estanques de fibra de vidrio emplazados bajo el nivel del piso que incluyen, dos estanque de sedimentación y un estanques con biofiltros. Además, de, dos bombas de succión de agua de 2 hp cada una, dos blower de alta presión de 3 hp y un generador de oxígeno. Los estanques de producción intensiva de truchas (tipo australiano) son de acero corrugado galvanizado de 5,4 mt. de diámetro y una altura nominal de 1.76 mts., con un volumen máximo de agua de 40 m<sup>3</sup>. El agua llega a cada estanque a través de una tubería central de distribución y arranques laterales, los cuales abastecen de agua cada unidad de cultivo. El flujo es controlado por válvulas de PVC, las cuales por su disposición generan un movimiento circular del agua.

Cada estanque interiormente está cubierto con un liner o geomembrana atóxica de color negro de 0,7 mm. de espesor, que actúa como impermeabilizante. En el centro de cada estanque se dispone de un desagüe con salida de 110 mm  $\varnothing$  y sistema de drenaje con aberturas de 5 mm de diámetro.

Por otra parte, se dispone una tubería de distribución de aire que por medio de un Blower, permitirá la aireación y oxigenación continua de la columna de agua para asegurar altos niveles de oxígeno disuelto.

Ademas existe una tubería de oxígeno que distribuye a todos los estanques por medio de un generador de oxígeno, el cual suministrará a estos, en caso de emergencia una alta concentración de este elemento.

También se ha instalado en la misma red de oxígeno un cilindro para abastecer de este elemento a todos los estanques en caso que el generador de oxígeno falle.

El agua que sale de los seis estanques, pas a través de un tubo de PVC por debajo del nivel del suelo hasta los estanque de sedimentación, el cual por su división interna de estos facilitará la sedimentación de los sólidos en suspensión.

Los desechos acumulados en el fondo de los estanque de sedimentación, son removidos periódicamente por medio de una bomba. En los estanque de sedimentación, diariamente se agregaran agua fresca necesaria para mantener el volumen del cultivo que representa aproximadamente el 1 al 2% del volumen total del sistema, además también para remover el producto final del proceso de nitrificación (nitrito) y así mantener el nivel de agua y compensar las pérdidas por evaporación y manejo.

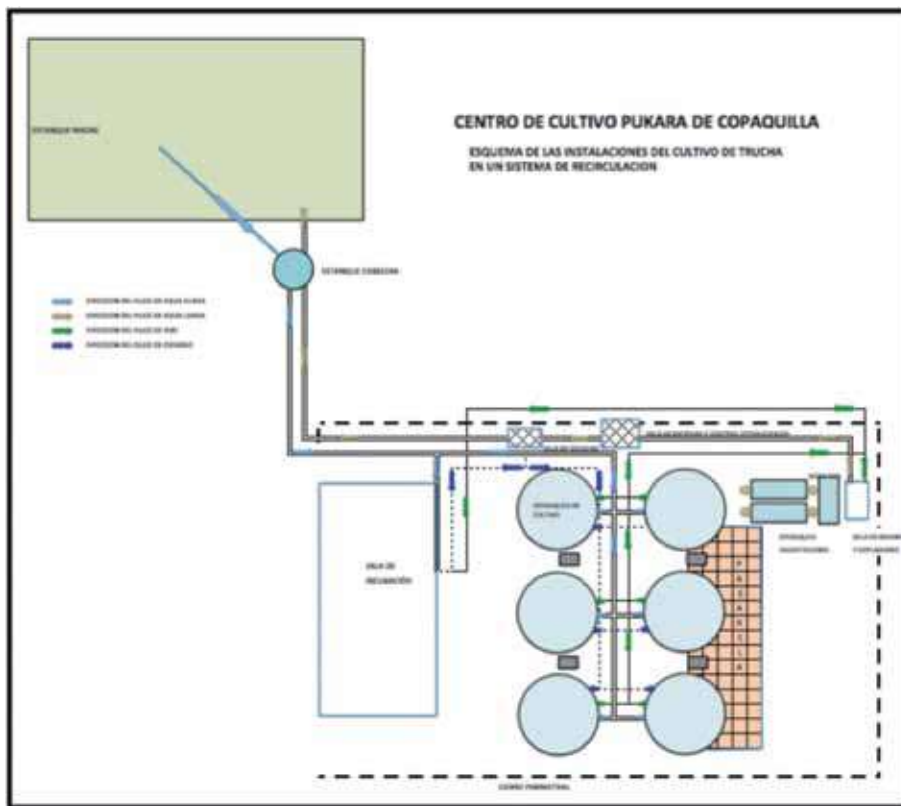


Figura 4. Layout de las instalaciones del cultivo de truchas en recirculación.

El agua de los estanques sedimentadores pasa a un biofiltro sumergido fluidizado, el cual contendrá sustrato (piezas plásticas de construcción de amplia superficie) para la fijación de bacterias nitrificantes. Las bacterias nitrificantes convierten el Nitrógeno amoniacal que desecha el pez y lo transformarán a Nitritos y posteriormente a Nitratos, lo cual es una molécula que es menos dañina para los organismos acuáticos y, por el contrario, es el principal nutriente de la mayoría de las plantas.

El proceso de Nitrificación requiere de la adición de oxígeno disuelto y es por ello que en este sistema se aprovecha el volumen de aire generado por el “blower”. Las mangueras de difusión se disponen de tal forma que permitan un movimiento uniforme de los sustratos de biofiltración, para que de esa manera se distribuya el nitrógeno amoniacal y el oxígeno por toda la superficie del biofiltro, evitando así, la acumulación de sólidos en el mismo. El agua de este estanque finalmente pasará al estanque de cabezera, el cual tiene un volumen de 10 m<sup>3</sup>, en este estanque el agua es aireada, antes de ser enviada por gravedad a los estanques de producción.

## ADQUISICIÓN Y TRANSPORTE DE JUVENILES DE TRUCHA AL CENTRO DE CULTIVO PUKARA DE COPAQUILLA

Realizado todo lo anterior, se procedió a la compra de 5.000 truchas y su posterior transporte, este traslado fue realizado el 27 de octubre del 2015 (Fig. 5) en un camión con termo para así mantener la temperatura baja de traslado. Los peces fueron com-

prados a la Piscicultura de Río Blanco, perteneciente a la Universidad Católica de Valparaíso ubicada en la ciudad de los Andes, región de Valparaíso.

Los vehículos, camión de transporte y camioneta de apoyo, fueron desinfectados antes de entrar en contacto con la piscicultura de Río Blanco, tal como lo indican los procedimientos de transporte de peces según SERNAPESCA.

Una vez el camión en la piscicultura, se procedió a llenar con agua de la piscicultura Río Blanco, los 8 binz, a una temperatura de 7 grados, los que servirían para albergar los peces, estos fueron cargados a una razón de 625 peces por recipiente. Terminada la actividad de carga los binz fueron tapado midiendo anteriormente la temperatura y oxígeno.

En el transporte mismo de esta actividad durante las primeras 6 horas de viaje se tomaban los parámetros antes mencionados y se procedía a la observación visual realizado por el equipo técnico a

cargo del transporte. Las siguientes 12 horas se realizaban la toma de parámetros y observación cada dos horas, las siguientes 12 horas cada 3 y las últimas cada 5 horas.

Una vez llegado los peces a lo alto de Copaquilla fueron depositados en un binz que contenía 800 litros de agua sobre una camioneta encargada de llevarlas al cultivo, se realizaron 8 viajes para desocupar los 8 binz. Los peces en el centro de cultivo se distribuyeron en tres estanques de 40 m<sup>3</sup> en equivalentes número de peces.

## CRECIMIENTO DE TRUCHA ARCOIRIS EN EL CENTRO DE CULTIVOS PUKARA DE COPAQUILLA

Gran parte de la eficiencia productiva de un cultivo comercial de peces está determinada por el manejo de la alimentación (bienestar de los peces, Bravo & Strappini, 2018). Para que este sea exitoso, es fundamental que los cultivos elaboren una base de



Figura 5. Transporte de truchas desde la Piscicultura Río Blanco al Centro de Cultivo Pukara de Copaquilla.

datos en donde se registren los parámetros indispensables para un correcto manejo de la alimentación. Entre estos se encuentran: el número de individuos correspondientes a cada estanque, la mortalidad, el peso corporal promedio, la evolución de crecimiento de las truchas, el suministro de alimento y la temperatura del agua. De esta manera se podrá calcular la ración a suministrar a cada estanque y la eficiencia de alimentación que posee el cultivo.

La figura 6 muestra la variación de temperatura y oxígeno que se mantuvo en el cultivo de trucha desde octubre del 2014 a julio del 2018.

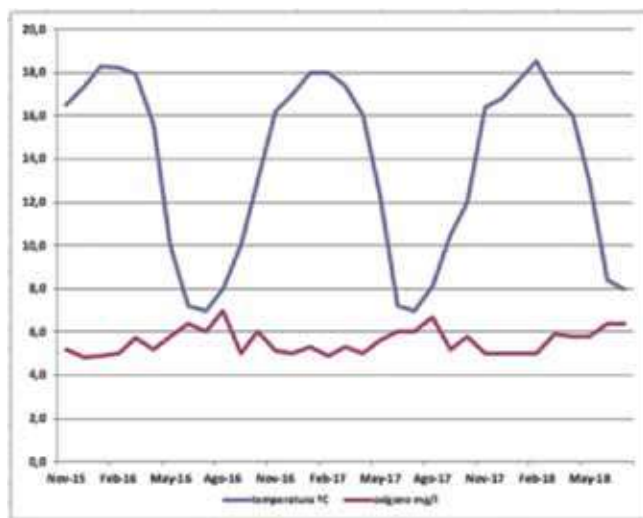


Figura 6. Variación de temperatura y oxígeno en el cultivo de trucha arcoíris en el Centro de Cultivo Pukará de Copaquilla.

Los rangos de amonio nítrico y nítrico en el agua se mantuvieron en los rangos permisibles para el cultivo, el nítrico es el producto final de la nitrificación y es el menor tóxico de los componentes nitrogenados, con valores de  $CL_{50}$  96-h que generalmente exceden los 1.000 mg  $NO_3$ -N/L. En los sistemas de recirculación, los niveles de nítrico son generalmente controlados mediante intercambio diario de agua. En los sistemas con poco intercambio de agua o largos tiempos de retención hidráulica como lo es el Centro de Cultivo Pukará de Copaquilla, la desnitrificación es cada vez más importante (Timmons, et al., 2009).

El crecimiento de las truchas en el Centro de Cultivo Pukará de Copaquilla desde su llegada a la planta a mostrado una adaptación importante, lo que ha permitido un desarrollo sano y medianamente rápido. El cultivo no ha estado ajeno a diferentes problemáticas propias del cultivo, si no también a variables climáticas y a la constante adaptación del sistema en localidades precordilleranas con altura por sobre los 3000 msnm.

La figura 7 muestra el crecimiento de trucha en el sector Copaquilla. Los puntos de la baja de crecimiento, que se aprecia en la gráfica fueron producto de la cosecha de los peces mas grandes, lo cual acusa un bajo promedio.

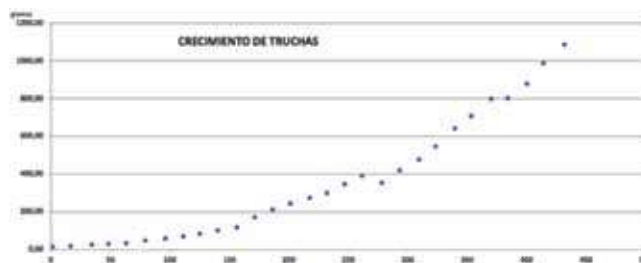


Figura 7. Crecimiento de trucha arcoíris en el centro de Cultivo Pukará de Copaquilla.

## PRIMER DESOVE E INCUBACIÓN DE TRUCHA EN EL CENTRO DE CULTIVOS PUKARÁ DE COPAQUILLA

En agosto del 2017, las truchas de 15 gramos promedio llegadas de la Piscicultura de Río Blanco tuvieron su primer desove, una vez desovadas las hembra y fecundados por los machos se procedió al lavado de los huevos con agua limpia para ser depositados en bandejas adaptadas para su incubación, en la cual se encontraban en los estanques de aproximadamente 550 litros, las primeras 48 horas las bandejas fueron limpiadas de huevos muertos para posteriormente dejarlos sin manejo hasta la etapa embrionaria de ojo (Blanco, 1994). Cerca de 15.000 huevos fueron fecundados e incubados, llegando solo 5500 huevos a larvas (Fig. 8) 3.500 a juveniles y 2.400 a adultos de 160 gramos a junio del 2018.

La temperatura del agua en las bandejas de incubación varió entre 7 a 10 grados por la noche y entre 12 a 15 grados por el día (Fig. 9).

Una vez que el huevo eclosionó se mantuvieron por 20 a 25 días en los estanques de incubación para posteriormente ser trasladados a estaques de alevinaje de 450 litros (Fig. 10) aquí permanecieron durante un mes aproximadamente, para posteriormente ser trasladados a un estanque de 40 m<sup>3</sup>, lo cual han permanecido hasta la fecha, realizando desdobles y graduación. Actualmente se encuentra distribuidos en tres estanques con peso promedio de 160 gramos.

## PERPECTIVAS DE VIABILIDAD Y SOSTENIBILIDAD DEL CENTRO DE CULTIVO PUKARÁ DE COPAQUILLA

El cultivo de truchas en el sector de Copaquilla no ha estado ajeno a problemáticas propias de una piscicultura ni menos a las condiciones climatológicas de un sector que se encuentra a 3.000 msnm.

Sistemas de recirculación inmaduro, proliferación masiva de microalgas, acumulación de materia orgánica en el fondo del estanque cabecera, fueron problemas recurrentes al principio del cultivo, llevándonos a situaciones extremas de sobrevivencia de los peces. Uno de los factores naturales más preocupantes es el invierno altiplánico, el cual trae lluvias y días nublados que afecta el funcionamiento eficiente de los paneles solares, sistema del cual depende el ejercicio energético de los equipos (bombas, blower, generador de oxígeno, etc.).

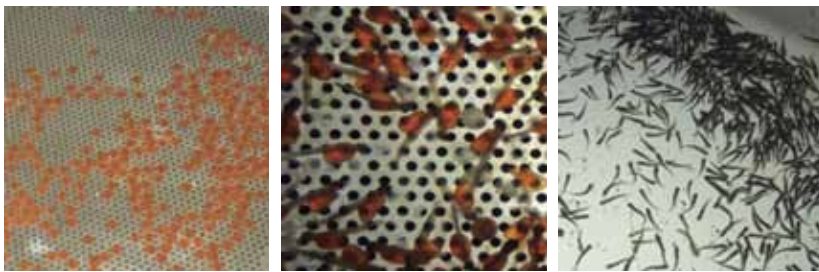


Figura 8. Huevos, larvas y juveniles de trucha arcoíris en el Centro de Cultivo Pukara de Copaquilla.

La implementación de un sistema acuícola en la región precordillerana permitió difundir el conocimiento de la misma y ver su viabilidad bajo las condiciones de contorno (calidad del agua obtenida) para implementar en un futuro este tipo de tecnología a gran escala, tanto para sistema de cultivo de trucha u otras especies. Por tanto, se constituye en un medio, por el cual las empresas y emprendedores pueden obtener recursos de inversión que permitan la instalación de nuevas empresas. Lo anterior, se sustenta en la necesidad de diversificar la acuicultura y de la necesidad de la región en promover la acuicultura, que se ha insertado como eje estratégico de la región de Arica y Parinacota. Además, esta tecnología acuícola es altamente adecuada para su acoplamiento con energía solar, como se ha demostrado en el actual proyecto.



Figura 10. Estanques de alevines de trucha.

Esta iniciativa, además propone un potencial de emprendimiento e innovación mediante la instalación de la acuicultura y capacitación de personal en la región capaz de operar el cultivo, realizar análisis de la calidad del agua, etc. Esto a su vez, permitiría realizar nuevos estudios de instalaciones, producción diaria promedio anual, entre otras, complementando otros estudios relacionados a actividades económicas

donde la acuicultura cumpla un rol importante. Los equipos instalados, permitirán continuar con el procedimiento generando externalidades positivas como la realización de prácticas con alumnos de liceos o estudiantes universitarios.

Por último, el proyecto cuenta con una importante oportunidad de negocio para las PYMES de la región, que, por un lado, consideran la acuicultura en las comunidades aledañas y, por otro, para la sustentabilidad y funcionamiento permanente de la producción acuícola. En general, este proyecto generará un valor añadido muy importante que ayudará al fomento y potenciación de pequeñas empresas. Respecto a las medidas de mitigación asociadas al medioambiente y prevención de riesgos, se destaca



Figura 9. Bandejas de Incubación.

que el proyecto es totalmente sostenible desde un punto de vista medioambiental, ya que permite la reutilización del agua. Por otra parte, con esta actividad productiva se pretende evitar la migración de los jóvenes de sus pueblos originarios. Finalmente, la instalación del cultivo y demás equipos, no crea impacto visual importante en el proyecto por cuanto se encuentra dentro de un espacio pequeño similar a las estructuras de la localidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco, M. 1995. La Trucha, Cría Industrial. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid-España. 503. pp.
2. Bravo, S. & A. Strappini. 2018. Bienestar Animal en la Producción de Salmones en Agua Dulce. Revista Versión diferente. N° 28, año 15, 19-22 pp.
3. Timmons, M. J. Ebeling, R. Piedrahita. 2009. Acuicultura en Sistemas de Recirculación. NRACE Publication N° 101-209 Spanish. 959 pp.

## AGRADECIMIENTOS

La presente investigación fue realizada bajo el marco del proyecto FIC 2013, Código BIP: 30158872-0, denominado "Cultivo de Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en Sistema de Recirculación, como Alternativa Sustentable y de Desarrollo Productivo para Comunidades Precordilleranas de la Región de Arica y Parinacota" Los autores agradecen al Gobierno Regional de Arica y Parinacota por el financiamiento otorgado para la realización de esta iniciativa y a la Universidad Arturo Prat por el apoyo incondicional para cumplir con los objetivos del proyecto.



Figura 11. Equipo de trabajo. De izquierda a derecha, Mg. Renzo Pepe Victoriano (director de proyecto), Wilfredo Cataldo Díaz (representante de la Comunidad Pukará de Copaquilla), Héctor Aravena Ambrosetti (Profesional encargado de la operación del cultivo) y Cristián Chepilla Hevia (personal técnico de apoyo).



CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS DE LA UNIVERSIDAD DE ATACAMA CIC - UDA. AGOSTO 2018

## Continuidad de programa de Acuicultura a Pequeña Escala (APE) a través del cultivo de bivalvos y el desarrollo de técnicas de repoblamiento de algas pardas, en áreas de manejo de la región de Atacama

FIC-APE II - ATACAMA



Código del Proyecto BIP: 30486490-0

Proyecto financiado con recursos del Fondo de Innovación para la Competitividad, FIC-FNDR- 2016, del GOBIERNO REGIONAL DE ATACAMA aprobado por el Consejo Regional de Atacama y aportes de la UNIVERSIDAD DE ATACAMA.



### OBJETIVO GENERAL

“Fortalecer el programa de Acuicultura a Pequeña Escala (APE) a través del cultivo de bivalvos, asistencia técnica y desarrollo de técnicas efectivas de repoblamiento de algas pardas, para las AMERBs de la región de Atacama.”

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Aumentar la capacidad productiva de los beneficiarios a través de la implementación de nuevos sistemas de cultivo y entrega de semillas de bivalvos.
- ✓ Asistir técnicamente y realizar seguimiento del ciclo de cultivo de bivalvos en la etapa de engorda a los beneficiarios participantes del proyecto.
- ✓ Evaluar sustratos de fijación de esporas de *Lessonia nigrescens* (huir negro), para realizar pruebas de repoblamientos en AMERBs de la región de Atacama.
- ✓ Transferir los resultados obtenidos del proceso de asistencia

técnica y del proceso de evaluación de sustratos de fijación de *Lessonia nigrescens* (huir negro) a los beneficiarios del proyecto.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el sector pesquero-acuícola de la región de Atacama pasa por una serie de problemas asociados a las acciones de manejo, comités de manejo, mesas de trabajo, designación de cuotas, cuotas extractivas, hurtos, escaso poder de fiscalización y, principalmente, el incremento sostenido de extractores ilegales, en especial, macroalgas pardas. Estas problemáticas derivan en una presión constante sobre los recursos pesqueros, que actualmente están alcanzando niveles preocupantes de biomasa disponible para la pesca.

La última evaluación de las praderas de algas pardas huir negro en la región, (Proyecto FIP 2014-17), indica que la cuota que

se está trabajando en la Mesa de Algas Pardas de la región de Atacama está por debajo del mínimo sostenible como capacidad de carga.

En este escenario, por una parte, en la Región no existen iniciativas concretas enfocadas en el desarrollo e investigación en técnicas efectivas para ejercer acciones y planes de repoblamiento con Huiro Negro (*Lessonia nigrescens*), recurso de alto impacto para el sector artesanal. Por otra parte, es necesario indicar que el desarrollo del sector pesca y acuicultura es parte de los lineamientos estratégicos del Gobierno Regional de Atacama, ya que presenta una alta potencialidad para desarrollar dicho sector económico.

Actualmente se administran 38 áreas de manejo y explotación de recursos bentónicos, AMERB, (Fuente SERNAPESCA), los que en un futuro podrían transformarse en centros de producción de recursos bentónicos y/o productos acuícolas. Considerando que la acuicultura se puede desarrollar en algunas AMERB de manera tradicional, es decir, en torno al cultivo de bivalvos en sistemas suspendidos; y, en otras áreas de manejo, se pueden desarrollar acciones de repoblamiento de recursos, ambas se podrían considerar como actividades acuícolas, por lo tanto, se cuenta con un alto potencial para desarrollar actividades de acuicultura y repoblamiento que permitan dar sustentabilidad a las AMERB en la región de Atacama.

El interés de la Universidad de Atacama y del Centro de Investigaciones Costeras, CIC-UDA, es contribuir activamente en la disminución de las brechas expuestas, por medio de la articulación de proyectos con fondos públicos y privados que permitan el fortalecimiento de la pesca artesanal, a través de la Acuicultura en áreas de manejo y la pequeña Acuicultura de Atacama. Para ello dispone de un equipo de profesionales de gran experiencia, instalaciones costeras y concesiones acuícolas, adquiridas para tales efectos, ubicadas en el sector de El Morro en Bahía Inglesa, comuna de Caldera, donde se desarrolla investigación, producción y extensión del área marina, entendiendo que el desarrollo del sector de pesca artesanal y de cultivos marinos son una de las actividades con mayor potencial del país y del mundo.



## DESARROLLO

Desde el año 2013, el fortalecimiento y la sustentabilidad del Sector Pesquero Artesanal y Acuícola de Pequeña Escala de la Región, han sido algunos de los ejes del desarrollo de la Universidad de Atacama, el que se ha materializado con la creación del Centro de Investigaciones Costeras, CIC-UDA, unidad de producción e investigación ubicada en el sector El Morro o Cerro Ballena de la comuna de Caldera, diseñado y concebido como un centro de apoyo a la formación, capacitación, desarrollo de tecnologías y transferencia a la pesca artesanal de la región de Atacama.

La ejecución del Proyecto FIC OSTION-OSTRA APE 2, busca fortalecer a organizaciones de pescadores artesanales a través de la generación de capacidades en el capital humano en torno al desarrollo de Acuicultura de pequeña escala, esto significa concretar apoyo técnico en terreno, realizar capacitación, e investigación. Además, da continuidad en el proceso de fortalecimiento de las organizaciones que, derivados del FIC OSTION-OSTRA APE 1, están comenzando a desarrollar actividades de Acuicultura. Se trata de los STI de Caleta Pan de Azúcar, SIBUCAL, ZENTENOCORP, y el STI Flamenco 3, quienes esperan incrementar escaladamente la biomasa para aumentar la capacidad de cultivo y producción de bivalvos.

Para dar forma a los tres objetivos planteados, este proyecto abarca tres áreas estratégicas, respectivamente: Área Productiva, Área de Transferencia de las Tecnologías y Área de Investigación Aplicada (Objetivo específico 2).

El Área Productiva se está desarrollando en uno de los laboratorios del Centro de Investigaciones Costeras, CIC-UDA, en donde se producen las semillas de bivalvos que son transferidas a los beneficiarios del Proyecto. En el Laboratorio de producción de macroalgas, se producen las esporas y plántulas de Huiro Negro para las evaluaciones de fijación en diferentes sustratos y para las pruebas de repoblamientos en las AMERB de los beneficiarios del proyecto.





El Área de Tránsito de Tecnología, se ejecuta mediante un proceso de asistencia técnica continua para el desarrollo de acuicultura de bivalvos, a través de jornadas de capacitación y acompañamiento a los beneficiarios, enfocado en los trabajos y faenas de engorda de los bivalvos cultivados por los beneficiarios. También se realizan capacitaciones en técnicas de cultivo de algas pardas desarrolladas por los profesionales del CIC-UDA. Lo mismo ocurre con la entrega de los implementos de sistemas de cultivo suspendido, a través de un proceso de asistencia técnica continua en terreno para asegurar la correcta transferencia de las técnicas a los beneficiarios e ir logrando el escalamiento productivo de manera conjunta.

Finalmente, a través del Área de Investigación Aplicada se espera determinar las técnicas de repoblamiento apropiadas, con bases científicas, para poder proyectar futuras acciones o programas en las AMERB de la región de Atacama.

En base a los antecedentes actuales de la actividad acuícola de las organizaciones de pescadores artesanales y acuicultores de pequeña escala, en la región de Atacama, se infiere que el estado de desarrollo de la actividad APE-AMERB, se encuentra en la fase inicial de la curva de aprendizaje, razón por la cual este proyecto fortalece e incorpora a más actores de la pesca artesanal en esta actividad, eje estratégico del Gobierno Regional de Atacama.

## RESULTADOS

Hasta la fecha se han obtenido los siguientes resultados:

- 1.- Aumento de la capacidad productiva de los beneficiarios a través de la implementación de nuevos sistemas de cultivo y entrega de semillas de bivalvos.
- 2.- Asistencia técnica y seguimiento del ciclo de cultivo de bivalvos en la etapa de engorda a los beneficiarios participantes del proyecto.
- 3.- Evaluación de sustratos de fijación de esporas de *Lessonia nigrescens* (huir negro), para realizar pruebas de repoblamiento en las AMERBs de la región de Atacama.

Los resultados de las actividades realizadas, al momento de esta crónica, reflejan la efectividad del proyecto, entregando a los beneficiarios, más de 200.000 semillas de Ostión del Norte y comenzando la etapa de entrega de las semillas de ostra japonesa. Se espera que ambos proyectos logren establecer las bases para que más organizaciones de pescadores, buzos y recolectores de la región de Atacama, encuentren en la actividad acuícola, una fuente de diversificación productiva y sustentabilidad de sus áreas de manejo, de esta forma las organizaciones y sus asociados puedan contar con alternativas ante la inminente baja en los desembarques pesqueros los cuales, también están cada vez más restringidos, de esta forma se espera aportar a las iniciativas de gobierno que van en la dirección de fomentar la acuicultura de pequeña escala sobre todo, en las Áreas de Manejo.

## IMPACTOS ESPERADOS

- ✓ Impacto económico en los beneficiarios del proyecto, ya que las agrupaciones participantes al finalizar el proyecto tendrán una actividad de cultivadores de recursos además de extractores, por lo que podrán aumentar los ingresos económicos de los participantes de la agrupación.
- ✓ Diversificar la matriz productiva del Sector Pesca y Acuicultura de la Región de Atacama.
- ✓ Generar la articulación de nuevos proyectos acuícolas, esperando que el centro regional de producción se transforme en el centro neurálgico de proyectos enfocados a la Pesca y Acuicultura de la Región de Atacama, generando una red de trabajo a través de convenios de colaboración con los Sindicatos, los servicios públicos y privados que deseen aportar al desarrollo del sector pesquero y acuícola regional.
- ✓ Impacto social al fortalecer el capital humano regional, a través de capacitaciones teóricas y prácticas con énfasis en el sector pesca artesanal.



**UNIVERSIDAD  
DE LA FRONTERA**

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado  
Dirección Académica de Postgrado

# SOMOS LÍDERES EN FORMACIÓN DE CAPITAL HUMANO AVANZADO EN EL SUR DE CHILE

— **10 DOCTORADOS**

— **28 MAGÍSTER**

— **34 ESPECIALIDADES**



- DOCTORADO EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES
- DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN BIOLOGÍA CELULAR Y APLICADA

**ACREDITADOS INTERNACIONALMENTE**



[www.ufro.cl](http://www.ufro.cl)



[ufro.temuco](https://www.facebook.com/ufro.temuco)



[@ufrofrontera](https://twitter.com/ufrofrontera)



+569 67610218



[vrip.ufro.cl](http://vrip.ufro.cl)



[vripufro](https://www.facebook.com/vripufro)



[@vripufro](https://twitter.com/vripufro)

[postgrado.ufro.cl](http://postgrado.ufro.cl)

# *Concholepas concholepas:* Mantención en sistemas de recirculación, cultivo e innovación



Mario Lody Cortes, Fabián Castillo Barahona, Leonel González Cortes & Carlos Riquelme Salamanca.  
Unidad de Recirculación en Cultivos larvales (URCL), Centro de Bioinnovación (CBIA), Universidad de Antofagasta.

## Antecedentes generales de *Concholepas concholepas*

El Loco "*Concholepas concholepas*" es un molusco gastrópodo de amplia distribución en Chile (Castilla, 1987), considerado un recurso biológico de importancia científica así como producto de consumo nacional y más recientemente, ha entrado en el mercado internacional como sustituto del abalón, tal situación generó un incremento fuerte de su explotación desde la década de los 70 s, generando poco tiempo después el agotamiento del recurso y la implementación de diversas metodologías de manejo que culminaron con la creación de las Áreas de Manejo de Recursos Bentónicos (AMERB) y con la veda de la especie en casi todo el territorio nacional.

El Loco forma agregaciones con fines reproductivos y alimentarios, habita en el intermareal rocoso, entre los 0 a 50 m de profundidad, observándose una segregación por talla, donde la fracción juvenil se encuentra en zonas menos profundas. *Concholepas concholepas* son dioicos, sin dimorfismo sexual, presentan diferentes épocas de desove a lo largo del país, atribuible a la variación latitudinal de temperaturas. Presenta fecundación interna y las hembras producen embriones fecundados que son depositados en capsulas y adheridas a sustratos rocosos, de estas capsulas emergen las larvas Veliger (Lozada et al, 1976, Castilla & Cancino 1976, Lepez 1987). Su ciclo de vida se desarrolla en el ambiente pelágico en la fase larval y béntico en la fase juvenil adulta. Es una especie de bajo desplazamiento, lento crecimiento y gran longevidad, alcanzando la talla de primera madurez a longitudes peristomiales entre 40 a 60 mm (3 a 6 años de edad dependiendo de la latitud). Se alimenta principalmente de presas vivas, tales como almejas, picorocos, mitílidos y tunicados aunque puede actuar como carroñero (Moreno & Reyes, 1988).

## Situación actual de la pesquería de *Concholepas concholepas*

La industria del loco se basa principalmente en la extracción de bancos naturales y de áreas de manejo. A nivel mundial, Chile y Perú son los únicos productores. En ambos países los desem-

barques son bastante menores a las cifras máximas históricas. Uno de los aspectos que más resalta en la extracción, es que ha variado en diferentes tiempos y a dependido de la demanda como de los regímenes de extracción.

Las medidas de administración vigentes (Normativas) para el loco son: D.Ex. nº 1811 de 2013; D.Ex. Nº 102 de 1987; RES. Ex.Nº1754 de 2008; D.Ex. Nº 409 de 2003; D.Ex. Nº344 de 2012 (modificado por D. Ex. Nº515 de 2014); D.Ex. Nº 793 de 2016. Y la más influyente y determinando de la situación actual sobre el desabastecimiento del recurso loco desde las áreas de manejo es el D. Ex. Nº820 de 2017 que establece una veda extractiva para el recurso loco por un período de 5 años a partir del presente año correspondiente al 1 de enero de 2018 hasta el 31 de diciembre del 2022.

## Áreas de Manejo

Actualmente las áreas de manejo representan casi el 93% del desembarque total del Loco en el 2016 y la industria del loco se basa principalmente en la extracción de bancos naturales y de

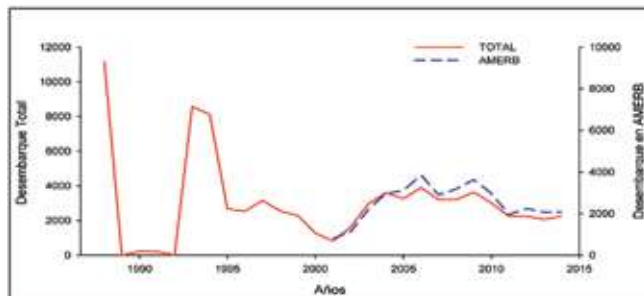


Figura 1. Desembarque de *Concholepas concholepas* (Anuario Sernapesca, 2016).

las áreas de manejo.

En el 2009, hubo una disminución en los desembarques hasta 2011, para posteriormente estabilizarse en torno a las 2.000 toneladas. Considerando el desarrollo de la pesquería antes expuesto, se puede decir que las AMERB han permitido incrementar y estabilizar los desembarques del recurso, por lo menos hasta 2009, pero luego presenta una reducción y una nueva estabilización entre el 2011 y 2013, con capturas entre 2.255 y 2.065 toneladas desembarcadas. Actualmente, el aporte a estos desembarques proviene de las regiones X y IV que representan el 47% y 22 % (Anuario Sernapesca, 2010-2014).

Figura 2. Desembarques de *Concholepas concholepas* en Chile. (Anuario Sernapesca, 2016).



### Ciclo de Vida de *Concholepas concholepas*

El ciclo de vida de *Concholepas concholepas* comprende un desarrollo intracapsular que dura 40 días que posteriormente eclosiona una larva veliger (Gallardo, 1973) y da comienzo a la fase larval pelágica y planctotrófica, utilizando el velo en doble función en la natación y filtración de alimento. Esta fase presenta una duración estimada de al menos 2 meses en la naturaleza (Gallardo, 1979), cuando la larva alcanza una talla entre 1500 a 1800 micras, comienzan los cambios morfológicos, tales como, pérdida del velum, extensión de tentáculos y arrastrarse sobre el pie, son todas características indicativas de la metamorfosis, que da paso a un estado juvenil bentónico (DiSalvo & Carriker, 1994; Reyes & Moreno, 1990). Pudiendo observar cambios de tipo conductuales, anatómicos y metabólicos (Bustos E. & Navarrete F., 2001). Una vez asentados, los juveniles permanecen en el intermareal (Moreno et al. 1986)



Figura 3. Estanques de Cultivo con los reproductores de *Concholepas concholepas*.

o bien realizan migraciones hacia el submareal a medida que aumentan de tamaño (Oliva & Castilla, 1990).

La propuesta de investigación generado por la Universidad de Antofagasta a través del Proyecto IT15110066 ha sido generar el desarrollo del cultivo larval de *Concholepas concholepas* desde la mantención de reproductores y obtención de cápsulas sostenidos bajo un sistema de recirculación y utilización de microorganismos autótrofos y heterótrofo para el desarrollo del cultivo larval y la obtención de semillas bajo un sistema continuo.

### LOGROS DESARROLLOS EN HATCHERY Mantención de reproductores

Los reproductores son mantenidos en 6 estanques de 700 L (Fig. 3) conectados a un sistema de recirculación de agua (SRA) constituido por un estanque sedimentador, sistemas de filtración mecánica de 10 micras con filtros de 19 (pulg), bomba híbrida para mantener la temperatura a 18°C, Biofiltro de 1500 L, estanque Sump de 700 L y dos estanques acumuladores de 7000 L. La distribución de agua se realiza con tres bombas de 0,5 Hp (modelo Silen, Marca Espa) instaladas en los estanques sedimentador, sump y acumuladores. Todo el sistema contiene un volumen total de 40m<sup>3</sup> con un caudal de recirculación de 110 lpm, ingresando un 5% de total de agua en circulación. Los reproductores son alimentados una vez por semana con una ración de alimento vivo de choritos (*Perumytilus purpuratus*) con una cantidad de 3 kg/estanque. Los choritos son suplementados con microalgas de colección a una concentración de 1x10<sup>6</sup> cell/ml un día antes de ser suministrado los choritos al estanque de los reproductores. La temperatura del agua de circulación es de 18 ± 1°C, y la calidad del agua es monitoreado semanalmente.

Un grupo de 30 reproductores fue monitoreados durante 9 meses para establecer crecimiento, alimento ingerido y N° Hembras colocando cápsulas con el objetivo de conocer el comportamiento de los reproductores bajo un sistema de recirculación y obtener una cantidad de cápsulas disponibles para generar la investigación del cultivo larval (Fig. 4).

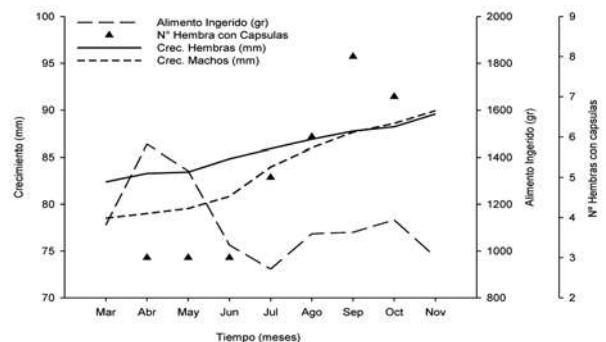


Figura 4. Crecimiento de machos y hembras, alimento ingerido (gr) y N° de hembras colocando cápsulas de *Concholepas concholepas* durante 9 meses.



Figura 5. Capsulas en recipientes en proceso de incubación y capsulas maduras.



### Mantenimiento de cápsulas

Las capsulas obtenidas desde los estanques son separadas por intensidad de color entre maduras e inmaduras, y distribuidas en recipientes con aireación suave y recambio de agua, conectados al sistema de recirculación de los reproductores para posteriormente ser utilizadas (Fig. 5). Variados estudios han demostrado los efectos del oxígeno y la temperatura sobre el desarrollo de embriones de invertebrados dispuestos en cápsulas o huevos como en cangrejos (Baeza & Fernandez, 2002; Lardies & Fernández, 2002; Brante et al., 2003). En estudios previos de nuestro equipo de trabajo la mantención de las capsulas es fundamental para obtener mejores tallas de eclosión, ya que durante 30 días de incubación con una temperatura media de  $15,66 \pm 1,49^\circ\text{C}$ , porcentaje de saturación de oxígeno disuelto de 85,84% se obtuvieron al final del período de incubación, una talla de eclosión promedio de  $259,65 \pm 2,30 \mu\text{m}$  talla significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor al resto de los tratamientos.



### Cultivo de microalga y Protozooplancton.

Las microalgas utilizadas son cepas de colección y cultivadas en volúmenes intermedios 20 L y en bolsas de 500 L para sostener el cultivo larval. En el caso del protozooplancton *Oxyrrhis marina* fueron cultivados en botellones de vidrio de 20 L. (Fig. 6).

### Desarrollo del Cultivo larval y escalamiento

El cultivo larval se inicia con la siembra en los estanques de 300 L utilizando capsulas maduras, cortando el ápice con una tijera esteril y agregando una cantidad de larvas en un recipiente de volumen conocido con agua de mar filtrada. Se realiza el conteo de las larvas por triplicado para establecer la cantidad larvas presente por capsulas y la densidad de siembra inicial. Las larvas son agregadas en los estanques a una densidad promedio de 300 larvas/L es decir 90.000 larvas/estanque. El cultivo es mantenido con aireación suave y continua, junto con recambios de agua diarios. La larvas son alimentadas con una mezcla de microorganismos autotrofos y heterotrofos como: *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricornutum* y *Polyphidium* sp a una concentración de 3000 cel/ml y el microorganismo heterotrofo utilizado es *Oxyrrhis marina* a una concentración de 20 cel/ml. Las larvas son mantenidas en cultivo en los estanques de 300 L por 15 días en una sala temperada y agua de mar filtrada a 50, 20, 10 y 5 micras, Skimmer de caudal de 1500 L/h y luz ultravioleta rango bacteriológico, posteriormente son transferidas a los estanques de 5000 L para continuar con el cultivo ( Fig. 7). Como resultado utilizando esta metodología se logro desarrollar el cultivo larval (Fig. 8) con una sobrevivencia significativa ( $p < 0,05$ ) al termino del cultivo.

### Mercado y Precios de *Concholepas Concholepas*

Este recurso presenta un importante demanda en el mercado asiático, principalmente en Taiwan con 48% de los envíos seguido de EEUU con 18% y Hong Kong con 12%. El formato de mayor exportación corresponde a congelado 51,57%, seguido de conserva 45,03%, en menor cantidad deshidratado 0,13%, Fresco 3,26% y vivos 0,01%. Los precios de exportación a partir del 2011 presentaron un incremento manteniéndose en torno a los US 21/Kg en los últimos tres años. El producto con mayor valor durante el periodo 2007 a 2014 fue el deshidratado con un precio promedio de US\$115, pero con una exportación de 9,2 Ton. El producto fresco es el que presenta menores precios y sin continuidad en los envíos.

Figura 6. Cultivo de microalgas en intermedios, cultivo en bolsas y cultivo de Protozooplancton (*Oxyrrhis marina*).



Figura 7. Sala de cultivo estanques de 300L (A) y cultivo en estanques de 5000L (B).

Los productos congelados tuvieron una fluctuación de precios entre 12,3 US\$/Kg a 21,5 US\$/Kg con un máximo el 2014 y el producto enlatado tuvo precios que variaron entre 14 US\$/Kg a 21, 8 US\$/Kg con exportaciones que oscilaron entre 234 a 566 Ton. Datos obtenidos hasta noviembre de

2014, establecen un incremento de precios del recurso en los formatos enlatados y congelados superando los 21 US\$/Kg.

### Proyecciones del cultivo de *Concholepas concholepas*.

Actualmente contamos con semillas desarrolladas en nuestro laboratorio, sin embargo, el desafío aun están en mejorar la sobrevivencia larval, la cual todavía es baja de 0,03%, o desarrollar el escalamiento a volúmenes mayores para aumentar la cantidad de semillas y un suministro de larvas competentes

Para estabilizar los desembarques es fundamental consolidar la tecnología de hatchery de tal manera de reducir las mortalidades a través de un manejo adecuado de la calidad de agua y optimizando la tecnología del cultivo larval desarrollada pasando de un nivel piloto a uno de escalamiento. El escalamiento será una herramienta clave para incrementar el número de semillas de esta recurso. Una alternativa podría ser factible es la liberación de una cantidad de larvas competentes en forma periódica en las áreas de manejo.

### REFERENCIA

- Baeza JA, Fernández M (2002). Active brood care in Cancer setosus (Crustacea:Decapoda). The relationship between female behavior, embryo oxygen consumption and the cost of brooding. *Funct Ecol* 16:241-251.
- Brante A, Fernández M, Eckerle L, Mark F, Pörther H, Arntz W (2003) Reproductive investment in the crab cancer setosus along a latitudinal cline: egg production, embryo losses and embryo ventilation. *Mar Ecol Prog Ser* 251:221-232.
- Bustos E, Navarrete F (2001). Manual: El cultivo del loco *Concholepas*

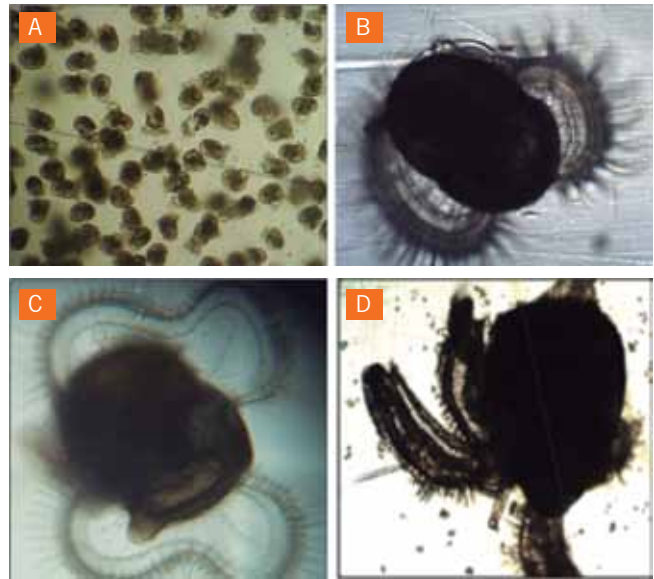


Figura 8. Larvas veligeres tempranas (A), Larva veliger de 20 días (B), Larva de 35 días (C), Larva competente de 1300 micras (D).

*concholepas*. Proyecto: FONDEF D96I1101. IFOP, Chile. 32.

Castilla JC (1987) Islas oceánicas chilenas: conocimiento científico y necesidades de investigaciones. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 353.

Castilla JC, Cancino J (1976) Spawning behaviour and egg capsules of *Concholepas concholepas* (Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Mar Biol* 37:255-263.

Disalvo LH, Carriker MR (1994) Planktonic, metamorphic, and early benthic behavior of the Chilean loco *Concholepas concholepas* (Muricidae, Gastropoda, Mollusca). *J. Shellfish Res*, 13: 57 - 66.

Gallardo C (1973) Desarrollo intracapsular de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) (Gastropoda, Muricidae). Publicaciones Ocasionales N° 16, Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile, 16.

Gallardo C (1979) Ciclo vital del Muricidae *Concholepas concholepas* y consideraciones sobre sus primeras fases de vida en el bentos. *Biología Pesquera*, Chile, 12: 79 - 89.

Lardies MA, Fernández M (2002) Effect of oxygen availability in determining clutch size in *Acanthina monodon*. *Mar Ecol Prog Ser* 239:139-146.

Lopez MI (1987) Ecología intermareal de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) bajo dos regímenes de intervención antrópica. Tesis de Magister en ciencias, Mención Ecología. Fac. Ciencias. Universidad Austral de Chile. 136.

Lozada E, López EM, Desquerox R (1976) Aspectos Ecológicos de poblaciones Chilenas de Loco *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) Mollusca: Gastropoda: Muricidae). *Biología Pesquera* (Chile) 8:5-29.

Moreno CA, Reyes AE (1988) Densidad de *Concholepas concholepas* (Mollusca) en la Reserva Marina de Mehuin: Evidencia de fallas en el reclutamiento. *Biología Pesquera*:17: 31-38.

Moreno CA, Lunecke, KM, Lopez ML (1986) The response of an intertidal *Concholepas concholepas* (Gastropoda) population to protection from Man in southern Chile and the effects on benthic sessile assemblages. *Oikos*, 46: 359 - 364.

Oliva D, Castilla JC (1990). Repoblación natural: el caso del loco *Concholepas concholepas* (Gastropoda: Muricidae), en Chile central. *Cultivo de Moluscos en América Latina. Memorias Segunda Reunión Grupo de Trabajo Téc.* A. Hernández (ed.): 273 - 295.

Reyes EA, Moreno CA (1990) Asentamiento y crecimiento de los primeros estadios bentónicos de *Concholepas concholepas* (Mollusca: Muricidae) en el intermareal rocoso de Mehuín, Chile *Revista Chilena de Historia Natural* 63:157-163.



# Desarrollo de un Kit multi-locus para llevar a cabo la identificación de la especie de mejillones de importancia comercial del género *Mytilus*



Genomics



María Angélica Larraín B.<sup>1</sup>, Felipe Jilberto V.<sup>1</sup>, Matías Sepúlveda N.<sup>1</sup>, Marianela Quintrel C.<sup>1</sup> y Cristián Araneda T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

## Introducción

En Chile la mitilicultura es una actividad económica relevante, a nivel mundial nuestro país es el segundo productor después de China y el primer exportador de mejillones [1]. *M. chilensis* es el mejillón endémico presente a lo largo de la costa del país, sobre el que se basa la industria nacional. Su status como especie se ha reforzado por diversos estudios que muestran que es genéticamente distinto de mejillones como *M. edulis* (Mejillón del Atlántico), *M. galloprovincialis* (Mejillón del Mediterráneo), *M. trossulus* (Mejillón de Bahía) [2] y *M. platensis* (Mejillón del Atlántico Sur) [3]. Las principales especies de importancia comercial son *M. chilensis*, *M. edulis* y *M. galloprovincialis*, estas dos últimas son producidas principalmente en el hemisferio norte, pero su presencia también se ha descrito en las costas de nuestro país: *M. edulis* en la zona del Estrecho de Magallanes [4] y *M. galloprovincialis* en el Golfo de Arauco [5].

La presencia de *M. galloprovincialis* resulta alarmante porque es considerada una especie altamente invasora [6,7]. Preocupa que pueda expandirse desde su ubicación actual en la zona del Golfo de Arauco, hacia la región de los Lagos donde se concentra la mitilicultura nacional, pudiendo tener un impacto ecológico sobre las poblaciones de *M. chilensis* al generar híbridos entre ambas especies, reduciendo la distribución natural del mejillón endémico, como se ha descrito en distintas partes del mundo [8–10]. Esto podría afectar la capacidad productiva de la industria o las exportaciones a mercados como la Unión Europea, cuya legislación exige declarar en el rotulado de los productos, el nombre científico y común de la materia prima [11].

La identificación de la especie en el género *Mytilus* basándose en características morfológicas, como el tamaño o color de la concha, no resulta simple de realizar debido a que estos caracteres son semejantes entre géneros y especies; además de ser altamente variables (plasticidad fenotípica) dentro de una

misma especie [12]. Es importante considerar que una parte de los productos que se encuentran en el comercio están sin su concha, lo que dificulta realizar la identificación analizando la morfología [13]. Para solucionar este inconveniente se han desarrollado metodologías basadas en el análisis de ADN, proponiéndose distintas zonas del genoma, tanto nucleares como mitocondriales, para identificar la especie del mejillón [14–18]. Cuando la identificación se realiza analizando un solo locus por separado (aproximación mono-locus), se han obtenido resultados inconsistentes entre marcadores [19–21] y no todos logran identificar las especies de mejillón de una sola vez. Por lo anterior, recomendamos basar la identificación en análisis simultáneo de varios lugares (loci) del genoma del mejillón en una aproximación multi-locus.

Actualmente, gracias al avance de las herramientas de secuenciación masiva (NGS – Next Generation Sequencing) se han desarrollado paneles de marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) para distintas especies de este género [3,22,23]. Estos paneles de entre 58 a 84 SNP han sido usados en una aproximación multi-locus para la identificación de la especie, mostrando ser una alternativa confiable [2,3]. Sin embargo, debido al alto número de SNP que componen estos paneles, su uso en un laboratorio de diagnóstico, no resulta viable. Se hace necesario reducir el número de SNP que se deben analizar, seleccionando aquellos que son realmente informativos para la identificación de la especie y adaptar su uso a plataformas estandarizadas de genotipado que puedan ser aplicadas de manera rutinaria en laboratorios de servicio. En este contexto fue financiado el proyecto FONDEF ID16|10013 que tiene como objetivo general desarrollar un kit para identificar la especie de mejillones (*Mytilus chilensis*, *M. galloprovincialis*, *M. edulis* y *M. trossulus*) basado en un panel reducido de marcadores SNP con aproximación multi-locus, con una metodología de genotipado adaptada a una plataforma estandarizada y con las primeras etapas de validación superadas.

## Selección de marcadores

Se buscó seleccionar un grupo de 8 a 10 SNP que resulten ser los más informativos para la identificación de cuatro especies de mejillones (*M. chilensis*, *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y *M. trossulus*). Se trabajó con dos grupos de SNP: (a) 49 SNP identificados en *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y *M. trossulus* a partir de secuencias de EST [21,23] y (b) 74 SNP descubiertos por nuestro grupo utilizando RAD-seq en *M. chilensis* [22]. Estos SNP fueron genotipados en individuos de las cuatro especies mencionadas. Para comprobar la especie de los individuos estudiados se usó el método mono-locus basado en la proteína adhesiva polifenólica: PCR-RFLP Me15/16 [15] y PCR-HRM PAMP [16]. Para seleccionar los loci más informativos se aplicaron tres criterios: (i)  $F_{ST}$  outliers usando el programa LOSITAN [24] configurado según Araneda y cols. [22](ii) Frecuencia del alelo menor en cuatro niveles (MAF 0.4, 0.3, 0.2, 0.1) y (iii) Loci que maximizan la asignación individual a especie identificados por el programa BELS [25], así se obtuvieron doce paneles reducidos de SNP, a los que se les evaluó el desempeño usando métodos de asignación bayesianos implementados en el programa GeneClass2 [26] (Tabla 1).

**Tabla 1:** SNP seleccionados por cada criterio, número y % de individuos correctamente asignados a especie en cada grupo de SNP.

\*: N° de individuos correctamente asignados a la especie a la cual pertenecen.

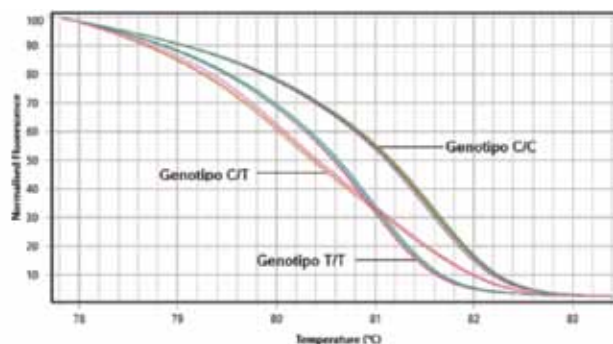
Criterio	(a) Zbawicka BM			(b) Araneda UCh		
	N° de loci	N° individuos*(%)		N° de loci	N° individuos*(%)	
Dataset original	49	309	(99.4)	90	363	(94.0)
$F_{ST}$ outliers	11	287	(92.3)	27	363	(94.0)
MAF>0.1	24	309	(99.4)	47	363	(94.0)
MAF>0.2	16	309	(99.4)	45	362	(93.8)
MAF>0.3	13	308	(99.0)	41	362	(93.8)
MAF>0.4	3	197	(63.3)	33	360	(93.3)
BELS	19	300	(96.5)	17	334	(86.5)

Usando la totalidad de los SNP de los grupos (a) y (b), el 99.4% y 94.0% de los individuos respectivamente, fueron asignados correctamente a la especie a la que pertenecen. Este porcentaje de asignación correcta se mantuvo usando solo 16 SNP seleccionados del grupo (a) como más informativos por el criterio MAF>0.2 y 27 SNP seleccionados del grupo (b) por el criterio de  $F_{ST}$  outliers.

## Estandarización del genotipado de SNP

Se continuó trabajando con 12 SNP que habían sido identificados como más informativos por más de un criterio, adaptándolos a la plataforma estandarizada de genotipado "High Resolution Melting". Esta tecnología, a través de las curvas de disociación (Figura 1) entrega resultados de forma económica, rápida y adecuada para la aplicación rutinaria en laboratorios pequeños con bajo volumen de muestras [27]. Para ejecutar este método se requiere de un equipo de PCR en tiempo real con análisis de

HRM, los reactivos necesarios son de química libre por lo que no se está limitado a un solo proveedor, permitiendo bajar los costos de reactivos e insumos del ensayo (~\$500 por SNP). Este ensayo también es susceptible de ser acreditado por normas como la ISO17025.



**Fig. 1.** Curvas de disociación para el SNP BM6C (C/T). Cada curva corresponde a uno de los tres genotipos posibles.

Se genotiparon los 12 SNP en un número reducido de individuos de las cuatro especies de interés (20 en total, cinco por especie), asignando correctamente la especie en el 99% de los casos. Posteriormente se usaron estos individuos como línea base, lográndose asignar correctamente a especie el 100% los individuos analizados por Zbawicka (a) y el 99,74% de los analizados por Araneda(b) en sus estudios.

## Evaluación del desempeño del panel de SNP seleccionado

Para evaluar el método propuesto como test diagnóstico, se genotiparon 34 individuos de cada una de las especies que el método busca detectar ( $n=136$ ), además de 40 individuos de especies cercanas al género *Mytilus* (*Peromytilus purpuratus* y *Semimytilus algosus*) y 40 individuos de especies comunes en alimentos (Cholga – *Aulacomya atra* y Choro Zapato – *Choromytilus chorus*) con el fin de descartar que el método produzca una identificación errónea por la presencia de estas especies. La asignación fue realizada, al igual que en los casos anteriores, con el programa GeneClass2. Se calcularon los parámetros de **Sensibilidad** (S), que corresponde al número de individuos en los que el método identifica correctamente la especie en relación al total de individuos de esa especie analizados y la **Especificidad** (E), que corresponde al número de individuos que son correctamente excluidos de la especie en relación al número total de individuos que no pertenece a esa especie analizados. Todos los individuos pudieron ser genotipados y el 100% de ellos fue correctamente asignado a la especie, por lo mismo, la Especificidad y la Sensibilidad fueron máximas, mostrando la alta capacidad informativa del grupo de SNP seleccionados.

Para evaluar el desempeño del método desarrollado se trabaja actualmente en la etapa de validación interna, para demostrar que los procedimientos analíticos son aptos para el uso indicado, calculando los parámetros de: Selectividad, Estabilidad, Robus

tez, Eficacia, Tasa de falsos positivos y Negativos, Precisión y Limitaciones del método. Se está transfiriendo el método a un segundo laboratorio en la Universidad de Chile, donde se compararán los resultados obtenidos entre ambos laboratorios. Durante la segunda etapa de investigación tecnológica se trabajará en la transferencia de este método a laboratorios de diagnóstico para llevar el resultado de investigación desde la escala piloto a su aplicación definitiva.

## Conclusiones

Este estudio muestra que paneles reducidos de marcadores SNP, en una aproximación multi-locus, son una herramienta confiable para la identificación de la especie en mejillones del género *Mytilus*. Además, estos paneles pueden ser estandarizados a una técnica de genotipado simple de usar que permitirá su aplicación de manera rutinaria en laboratorios de análisis.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por CONICYT, mediante el proyecto FONDEF IDeA en dos etapas ID16|10013.

## Bibliografía

- Programa Estratégico Regional Industria de la Mitilicultura Mejillón de Chile [Internet]. 2018 [cited 2018 Jul 31]. Available from: [www.mejillondechile.cl](http://www.mejillondechile.cl)
- Larraín MA, Zbawicka M, Araneda C, Gardner JPA, Wenne R. Native and invasive taxa on the Pacific coast of South America: Impacts on aquaculture, traceability and biodiversity of blue mussels (*Mytilus spp.*). *Evol. Appl.* 2017;
- Zbawicka M, Trucco MI, Wenne R. Single nucleotide polymorphisms in native South American Atlantic coast populations of smooth shelled mussels: hybridization with invasive European *Mytilus galloprovincialis*. *Genet. Sel. Evol. BioMed Central*; 2018;50:5.
- Oyarzún PA, Toro JE, Cañete JI, Gardner JPA. Bioinvasion threatens the genetic integrity of native diversity and a natural hybrid zone: Smooth-shelled blue mussels (*Mytilus spp.*) in the Strait of Magellan. *Biol. J. Linn. Soc.* 2016;117:574–85.
- Tarifeño E, R. G. A. L-R, Arriagada D, Ferrada S, B. C-A, et al. Erroneous identification of the mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) as the specie, *Mytilus chilensis* (Hupe 1854) in the Bay of Concepcion, Chile. *Gayana*. 2012;76:167–72.
- Branch GM, Nina Steffani C. Can we predict the effects of alien species? A case-history of the invasion of South Africa by *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 2004;300:189–215.
- Pickett T, David AA. Global connectivity patterns of the notoriously invasive mussel, *Mytilus galloprovincialis* Lmk using archived CO1 sequence data. *BMC Res. Notes* [Internet]. *BioMed Central*; 2018;11:1–7. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3328-3>
- Crego-Prieto V, Ardua A, Juanes F, Roca A, Taylor JS, Garcia-Vazquez E. Aquaculture and the spread of introduced mussel genes in British Columbia. *Biol. Invasions*. 2015;17:2011–26.
- Kang JH, Lee JM, Noh ES, Park JY, An CM. Genetic characterization of *Mytilus coruscus* and *M. galloprovincialis* using microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 2013;12:5494–505.
- Michalek K, Ventura A, Sanders T. *Mytilus hybridisation* and impact on aquaculture: A minireview. *Mar. Genomics*. 2016;27:3–7.
- European Parliament and Council of the European Union. REGULATION (EU) No 1379/2013 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 11 December 2013 on the common organization of the markets in fishery and aquaculture products, amending Council Regulations (EC) No 1184/2006 and (EC) No 1224/2009 and repealing. *Off. J. Eur. Union*. 2013;L354:1–21.
- Krapivka S, Toro JE, Alcapán AC, Astorga M, Presa P, Pérez M, et al. Shell-shape variation along the latitudinal range of the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis* (Hupe 1854). *Aquac. Res.* 2007;38:1770–7.
- Rego I, Martínez A, González-Tizón A, Vieites J, Leira F, Méndez J. PCR technique for identification of mussel species. *J. Agric. Food Chem.* 2002;50:1780–4.
- Inoue K, Waite JH, Matsuoka M, Odo S, Harayama S. Interspecific variations in adhesive protein sequences of *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, and *M. trossulus*. *Biol. Bull.* 1995;189:370–5.
- Santaclara FJ, Espiñeira M, Cabado AG, Aldasoro A, Gonzalez-Lavín N, Vieites JM. Development of a method for the genetic identification of mussel species belonging to *Mytilus*, *Perna*, *Aulacomya*, and other genera. *J. Agric. Food Chem.* 2006;54:8461–70.
- Jilberto F, Araneda C, Larraín MA. High resolution melting analysis for identification of commercially-important *Mytilus species*. *Food Chem.* 2017;229:716–20.
- Heath DD, Rawson PD, Hilbish TJ. PCR-based nuclear markers identify alien blue mussel *Mytilus spp.* genotypes on the west coast of Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1995;52:2621–7.
- Borsa P, Rolland V, Daguin-Thiébaud C. Genetics and taxonomy of Chilean smooth-shelled mussels, *Mytilus spp.* (Bivalvia: Mytilidae). *Comptes Rendus - Biol.* 2012;335:51–61.
- Gérard K, Roby C, Bierne N, Borsa P, Féral JP, Chenuil A. Does natural selection explain the fine scale genetic structure at the nuclear exon Glu-5' in blue mussels from Kerguelen? *Ecol. Evol.* 2015;5:1456–73.
- Rawson PD, Joyner KL, Meetze K, Hilbish TJ. Evidence for intragenic recombination within a novel genetic marker that distinguishes mussels in the *Mytilus edulis* species complex. *Heredity* (Edinb). 1996;77:599–607.
- Zbawicka M, Drywa A, Smietanka B, Wenne R. Identification and validation of novel SNP markers in European populations of marine *Mytilus* mussels. *Mar. Biol.* 2012;159:1347–62.
- Araneda C, Larraín MA, Hecht B, Narum S. Adaptive genetic variation distinguishes Chilean blue mussels (*Mytilus chilensis*) from different marine environments. *Ecol. Evol.* 2016;6:3632–44.
- Zbawicka M, Sanko T, Strand J, Wenne R. New SNP markers reveal largely concordant clinal variation across the hybrid zone between *Mytilus spp.* in the Baltic Sea. *Aquat. Biol.* 2014;21:25–36.
- Antao T, Lopes A, Lopes RJ, Beja-Pereira A, Luikart G. LOSITAN: A workbench to detect molecular adaptation based on a Fst-outlier method. *BMC Bioinformatics*. 2008;9:1–5.
- Bromaghin JF. Bels: Backward elimination locus selection for studies of mixture composition or individual assignment. *Mol. Ecol. Resour.* 2008;8:568–71.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A. GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J. Hered.* 2004;95:536–9.
- Seipp MT, Herrmann M, Wittwer CT. Automated DNA extraction, quantification, dilution, and PCR preparation for genotyping by high-resolution melting. *J. Biomol. Tech.* 2010;21:163–6.

# BIVALNET:

## Tramado que Maximiza la Producción en el Cultivo de Mitílidos



**UCSC**



Centro de Investigación en  
Biodiversidad y  
Ambientes  
Sustentables

**Christian Díaz P. y Catterina Sobenes V.**

Departamento de Medio Ambiente y Energía, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Chile.

Alonso de Ribera, 2850, Concepción, Chile. Email: chdiaz@ucsc.cl

Centro de Investigación en Biodiversidad y Ambientes Sustentables (CIBAS),  
Universidad Católica de la Santísima Concepción, Chile.

### Introducción

La disponibilidad de zonas costeras protegidas del oleaje para la mitilicultura en Chile, son cada vez más escasas, y por lo tanto surge la necesidad de disponer de tecnologías para operar en zonas costeras poco protegidas del oleaje, y a su vez buscar soluciones tecnológicas que permitan maximizar el uso de la columna de agua de las actuales zonas de cultivo utilizadas para el cultivo de mitílidos.

Ante esta necesidad, se diseñó y dimensionó una unidad de crecimiento de mitilidos que permitiera maximizar el uso de la columna de agua y que fuera posible su uso en zonas protegidas y expuestas al oleaje.

### Metodología

El proceso metodológico para el diseño y dimensionamiento de una unidad de cultivo de mitilidos en el mar, comprendió la identificación de las condiciones ambientales (Stevens et al., 2008; Díaz et al., 2014). Con ellas se pudo definir las dimensiones de los elementos estructurales; paralelamente, se definieron las especificaciones de tolerancia, estabilidad de las líneas de soporte, unidad de crecimiento, y su vida útil (Díaz et al., 2011). Este proceso se basó en la metodología de diseño planteada por Berteaux (1976) (figura 1) para el modelo de diseño y dimensionamiento de un sistema de cultivo general.

Se consideró que el diseño de la unidad de crecimiento de mitilidos determinará el crecimiento y rendimiento productivo de la especie que se cultivará (Comeau et al., 2008). Las fuerzas a resistir por la unidad de crecimiento consideradas en el diseño y dimensionamiento fueron principalmente las fuerzas de gravedad

y empuje que determinan la flotación, oleaje e hidrodinámica, y el viento sobre el mar (ver figura 2 y Tabla 1).

La unidad de cultivo fue puesta a prueba in situ para la evaluación de su desempeño, crecimiento y rendimientos finales de los mitílidos, los cuales se compararon con el sistema tradicional de cuelga continua (figura 3). Para ello fueron sembradas semillas de mejillón chileno (*Mytilus chilensis*) en el sistema tradicional (C.C) y la unidad Bivalnet (C.T) el 31 octubre de 2014 y evaluado hasta el 16 de diciembre de 2015. El crecimiento de *M. chilensis* se evaluó durante el periodo de estudio con un muestreo quincenal, se tomaron 20 individuos (Lauzon-Guay et al., 2005; Drapeau et al., 2006, Díaz et al., 2011) en cada tipo de unidad de crecimiento (C.C y C.T) y separación (S1 y S2) a tres profundidades de la unidad de crecimiento (mínima (f1), media (f2) y máxima (f3)).

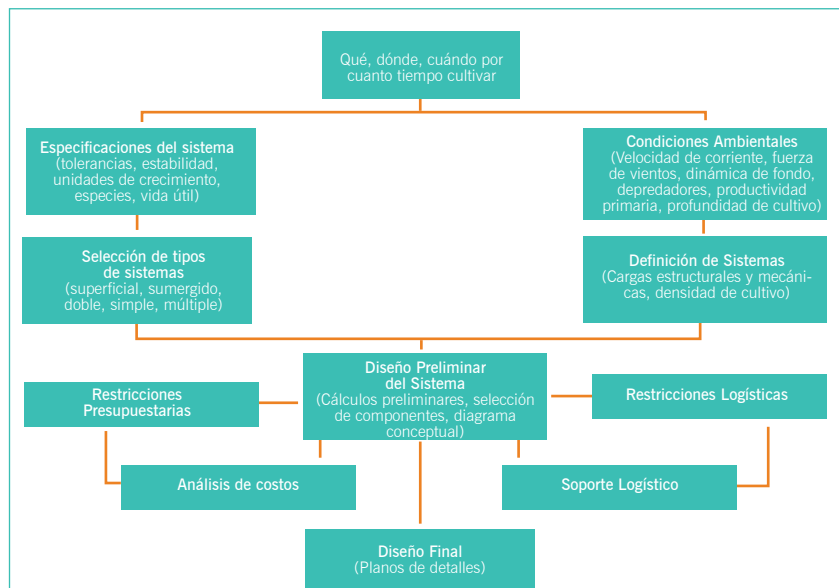


Figura 1. Metodología para el diseño y dimensionamiento de un sistema de cultivo de pequeña escala (modificado de Berteaux, 1976).

Las mediciones morfométricas medidas fueron: largo de las valvas (SL (mm)), correspondiente a la máxima longitud del eje anterior-posterior; alto de las valvas en (H (mm)), corresponde a la máxima longitud del eje dorso-ventral; y ancho de las valvas en (Wt (mm)), máxima longitud del eje lateral. Las mediciones se realizaron con un pie de metro ( $\pm 0,01$  mm). Además, con balanza se evaluó por cada ejemplar el peso total (TW) previa limpieza de incrustaciones de la concha en el exterior. El peso seco de la carne (WMW) se obtuvo después de cortar el músculo aductor, drenando el agua y secando con un papel filtro. El rendimiento (MY) fue evaluado como el rendimiento en carne calculado como  $MY(\%) = (WMW)/TW * 100$  (Okumus and Stirling, 1998). Este indicador proporciona una relación positiva del estado nutricional de los bivalvos (Drapeau et al., 2006).

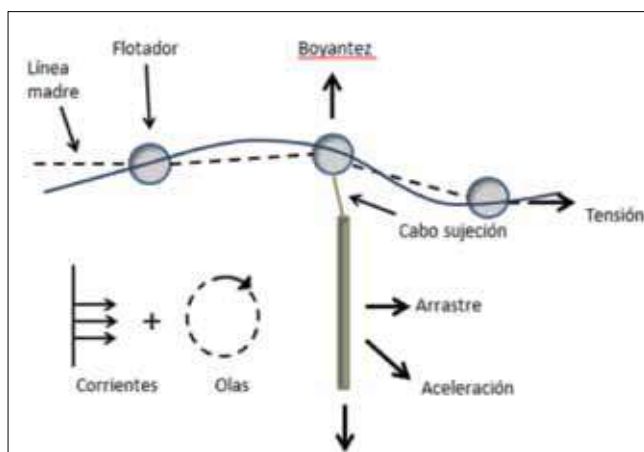


Figura 2. Diagrama de cuerpo libre de elementos estructurales representando los flotadores conectados y las unidades de crecimiento mediante un cabo de sujeción. (Fuente: Modificado de Stevens et al., 2008).

## Resultados

La unidad de crecimiento Bivalnet presentó una mayor longitud de la valva con una media cercana a los 49 mm ( $\pm 11,21$ ), con respecto a las cuelgas continuas (48,2 mm  $\pm 11,12$ ) y por último las longitudes medias del factor profundidad (P) a 2, 4 y 6 metros, fueron 48,91 mm ( $\pm 11,5$ ), 47,7 ( $\pm 11,24$ ) y 48,05 ( $\pm 10,85$ ), respectivamente, presentando una mayor talla a la profundidad de 2 metros.

Bivalnet presentó un mayor rendimiento con una media cercana al 38% ( $\pm 7,39$ ), con respecto a las cuelgas continuas (37,52%  $\pm 7,15$ ) y por último la separación de las cuelgas (S) es un factor que presentó un mayor rendimiento a los 40 cm respecto a los 50 cm (media de 38,01%  $\pm 7,25$  y 37,52%  $\pm 7$ , respectivamente).

En la figura 4 se presenta la variable largo (SL) donde en Bivalnet se observan mayores longitudes de valvas (figura 4A), sin embargo, no se observan diferencias de tamaños en la separación de las cuelgas entre 40 y 50 cm.

En la figura anterior, se observa que la tendencia de crecimiento en longitud de valvas, independientemente de la separación de cultivo es similar entre los dos sistemas de cultivo ( $p > 0,05$ ), por lo cual,

Tabla 2: Principales fuerzas consideradas en el dimensionamiento de longlines.

Componente	Descripción
<b>Flotación</b> (Berteaux, 1976)	$F = \text{Empuje} - \text{Peso cuerpo}$ $F = V_{cs} * \delta_{\text{agua mar}} - V_c * \delta_{\text{cuerpo}}$ Donde: $F = \text{Flotabilidad (kg)}$ $V_{cs} = \text{volumen cuerpo sumergido (m}^3\text{)}$ $\delta_{\text{agua mar}} = \text{densidad agua mar (1025 kg m}^{-3}\text{ promedio)}$ $V_c = \text{volumen cuerpo (m}^3\text{)}$ $\delta_{\text{cuerpo}} = \text{densidad cuerpo (kg m}^{-3}\text{)}$
<b>Hidrodinámica</b> (Fridman, 1986)	$R_h = \frac{1}{2} * C_d * r * v^2 * A$ Donde: $R = \text{resistencia hidrodinámica (kg)}$ $C_d = \text{coeficiente resistivo (según forma y dimensiones)}$ $\rho = \text{densidad másica del líquido (104,6 (kg s}^2\text{ m}^{-4}\text{) a T}^\circ = 15^\circ\text{C y S}\% = 35\% \text{)}$ $v = \text{velocidad de la corriente (m s}^{-1}\text{)}$ $A = \text{área expuesta a la corriente del cuerpo (m}^2\text{)}$
<b>Fuerza máxima por oleaje</b> (Wiegel, 2005)	$F_v = 0,5 * C_d * \mu * A * (\ )^2$ Donde: $F_v = \text{Fuerza vertical máxima por oleaje (kg)}$ $C_d = \text{coeficiente resistivo (según forma y dimensiones)}$ $\rho = \text{densidad másica del líquido (104,6 (kg s}^2\text{ m}^{-4}\text{) a T}^\circ = 15^\circ\text{C y S}\% = 35\% \text{)}$ $A = \text{área expuesta a la corriente del cuerpo (m}^2\text{)}$ $\mu = \text{velocidad ascensorial oleaje (m s}^{-1}\text{)}$
<b>Resistencia aerodinámica</b> (Van Boven, 1968, en Berteaux, 1976)	$R_v = 0,0965 * A * V_v^2$ Donde: $R_v = \text{resistencia al viento (kg)}$ $A = \text{área expuesta del cuerpo al viento (m}^2\text{)}$ $V_v = \text{velocidad del viento (m s}^{-1}\text{)}$

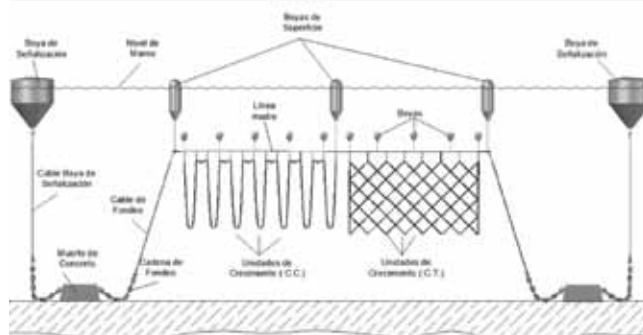


Figura 3. Esquema del prototipo de sistema de cultivo de boyas con unidad de crecimiento de cuelga tradicional (C.C) y la unidad de crecimiento de tramado diseñada Bivalnet (C.T)

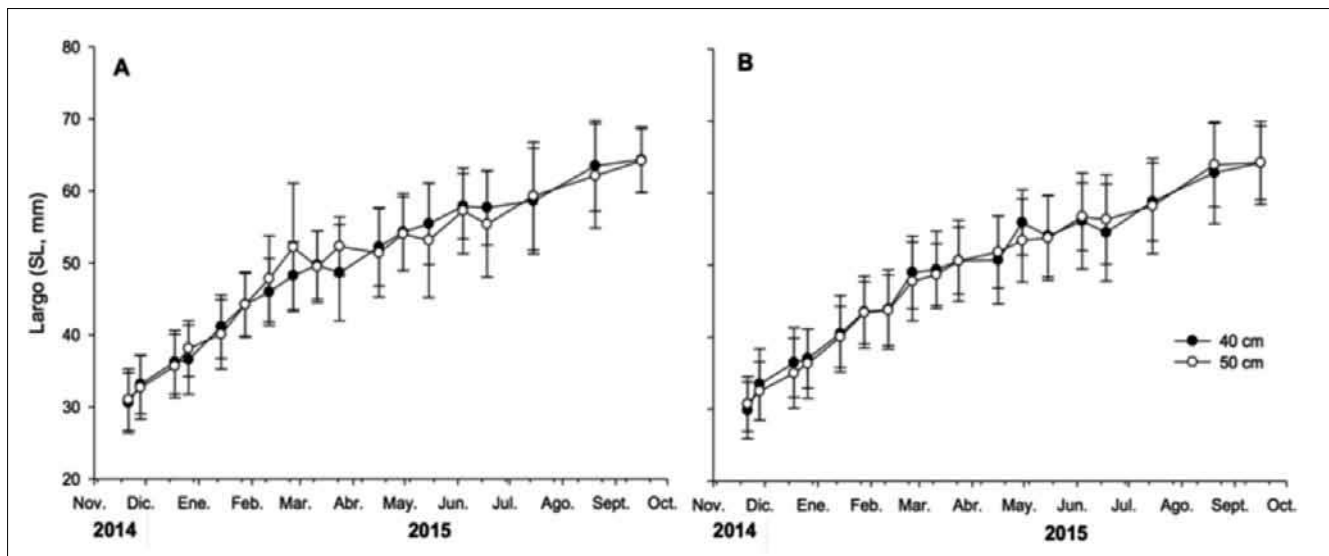


Figura 4. Medias del largo de la valva por unidad de crecimiento, considerando (A) Bivalnet y (B) cuelga continua, por separación entre las cuelgas, para el periodo de muestreo: 7-11-2014 a 16-09-2015.

para fines productivos y comerciales es recomendable cultivar a 40 cm, logrando así una mayor densidad de cultivo por hectárea.

## Conclusiones

El diseño y dimensionamiento de la nueva unidad de cultivo Bivalnet, constituye un modelo de utilidad para la acuicultura consistente en un tramado que maximiza la producción de cultivos de mitílidos (Modelo de utilidad U201830107, España).

Permite aumentar la superficie de la columna de agua, cuya tasa de crecimiento es mayor a la observada en el sistema tradicional. Bivalnet aumenta los rendimientos de producción en 1,9 veces; disminuye los desprendimientos y evita que se enreden las cuerdas; reduce los costos de mantenimiento en un 20% y los tiempos de engorda en cinco meses; y que al ser realizado el cultivo en mar abierto existe menor contacto con toxinas que puedan adquirir los moluscos, comparado con los métodos long-line utilizados actualmente. La tecnología está disponible para licenciamiento.



Figura 5. Bivalnet: tramado que maximiza la producción de cultivo de mitílidos (Modelo de utilidad U201830107, España).

### Agradecimiento:

esta investigación fue financiada por INNOVA CHILE 13IDL2-23315. Se agradece a la empresa Foodcorp S.A. y a Stevens Arenas del Sindicato de Pescadores Artesanales del Estuario del Reloncaví.

## Referencias

Berteaux, H. 1976. Buoy engineering. John Wiley & Sons, New York, 305 pp.

Comeau, L., A. Drapeau, T. Landry, J. Davidson (2008). Development of longline mussel farming and the influence of sleeve spacing in Prince Edward Island, Canada. *Aquaculture*. Vol. 281, pp. 56–62.

Díaz, C., Y. Figueroa and C. Sobenes (2011) Effect of different longline farming designs over the growth of *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) at Llico Bay, VIII Región of Bio-Bio, Chile. *Aquaculture Engineering* 45, 137-145.

Díaz, C., Y. Figueroa & C. Sobenes. 2014. Seasonal effects of the seeding on the growth of Chilean mussel (*Mytilus edulis platensis*, d'Orbigny 1846) cultivated in central Chile. *Aquaculture*, 428-429: 215-222.

Drapeau, A., L. Comeau, T. Landry, H. Stryhn, J. Da-

vidson (2006). Association between longline design and mussel productivity in Prince Edward Island, Canada. *Aquaculture*. Vol. 261, pp. 879-889.

Lauzon-Guay, J.-S., M. Dionne, M. Barbeau and D. Hamilton (2005) Effect of seed size and density on growth, tissue-to-shell ratio and survival of cultivated mussel (*Mytilus edulis*) in Prince Edward Island, Canada. *Aquaculture*. 250: 652-665.

Okumus, I. and Stirling, H., 1998. Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs. *Aquaculture* 159, 249–261.

Stevens, C., D. Plew, N. Hartstein and D. Fredriksson (2008). The physics of open-water shellfish aquaculture. *Aquacultural Engineering* 38: 145–160.



## VI CONFERENCIA LATINOAMERICANA SOBRE CULTIVO DE PECES NATIVOS

## Hacia la diversificación de la acuicultura en América Latina

**20 - 23 de noviembre de 2018**

**Piriápolis, URUGUAY**

La Universidad de la República y la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca) convocan a participar en la VI Conferencia Latinoamericana sobre Cultivo de Peces Nativos, que tendrá lugar en la ciudad de Piriápolis entre el 20 y el 23 de Noviembre de 2018.

La diversificación de la acuicultura, en particular mediante el cultivo de peces nativos, supone un motor de desarrollo económico y social que contribuye al crecimiento y el fortalecimiento de los países de América Latina en un marco de sustentabilidad.

Con el objetivo de fortalecer el desarrollo del cultivo de peces nativos en América Latina, desde el 2006 se vienen desarrollando estas conferencias con una creciente participación en beneficio de la generación de conocimiento y difusión de los avances en la temática de los distintos grupos de investigación.

Este año Uruguay tiene el honor de organizar este evento, en el cual se espera continuar avanzando en los objetivos comunes.

**Contacto:**

[pecesnativos2018@fcien.edu.uy](mailto:pecesnativos2018@fcien.edu.uy)



Más información disponible próximamente



# TiLV Enfermedad viral de alto impacto en la Acuicultura de Tilapias en el Perú; Un análisis Médico Veterinario del problema

Dr. Juan Battaglia Aljaro DMV  
Médico Veterinario  
Director Gerente Técnico AB&T PERU SAC  
juan.battaglia@gmail.com



Fotos 1 y 2. Cultivos de Tilapias en el Perú Region San Martín.

En latinoamérica, ya desde el año 2016 se observó la presencia de altas mortalidades en los sistemas de producción de Tilapias en Colombia inicialmente atribuidas a complejos bacterianos presentes en los reservorios de aguas en los cuales se practicaba la acuicultura en jaulas de estos peces, sin embargo la refractariedad de esos cuadros a los tratamientos clásicos, basados en el uso de antibióticos orientó hacia otras causas, confirmándose posteriormente que correspondía a la presencia del Virus Lacustre de la Tilapia, mas conocido como TiLV por sus siglas en inglés.

La preocupacion global por los estragos de este virus no solo dicen relación con las mortalidades sino con los impactos socio económicos que este tipo de afecciones tiene sobre las economías de las regiones en donde este pez se cria.

Se estima una produccion mundial cercana a los 4,8 millones de toneladas de este recurso con un valor superior a 7.500 millones de dólares según cifras de la FAO del 2014.

En los países africanos en los que la Tilapia es una especie silvestre sustenta pesquerías de comunidades, para las cuales este pez es la fuente de proteína animal que disponen. Se ha demostrado que la introducción del virus causa una mortalidad significativa (hasta del 80 %), lo que genera serias pérdidas económicas, tanto para los acuicultores como para los pescadores.

Este virus perteneciente a la familia Orthomyxoviridae altamente contagioso se describió por primera vez en sistemas de producción de Tilapias por Eyngor y colaboradores el 2004, es de características altamente contagioso y se puede encontrar tanto en aguas dulces como salobres, afecta a todas las variedades de tilapias

con mortalidades que pueden ir de un 10% hasta un 80% o más, mostrando ala capacidad de contagio en sistemas abiertos.

El TiLV, se suponía exclusivo de las Tilapias, sin embargo ha sido pesquisado afectando con sintomatología y diagnósticos positivos en otras especies como Carpas en Malasia por Azila y colaboradores recientemente en el mes de julio del 2018.

Estudios de cohabitación han demostrado que la transmisión horizontal directa constituye una importante vía de transmisión. Se destaca la presencia de reservorios (peces escapados) en los ecosistemas abiertos que jugarían un rol clave en la mantención del virus y en la reinfección de nuevos lotes de alevines que ingresan a las jaulas, razón por la cual se hace más difícil el control y extinción de la contaminación en estos sistemas abiertos en comparación a sistemas de estanques o de crianza confinada de Tilapia.

Se consideran factores de riesgo, las condiciones extensivas de cultivo, el manejo de altas densidades y factores estresantes sobre las poblaciones que predisponen y contribuyen a facilitar la infección de los lotes en cultivo.

Tratamiento no existe, la sal y otros productos no tendrían efectividad en el control por lo que los Veterinarios recomiendan establecer en las explotaciones estrictas medidas de bioseguridad y hacer un control efectivo sobre el origen y certificación de los lotes, como idealmente evitar la crianza de este pez en sistemas abiertos en los cuales la bioseguridad es más difícil de instaurar.

El control y manejo de la enfermedad pasa por disponer de una vacuna efectiva, la cual aún no está disponible en el mercado,





Foto 3. Muestreo de Tilapias en el Perú, Region San Martín.

situación que complica aún más el manejo de los animales y el control en los planteles.

El cuadro clínico, corresponde a una septicemia de características inflamatoria y hemorrágica clásicas afectando ojos, cerebro, bazo e hígado internamente y expresando externamente, alteraciones en los ojos, opacidad del cristalino (cataratas), hemorragias perioculares y exoftalmia, erosiones de piel y pérdidas de continuidad en el epitelio escamoso, es decir no hay signos patognomónicos específicos, razón por la cual inicialmente es confundido con un cuadro séptico de origen bacteriano.

Microscópicamente se observa edema, congestión y focos hemorrágicos degenerativos a nivel de células parenquimatosas y del estroma de órganos como hígado, ojos, bazo y cerebro.

El diagnóstico se basa en pruebas moleculares específicas mediante PCR o el cultivo celular, complementado con PCR y pruebas de inmunohistoquímica específicas.

Oficialmente, el virus TiLV se ha notificado en Colombia, Ecuador y recientemente a partir del mes de Marzo, la autoridad sanitaria pesquera y acuícola del Perú la ha declarado oficialmente presente pese a que en las zonas productoras oficiales (Piura y San Martín) y en otras en las cuales oficialmente esta acuicultura no está autorizada (Lambayeque, Cajamarca, Junín, Lima y las regiones amazónicas) ya desde el 2017 se venía sospechando de su presencia dadas mortalidades masivas refractarias a los tratamientos con antibióticos en la Región Piura, específicamente en la zona del



Foto 4. Tilapias en el Perú, Región San Martín. Gentileza Biologo Bianny Rodríguez, Moyobamba.

reservorio de Poechos (Sullana). No fue hasta el mes de marzo del 2018 cuando oficialmente se declaró su presencia afectando Tilapias en sistemas de granjas semi extensivas y en sistemas de lagunas en las cuales se realiza el cultivo extensivo de estos peces.

Epidemiológicamente resulta complejo manejar una enfermedad de este tipo, más aun cuando los niveles de informalidad de los productores locales son altos y no ha habido un estricto control del contrabando de peces desde países limítrofes desde los cuales se han recibido juveniles sin control sanitario.

No es hasta el mes de Febrero que la autoridad peruana emite el comunicado 018-2018 SANIPES ([http://192.169.196.91/documentos/\\_COMUNICADO-N-018-2018-SANIPES.pdf](http://192.169.196.91/documentos/_COMUNICADO-N-018-2018-SANIPES.pdf)) y además establece los lineamientos de un plan de contingencia sanitaria reactivo el cual ha permitido monitorear las regiones de Piura y San Martín, regiones en las que oficialmente esta autorizado el cultivo de esta especie, ampliándose en el mes de abril mediante el comunicado 039-2018 SANIPES ([http://192.169.196.91/documentos/COMUNICADO-N-039-2018-SANIPES\\_.pdf](http://192.169.196.91/documentos/COMUNICADO-N-039-2018-SANIPES_.pdf)) a otras regiones del país la cobertura del plan inicialmente circunscrito a las regiones de Piura y San Martín.

Sin embargo se genera una interrogante y un desafío importante desde el punto de vista epidemiológico veterinario como para tener un claro catastro de situacional y establecer un análisis de riesgo regional en todas aquellos ecosistemas del Perú en los cuales se encuentran Tilapias, importante es recordar que esta especie de manera no oficial ha entrado a los sistemas amazó



Fotos 5 y 6. Tilapia afectada por TiLV en el Perú, Gentileza Biologo Bianny Rodríguez, San Martín.



Foto 7. Tilapia afectada por TiLV en el Perú, Gentileza Biologo Bianny Rodriguez, San Martín.

nicos en los cuales el control es prácticamente imposible, no teniendo además capacidad como para determinar que ocurre con otras especies zoológicamente cercanas que habitan esa zonas de manera natural como lo son Cíclidos, y Ciprínidos originarios de esas cuencas y sistemas loticos y lenticos.

Las acciones en el Perú se han centrado en establecer un monitoreo de los centros de cultivo y determinar la condición de positivo o negativo de los centros, entregando además información sobre las acciones recomendadas y la aplicación de un programa de vigilancia activa el cual ya se está realizando.

Por último, es importante precisar, que la enfermedad ocasionada por el Virus de la Tilapia Lacustre (TiLV), NO afecta la salud y NO representa ningún tipo de riesgo para los consumidores de Tilapia.

Como complemento la autoridad ha dado instrucciones de control mediante la aplicación de medidas de bioseguridad clásicas, las que lamentablemente dada la informalidad de los productores, los que muchas veces solo producen volúmenes pequeños para el abastecimiento de mercados locales de comunidades o de pequeños poblados, resultan ser impracticables y poco aplicables muchas veces.

Sin embargo, ante la ausencia de investigaciones exhaustivas sobre todos los incidentes de mortalidad, es posible que la distribución geográfica de TiLV sea más amplia que la actualmente declarada.

Frente a este escenario se hace fundamental para la sustentabilidad de la industria de la Tilapia en el Perú el establecimiento de una real zonificación de la producción, la confección de un mapa



Foto 9. Muestreo oficial TiLV en el Perú, Gentileza DIREPRO San Martín.



Foto 8. Toma de muestras para diagnóstico, San Martín.

epidemiológico y el desarrollo de análisis de riesgo por zonas productivas, de manera de poder tener una clara visión del movimiento y desplazamiento del virus dentro e inter regional como también una clara visión de país respecto de la enfermedad.

Se considera oportuno atender las recomendaciones internacionales como las recientemente comunicadas por la FAO y la Red Mundial de Centros de Acuicultura en Asia pacífico (NACA) más aun desde la condición de país miembro APEC del Perú, entidad que ha publicado un folleto bastante extenso y práctico sobre la amenaza emergente que representa el virus de la tilapia del lago (TiLV) para las Tilapias en cultivo en la región Asia-Pacífico.

Oficialmente hasta el 2016, los países afectados por esta enfermedad emergente de la incluyen a Israel, Ecuador, Colombia y Egipto, sumándose a partir del 2018 el Perú como país positivo declarado frente a la autoridad sanitaria de la FAO y también de la oficina de la Sanidad Animal (OIE) de las Naciones Unidas.

La situación productiva del Perú de alta informalidad y de múltiples explotaciones distribuidas por todo el país, obliga a redoblar el control sobre el origen de los animales, exigir certificaciones sanitarias oficiales y mantener estrictas prácticas de Bioseguridad que permitan llegar a cosecha con el menor impacto.

La propagación de la enfermedad es limitable mediante restricciones de movimientos de Tilapias provenientes de criaderos positivos y la aplicación de medidas genéricas de bioseguridad, con el fin de minimizar la propagación de fómites a través de equipos, vehículos y personal; es decir, limpieza y desinfección con productos técnicos de reconocido efecto biocida y viricida.



Foto 10: Comercialización de Tilapias en mercados locales Perú.

# Aufiser

Anclajes de Hormigón



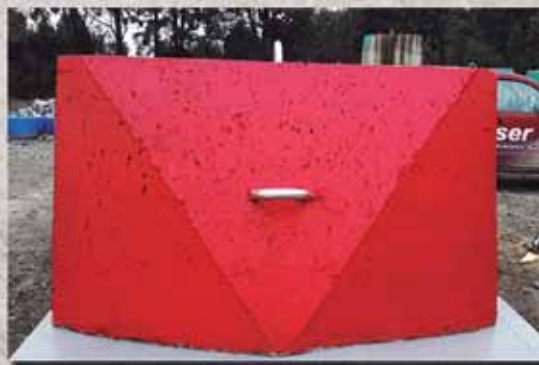
"24 AÑOS Certifican  
nuestra Calidad"

## Nuevos Modelos T20 y T15



### CARACTERÍSTICAS:

- Hormigón H-20 (Certificado)
- Armadura interna malla C-92.
- Cánkamos:
  - Levante y Tracción
  - Acero SAE 1045 en 50 mm de diámetro.
- Opcionales Cánkamo:
  - Galvanizado en frío.
  - Galvanizado en caliente
  - Tercer cánkamo de retención.



**MAYOR PODER DE AGARRE (HHP)**

CASA MATRIZ: RAUCO S/N CHONCHI Fono: (65) 2633021 - (65) 2636969

Planta Trapen (Puerto Montt) Planta Pid (Castro) - [www.aufiser.cl](http://www.aufiser.cl)

# Evaluación molecular y morfológica del desarrollo gonadal y reproducción en el copépodo ectoparásito *Caligus rogercresseyi*



Universidad  
de Valparaíso  
CHILE

Bustos, P.<sup>1,2</sup>, Guzmán-Fuentes, S.<sup>1</sup>, Vidal-Pérez, D.<sup>1</sup>, Báez-Crovetto, S., Brown, D.I.<sup>3</sup>, Farlora, R.<sup>1,4\*</sup>

Laboratorio de Biotecnología Acuática y Genómica Reproductiva (LABYGER), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Doctorado en Acuicultura, Programa Cooperativo Universidad de Chile, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Laboratorio de Biología de la Reproducción y del Desarrollo, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.

Centro de Investigación y Gestión de Recursos Naturales (CIGREN), Universidad de Valparaíso, Chile.

\*E-mail: rodolfo.farlora@uv.cl

La notable expansión de la salmonicultura en las últimas décadas ha generado que la industria acuícola chilena se haya visto enfrentada a diversos desafíos en el ámbito sanitario, los que en reiteradas ocasiones la han llevado a ser protagonista de importantes pérdidas económicas y productivas. El incremento en las densidades de cultivo ha significado una creciente abundancia de los piojos de mar, que corresponden a copépodos ectoparásitos de la familia Caligidae, siendo *Caligus rogercresseyi* la principal especie que afecta primariamente al salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y a la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). El parásito genera daño físico en la piel del pez, incrementa su susceptibilidad a infecciones secundarias (Bowers *et al.* 2000; Saksida *et al.* 2013) y provoca impactos económicos considerables en la salmonicultura chilena (Kristoffersen *et al.* 2013). En Chile, los métodos de control para combatir la caligidosis se basan principalmente en la aplicación de químicos antiparasitarios que, pese a su efectividad y facilidad de uso, conllevan problemas ambientales y de resistencia de drogas, lo que limita su aplicabilidad sostenida (Rozas & Asencio 2007). En este sentido, el conocimiento de las bases biológicas y moleculares de la reproducción en *C. rogercresseyi* constituye un área importante para el desarrollo de nuevas herramientas dirigidas al control de su propagación y manejo. En el **Laboratorio de Biotecnología Acuática y Genómica Reproductiva (LABYGER) de la Universidad de Valparaíso**, nos hemos interesado en investigar los aspectos reproductivos de *C. rogercresseyi*, utilizando tanto herramientas moleculares de última generación como técnicas histomorfológicas tradicionales.

## ¿Por qué estudiar la reproducción de los piojos de mar?

Para responder esta pregunta, es pertinente revisar antecedentes encontrados en otros grupos taxonómicos que pueden servir para comprender el enfoque de control de parásitos o plagas

relacionado con la reproducción. Históricamente, la esterilidad inducida ha sido utilizada con cierto éxito para parásitos o en intervenciones de pestes en insectos (Alphey 2002; Knipling 1955). Además, la identificación de moléculas sexo-específicas ha sido importante para el desarrollo de la selección de candidatos de vacunas, como ha sido descrito en la garrapata *Boophilus microplus*, responsable de parasitar ganado (Tellam *et al.* 2002). Varios estudios de transcripción sexo-específica y de compilación de genes relacionados con procesos de desarrollo y reproducción han sido previamente reportados en parásitos nemátodos tales como *Oesophagostomum dentatum*, *Trichostrongylus vitrinus*, *Haemonchus contortus* y *Brugia malayi*, mientras que diferencias observadas entre sexos en las tasas de ingestión, comportamiento y sitios de preferencia en nemátodos han motivado investigaciones sobre la transcripción de genes con expresión diferencial entre machos y hembras en *Ancylostoma caninum*, con la finalidad de identificar hemoglobinas expresadas diferencialmente para ser utilizadas como nuevos blancos para el control de esta plaga (Nisbet *et al.* 2008).

Pese a los impactos económicos de la caligidosis, el conocimiento de los aspectos reproductivos de los piojos de mar es todavía limitado. La mayoría de los estudios publicados en copépodos ectoparásitos se relacionan con la principal especie de piojo del salmón del hemisferio norte *Lepeophtheirus salmonis*, existiendo reportes sobre la anatomía de su sistema reproductivo (Ritchie *et al.* 1996), observaciones sobre su comportamiento de apareamiento (Hull *et al.* 1998; Ritchie *et al.* 1996b) y estimaciones sobre su rendimiento reproductivo (Heuch *et al.* 2000; Jackson & Minchin 1992). El desarrollo de herramientas transcriptómicas y protocolos de silenciamiento de genes mediante RNA interferente (RNAi) en *L. salmonis* han permitido la identificación y caracterización funcional de varios transcritos relacionados con su reproducción. Recientemente, varios recursos genómicos

han sido publicados en esta especie lo que ha resultado en un incremento importante de la información molecular para este parásito. Dentro de estos estudios se encuentra lo reportado por Dalvin *et al.* (2009) quienes caracterizaron funcionalmente una proteína asociada al huevo (yolk-associated protein *LsYAP*) en *L. salmonis*. Además, Dalvin *et al.* (2011) caracterizaron dos genes de vitelogeninas, reportando su localización en el tejido subcuticular de hembras adultas y en ovocitos en desarrollo. Tröbe *et al.* (2013), describen un homólogo de *vasa*, marcador de las células germinales del piojo del salmón, reportando su expresión y localización dentro de las gónadas y en ovocitos en desarrollo. Edvardsen *et al.* (2014) analizaron la expresión de genes utilizando microarreglos en diferentes tejidos de *L. salmonis*, incluyendo las gónadas. Más recientemente, Eichner *et al.* (2015) han caracterizado un tipo de receptor nuclear llamado *RXR*, requerido para obtener descendencia viable, mientras que Sandlund *et al.* (2015) caracterizaron molecularmente el receptor nuclear de la hormona de ecdisona *EcR*, analizaron su expresión en relación con el desarrollo ontogenético del parásito (Sandlund *et al.* 2016) e identificaron genes asociados a la biosíntesis de ecdisona (Sandlund *et al.* 2018).

En lo que respecta a *C. rogercresseyi*, a pesar de los impactos económicos por la infestación de este ectoparásito, existe muy poca información relacionada con su reproducción, la que se encuentra restringida a reportes sobre las preferencias en el apareamiento en respuesta a estímulos semioquímicos entre sexos (Pino-Marambio *et al.* 2007), estudios de *output* reproductivo bajo condiciones controladas (Bravo 2010), la evaluación de fecundidad en poblaciones silvestres (Bravo *et al.* 2013; González *et al.* 2012) y, más recientemente, los efectos de las drogas antiparasitarias en la viabilidad de la eclosión (Bravo *et al.* 2015). Existen además estudios no publicados por Levicoy (2013) y Guzmán-Fuentes (2018), describen la apariencia histológica y actividad proliferativa de las gónadas en ambos sexos. Además, Jaramillo *et al.* (2015) caracterizaron morfológicamente la cápsula ovígera de *C. rogercresseyi* utilizando microscopía electrónica de transmisión y de barrido.

## Regulación molecular de la reproducción en *C. rogercresseyi*

En los últimos años se han llevado a cabo varios estudios transcriptómicos relacionados con la reproducción en esta especie. A partir del estudio del transcriptoma de machos y hembras de *C. rogercresseyi*, Farlora *et al.* (2014) reportaron un panel de 1368 secuencias de genes relacionados con reproducción, construido en base a un análisis de secuencias homólogas y a literatura publicada. En este trabajo, varios genes relacionados con reproducción y con expresión diferencial entre sexos fueron identificados, incluyendo *vitellogenin 1* y *2* que muestran altos valores de expresión en hembras respecto de machos, o *17-β hydroxysteroid dehydrogenase* expresando el patrón opuesto. Gonçalves *et al.* (2014) caracterizaron varias vías metabólicas de lípidos relacionados con la producción de energía y la síntesis de ecdisteroides en *C. rogercresseyi*, analizando diferentes estados de desarrollo y adultos de ambos sexos, identificando genes

con patrones de expresión sexo-específicos, encontrándose que las hembras exhibieron un patrón de alto metabolismo lipídico, probablemente para suplir la energía y movilización atribuida la vitelogénesis y reproducción. Farlora *et al.* (2015) caracterizaron el gen *prohibitin 2 (Phb2)* en *C. rogercresseyi*, cuya proteína se encuentra involucrada en una variedad de procesos celulares, incluyendo la reproducción, en vertebrados e invertebrados. El recuento de lecturas *in silico* y los análisis por RT-qPCR para *Phb2*, mostraron expresión diferencial en hembras adultas comparado con los machos. Se ha evidenciado que la supresión de *Phb* usando *dsRNAs* en *Caenorhabditis elegans* provocó defectos en la línea germinal y esterilidad en adultos (Sanz *et al.* 2003), revelando su potencial como blanco para el silenciamiento inducido por *RNAi* y el control de plagas en el piojo de mar. Se han descrito otros transcritos con patrones de expresión diferencial entre sexos y modulación sexo específica cuando son expuestos a antiparasitarios, entre ellos dos genes de *peroxinectin* sobreexpresados en machos (Núñez-Acuña *et al.* 2015), así como varios transcritos que mostraron expresión diferencial entre sexos en *C. rogercresseyi* expuesto a azametifos (Valenzuela-Muñoz *et al.* 2015). Farlora *et al.* (2016), ampliaron el conocimiento de los genes de la familia de las acuaporinas, estudiando su diversidad y expresión durante la ontogenia de *C. rogercresseyi*. Análisis *in silico* realizados en este trabajo, revelaron modulación diferencial entre los diferentes estados de desarrollo de la especie y entre sexos, reportando que el gen *Glp1\_v1* mostró expresión diferencial en macho mientras que la acuaporina *Bib*, evidenció mayor expresión en hembras adultas del piojo, resultados que fueron corroborados mediante análisis por RT-qPCR. Farlora *et al.* (2017) analizaron la expresión de 12 genes putativamente involucrados en reproducción y desarrollo en especímenes adultos machos y hembras de *C. rogercresseyi* expuestos a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), químico utilizado en baños para el control de los piojos de mar. Los autores encontraron que las diferentes concentraciones de peróxido evaluadas modularon la expresión de varios de estos genes, donde la mayoría de ellos exhibió una marcada respuesta sexo-específica.

En nuestro proyecto en ejecución titulado “Molecular regulation of gonad development and reproductive output in the sea louse *Caligus rogercresseyi*: functional assessment of target genes and prospects for parasite control (Fondecyt iniciación n°

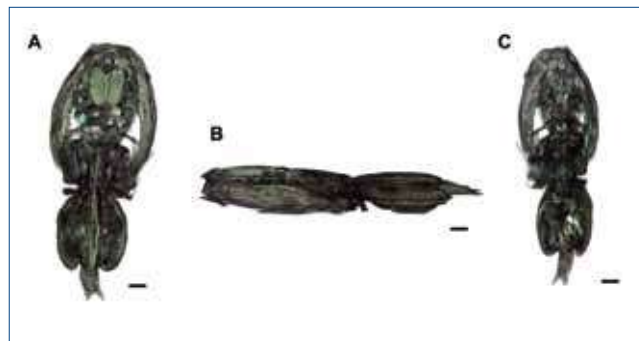
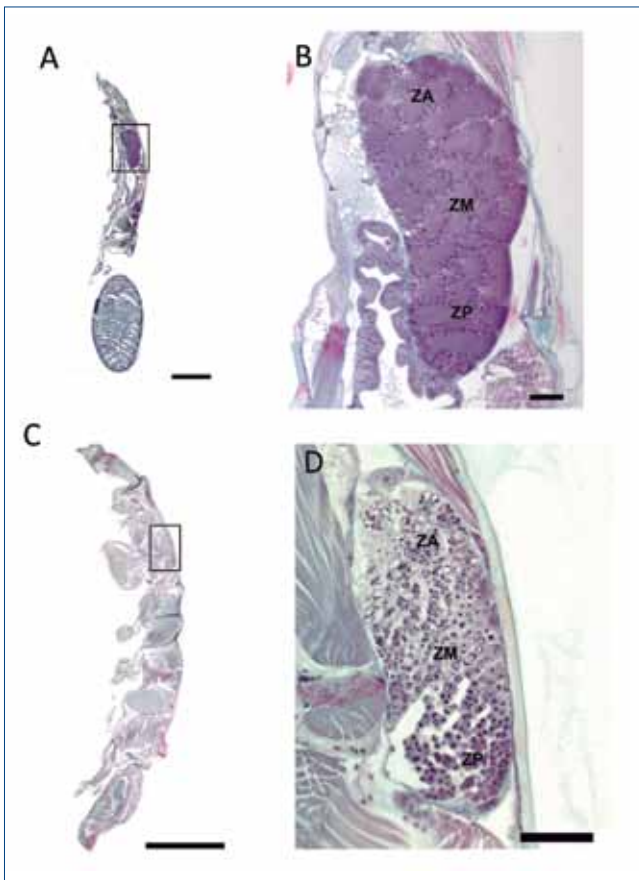


Figura 1. Reconstrucción 3D a partir de cortes histológicos seriados para hembra adulta de *Caligus rogercresseyi*. A. Vista dorsal. B. Vista lateral. C. Vista ventral. Barras: 400  $\mu$ m.

11150915; year 2015-2018)", hemos identificado varios otros genes candidatos a partir del transcriptoma de *C. rogercresseyi*, los cuales han sido evaluados en su expresión mediante RNA-seq y por RT-qPCR utilizando pools de varios individuos completos, evaluando diferencias entre estados de desarrollo y entre machos y hembras. Junto a lo anterior, hemos podido localizar y evaluar la expresión de varios transcritos reproductivos directamente a nivel tisular y celular, utilizando las técnicas de hibridación *in situ* (ISH) para genes y de inmunohistoquímica para proteínas, ambas aplicadas directamente en secciones histológicas. Estos estudios previos han servido de fundamento para la selección de un panel de genes blanco que están siendo evaluados funcionalmente mediante la técnica de *RNAi*, empleando *RNA* de doble



**Figura 2 (A-D).** Esquema de la organización gonadal del sistema reproductivo de hembra y macho adultos de *Caligus rogercresseyi*. **A.** Corte sagital animal completo (hembra) de *C. rogercresseyi*, mostrando el posicionamiento del ovario. Tinción tricrómico de arteta. Barra: 400  $\mu$ m. **B.** Vista aumentada del ovario. Se distingue la zona anterior (ZA) de la estructura interna del ovario con ovocitos posicionados perimetralmente en el interior de los túbulos ováricos. Se observa la organización en base de túbulos ováricos en la estructura interna del ovario, zona media (ZM) y la zona posterior (ZP) con células germinales con alta actividad mitótica. Plano de corte sagital. Tinción tricrómico de arteta. Barra: 50  $\mu$ m. **C.** Corte sagital animal completo (macho) de *C. rogercresseyi*, mostrando el posicionamiento del testículo. Tinción tricrómico de arteta. Barra: 400  $\mu$ m. **D.** Vista aumentada del testículo. La zona anterior (ZA) presenta estados tardíos de la línea germinal que ingresarán al espermiducto. En la zona media (ZM) se encontraron estados intermedios de desarrollo de la línea germinal. En la zona posterior (ZP) se ubican principalmente células espermatogoniales. Vista sagital. Tinción tricrómico de arteta. Barra: 50  $\mu$ m.

hebra (*dsRNA*) microinyectado directamente en la zona subcuticular de hembras adultas de *C. rogercresseyi*, con la finalidad de generar fenotipos estériles o con descendencia inviable. Una mejor comprensión de los mecanismos funcionales involucrados en la reproducción y el desarrollo de *C. rogercresseyi*, puede permitir la identificación de genes blanco específicos, para el desarrollo de nuevos tratamientos antiparasitarios en esta especie.

## Organización gonadal y gametogénesis en *C. rogercresseyi*

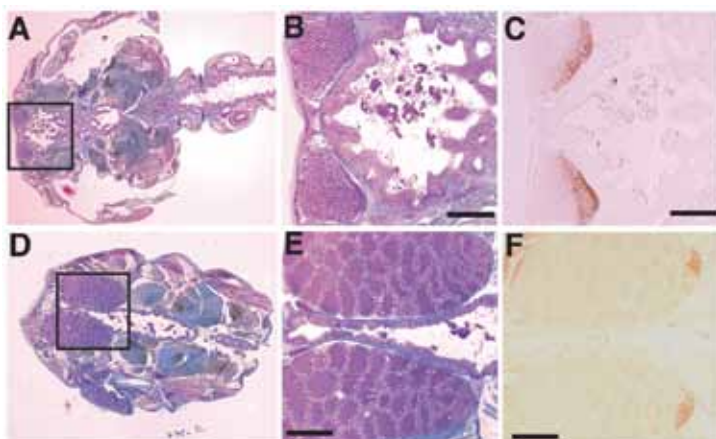
Con la finalidad de profundizar en los mecanismos celulares involucrados en la biología reproductiva del parásito, en nuestro laboratorio hemos caracterizado la anatomía del sistema reproductivo y gametogénesis de esta especie. Utilizando secciones histológicas seriadas, ha sido posible obtener un modelo en 3D de una hembra adulta de *C. rogercresseyi*, facilitando la observación general de los órganos internos, incluidos sus gónadas pareadas en el cefalotórax y oviducto en el segmento genital (**Fig. 1**). Utilizando secciones sagitales, es posible distinguir la posición de los ovarios, localizados en la zona anterior del cefalotórax (**Fig. 2A**), a partir de los cuales nace un par de oviductos que se proyectan paralelos al intestino de *C. rogercresseyi* por toda la zona media del ectoparásito hasta llegar a la zona posterior, donde se encuentra el segmento genital. Al observar la organización interna de los ovarios, es posible distinguir una asociación de tipo sincicio-germario, donde las células troncales se encuentran polarizadas en la región posterior, encontrándose tres zonas de desarrollo gametogénico bien delimitadas (**Fig. 2B**).

En el caso de los machos, en la zona anterior del cefalotórax se pueden observar los testículos (**Fig. 2C**) a partir de los cuales nace un conducto deferente que se extiende en sentido caudal por toda la zona media paralelo al intestino, llegando hasta la zona posterior donde se encuentran los espermatóforos en el segmento genital. La organización gonadal en los testículos de los machos es de tipo cística, donde los gametos se desarrollan dentro de cápsulas celulares derivadas de células somáticas, pudiendo distinguirse tres zonas bien conspicuas de desarrollo gametogénico (**Fig. 2D**).

Tanto en hembras como en machos, la gametogénesis en esta especie ocurre en sentido posterior-anterior en la estructura interna gonadal, desde los estados celulares tempranos hasta los estados maduros de la línea germinal. La actividad proliferativa presenta una zonificación específica en la estructura interna de las gónadas, dando cuenta de la posición de las células goniales en la línea germinal, lo que se evidencia utilizando la técnica de inmunohistoquímica con una sonda específica para el marcador de actividad proliferativa Proliferation Cell Nuclear Antigen (PCNA) (**Fig. 3**).

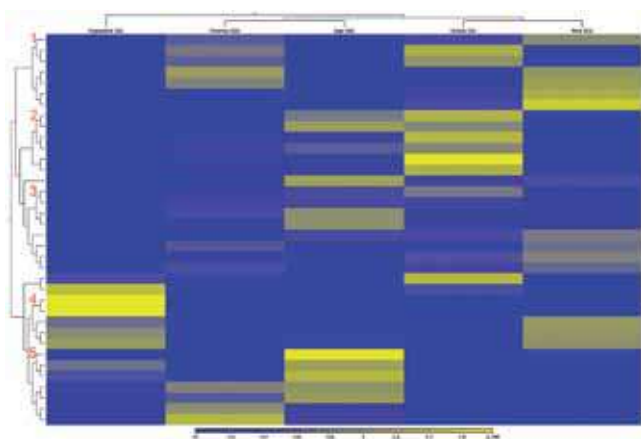
## Análisis de expresión de genes asociados a fisiología reproductiva y vitelogénesis en *C. rogercresseyi*

Para obtener una idea de los patrones globales de expresión de los genes relacionados con la vitelogénesis en *C. rogercresseyi*, evaluamos su expresión *in silico* mediante RNA-seq utilizando librerías de secuenciación transcriptómica masiva para las etapas



**Figura 3.** Microfotografías de secciones histológicas pertenecientes a individuos macho (A, B y C) y hembra (D, E y F) de *Caligus rogercresseyi*. A, D: Imágenes a bajo aumento mostrando la localización de los testículos (A) y ovarios (D) encerrados en el recuadro negro. B, E: Imágenes a mayor aumento de la región enmarcada en (A) y (D). C, F: Inmunohistoquímica para el Antígeno Nuclear de Células en Proliferación (PCNA) desde secciones seriadas consecutivas de lo que se encuentra descrito en B y E. Las secciones A, B, D y E fueron teñidas con tinción tricrómica. No se utilizó contra tinción para inmunohistoquímica.

de huevo, copepodito, chalimus y adultos de ambos sexos, cuyas secuencias fueron obtenidas a partir de una base de datos de dominio público de short read alignments (SRA) del NCBI. Las secuencias cortas correspondientes a los datos crudos para cada estado de desarrollo fueron ensambladas *de novo* en el programa *CLC Genomics Workbench* (Versión 11.0.1, CLC Bio, Dinamarca), obteniéndose un panel de 22.391 *contigs*. Estas secuencias fueron anotadas con bases de datos de proteínas conocidas utilizando el programa *Blast2Go*. A partir de las secuencias del ensamble *de novo*, se seleccionó un panel de 36 genes candidatos relacionados con fisiología reproductiva y vitelogénesis, cuyos patrones de expresión fueron comparados en un gráfico de tipo “*clustered heatmap*” entre los diferentes estados de desarrollo y entre sexos para *C. rogercresseyi* (Fig. 4). En este gráfico es posible distinguir la formación de cinco *clusters* pudiendo destacarse que los transcritos pertenecientes al *cluster 1* se expresan mayormente en los estados de chalimus y en machos adultos, los *clusters 2* y *3* en huevos y hembras adultas, el *cluster 4* principalmente en copepoditos y, finalmente el *cluster 5* en los estadios de huevo, chalimus y copepodito.



**Figura 4.** *Heat-map* para genes relacionados con fisiología reproductiva y vitelogénesis, representando el clúster jerárquico de características de los valores de expresión en Reads Per Kilobase Million (RPKM) calculados en los estadios de huevo, copepodito, chalimus hembra adulta y macho adulto de *Caligus rogercresseyi*. El color amarillo corresponde a transcritos altamente expresados, mientras que el color azul corresponde a transcritos con niveles de expresión más bajos.

Se evaluó también la expresión génica mediante RT-qPCR de los genes *vitellogenin 1 (Vg1)* y *vitellogenin 2 (Vg2)* y, por otro lado, se localizó la expresión del gen *Vg2* en cortes histológicos mediante la técnica de hibridación *in situ*. El principal rol biológico de las vitelogeninas en crustáceos, es el de garantizar la nutrición y el suministro de proteínas para el desarrollo de los huevos fertilizados hasta la etapa de primera alimentación, sin embargo, en los piojos de mar además se relaciona en procesos de maduración e incorporación de los ARN maternos y proteínas antes de que los huevos lleguen al segmento genital, describiéndose además que la proteína *Vg2* participa en procesos postraduccionales (Dalvin *et al.* 2011). A partir de muestras de *RNA* total extraídas desde *pooles* de individuos de ambos sexos, según ha sido descrito previamente (Farlora *et al.*, 2015; Farlora *et al.*, 2017; Farlora *et al.*, 2016), en función de los valores de *Ct* obtenidos a partir del RT-qPCR, se utilizó el método de comparación de  $\Delta Ct$  para evaluar los valores de expresión relativa tanto para *Vg1* como para *Vg2* utilizando como gen de referencia  $\beta$ -*Tubulina*, pudiendo observarse una considerable mayor expresión en hembras adultas de *C. rogercresseyi* en comparación con machos adultos para ambos genes analizados (Fig. 5). Junto a lo anterior, para el análisis cualitativo de la localización de secuencias de *mRNA* específicas en secciones de tejido de hembras adultas de *C. rogercresseyi*, se utilizó la técnica de hibridación *in situ*. Para esto se diseñó una sonda de ARN para el gen *Vg2*, pudiendo observarse que el gen se localiza principalmente en la zona media entre el cefalotórax y el segmento genital, expresándose en los oviductos y en los ovocitos previtelogénicos que se encuentran en el interior de los oviductos. Además, se puede distinguir expresión del gen *Vg2* en el intestino y en la cutícula desde la zona media hasta la zona posterior (Fig. 6).

### Laboratorio de Biotecnología Acuática y Genómica Reproductiva (LABYGER)

El laboratorio de **Biotecnología Acuática y Genómica Reproductiva (LABYGER)** se inició el año 2016 en el Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias (Universidad de Valparaíso), como parte de la Unidad de Biología de Reproducción y del Desarrollo. Nuestra área de investigación busca comprender los mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la madurez sexual, gametogénesis y desarrollo de peces e invertebrados

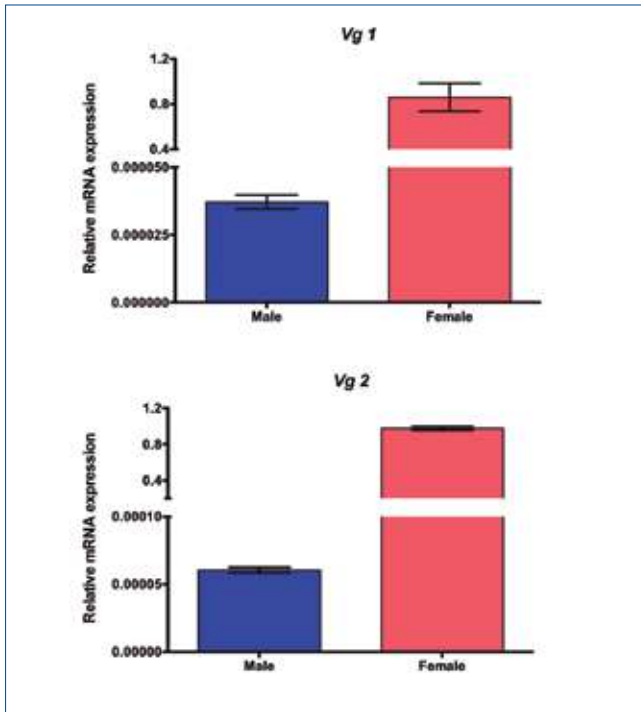


Figura 5. Niveles de expresión relativa de los genes *Vitelogenina 1* (*Vg1*) y *Vitelogenina 2* (*Vg2*) en pools de machos y hembras adultos de *Caligus rogercresseyi*. Los datos corresponden al promedio  $\pm$  desviación estándar.

acuáticos, con el propósito de generar conocimiento aplicable a la propagación, conservación y manejo de estos organismos, así como al mejoramiento de la industria acuícola nacional. Los modelos de estudio corresponden principalmente a especies sin un genoma de referencia disponible (especies no-modelo). Mediante la utilización de nuevas tecnologías de secuenciación ma-

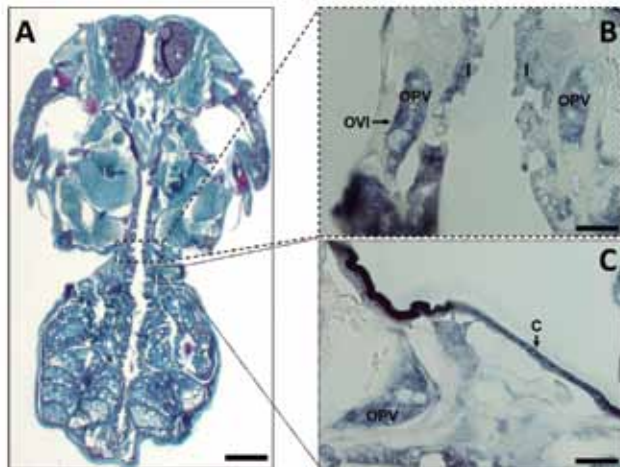


Figura 6. Hibridación *in situ* para el gen *vitelogenina-2* (*Vg-2*) en una hembra adulta de *Caligus rogercresseyi*. A. Individuo completo, tinción tricrómica. Bar: 400  $\mu$ m. B. Se observa una fuerte tinción en el oviducto (OVI), evidenciando ovocitos previtelogénicos (OPV) en su interior. Además, se aprecia expresión de *Vg2* en intestino (I). Hibridación *in situ*, método colorimétrico. Bar: 40  $\mu$ m. C. Ovocitos previtelogénicos (OPV) positivos para *Vg2*. Se distingue expresión en cutícula (C). Hibridación *in situ*, método colorimétrico. Bar: 40  $\mu$ m.

siva, es posible obtener genomas y transcriptomas de referencia a través de ensamblajes *de novo*, obtener la anotación y predicción funcional de genes, así como la detección de polimorfismos en sus secuencias nucleotídicas (SNPs) para la generación de marcadores moleculares. En nuestro laboratorio, el uso de estas herramientas ha permitido la búsqueda y selección de genes reproductivos candidatos, el análisis de su expresión mediante RT-qPCR e hibridación *in situ*, y su evaluación funcional mediante estudios de *RNAi in vivo*.

### Agradecimientos:

Este trabajo de difusión ha sido financiado por el proyecto FONDECYT n° 11150915 de CONICYT, Chile.

### Referencias

- Alphey, L. (2002). 'Re-engineering the sterile insect technique', *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(10): 1243–1247. doi: 10.1016/S0965-1748(02)00087-5.
- Bowers, J. M., Mustafa, A., Speare, D. J., Conboy, G. A., Brimacombe, M., Sims, D. E. and Burka, J. F. (2000). 'The physiological response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to a single experimental challenge with sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*', *Journal of Fish Diseases*, 23(3): 165–172. doi: 10.1046/j.1365-2761.2000.00225.x.
- Bravo, S. (2010). 'The reproductive output of sea lice *Caligus rogercresseyi* under controlled conditions', *Experimental Parasitology*. 125(1): 51–54. doi: 10.1016/j.exppara.2009.12.001.
- Bravo, S., Erranz, F. and Lagos, C. (2009). 'A comparison of sea lice, *Caligus rogercresseyi*, fecundity in four areas in southern Chile', *Journal of Fish Diseases*, 32(1): 107–113. doi: 10.1111/j.1365-2761.2008.01012.x.
- Bravo, S., Pozo, V., Silva, M. T. and Abarca, D. (2013). 'Comparison of the fecundity rate of *Caligus rogercresseyi* infesting Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on farms in two regions of Chile', *Aquaculture*. 404–405: 55–58. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.04.002.
- Bravo, S., Silva, M. T., Agustí, C., Sambra, K. and Horsberg, T. E. (2015). 'The effect of chemotherapeutic drugs used to control sea lice on the hatching viability of egg strings from *Caligus rogercresseyi*', *Aquaculture*. 443: 77–83. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.011.
- Dalvin, S., Frost, P., Biering, E., Hamre, L. A., Eichner, C., Krossøy, B. and Nilsen, F. (2009). 'Functional characterization of the maternal yolk-associated protein (*LsYAP*) utilizing systemic RNA interference in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) (Crustacea: Copepoda)', *International Journal for Parasitology*. Australian Society for Parasitology Inc., 39(13): 1407–1415. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.04.004.
- Dalvin, S., Frost, P., Loeffen, P., Skern-Mauritzen, R., Baban, J., Rønnestad, I. and Nilsen, F. (2011). 'Characterization of two *vitellogenins* in the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*: Molecular, functional and evolutionary analysis', *Diseases of Aquatic Organisms*, 94(3): 211–224. doi: 10.3354/dao02331.
- Edvardsen, R. B., Dalvin, S., Furmanek, T., Malde, K., Mæhle, S., Kvamme, B. O. and Skern-mauritzen, R. (2014). 'Marine Genomics Gene expression in five salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*, Krøyer 1837) tissues Testis Subcuticular Ovary', *Marine Genomics*. 18: 39–44. doi: 10.1016/j.margen.2014.06.008.
- Eichner, C., Dalvin, S., Skern-Mauritzen, R., Malde, K., Kongshaug, H. and Nilsen, F. (2015). 'Characterization of a novel *RXR* receptor in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*, Copepoda) regulating growth



- and female reproduction', *BMC genomics*, 16(1): 1–22. doi: 10.1186/s12864-015-1277-y.
- Farlora, R., Araya-Garay, J. and Gallardo-Escárate, C. (2014).** 'Discovery of sex-related genes through high-throughput transcriptome sequencing from the salmon louse *Caligus rogercresseyi*', *Marine Genomics*. 15: 85–93. doi: 10.1016/j.margen.2014.02.005.
- Farlora, R., Nuñez-Acuña, G. and Gallardo-Escárate, C. (2015).** '*Prohibitin-2* gene reveals sex-related differences in the salmon louse *Caligus rogercresseyi*', *Gene*. 564(1): 73–80. doi: 10.1016/j.gene.2015.03.045.
- Farlora, R., Valenzuela-muñoz, V., Chávez-Mardones, J. and Gallardo-Escárate, C. (2016).** '*Aquaporin* family genes exhibit developmentally-regulated and host-dependent transcription patterns in the sea louse *Caligus rogercresseyi*', *Gene*. 585(1): 119–127. doi: 10.1016/j.gene.2016.03.035
- Farlora, R., Valdebenito-Aguayo, F., Valenzuela-Muñoz, V. and Gallardo-Escárate, C. (2017).** 'Hydrogen Peroxide Treatment Modulates the Transcription of Sex-Related Genes in the Sea Lice *Caligus rogercresseyi*', *Journal of Fish Diseases*, 41(6): 921–926. doi: 10.1111/jfd.12700.
- Gonçalves, A. T., Farlora, R. and Gallardo-Escárate, C. (2014).** 'Transcriptome survey of the lipid metabolic pathways involved in energy production and ecdysteroid synthesis in the salmon louse *Caligus rogercresseyi* (Crustacea: Copepoda)', *Comparative Biochemistry and Physiology Part - B*. 176(1): 9–17. doi: 10.1016/j.cbpb.2014.07.002.
- González, M. T., Molinet, C., Arenas, B., Asencio, G. and Carvajal, J. (2012).** 'Fecundity of the sea louse *Caligus rogercresseyi* on its native host *Eleginops maclovinus* captured near salmon farms in southern Chile', *Aquaculture Research*, 43(6): 853–860. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02900.x.
- Guzmán-Fuentes, S., 2018.** Organización Gonadal y Gametogénesis en el Copépodo Ectoparásito *Caligus rogercresseyi*. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile, p. 73.
- Heuch, P. A., Nordhagen, J. R. and Schram, T. A. (2000).** 'Egg production in the salmon louse [*Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer)] in relation to origin and water temperature', *Aquaculture Research*, 31(11): 805–814. doi: 10.1046/j.1365-2109.2000.00512.x.
- Hull, M. Q., Pike, A. W., J., M. A. and Rae, G. H. (1998).** 'Patterns of pair formation and mating in an ectoparasitic caligid copepod *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1837): implications for its sensory and mating biology', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 353(1369): 753–764. doi: 10.1098/rstb.1998.0241.
- Jackson, D. and Minchin, D. (1992).** 'Aspects of the reproductive output of two caligid copepod species parasitic on cultivated salmon', *Invertebrate Reproduction & Development*, 22(1–3): 87–90. doi: 10.1080/07924259.1992.9672260.
- Jaramillo, R., Garrido, O., Asencio, G. and Mancilla, J. (2015).** 'Morphological characterization of the egg capsule of the sea louse *Caligus rogercresseyi*', *Archivos de Medicina Veterinaria*, 47: 193–199.
- Knipling, E. F. (1955).** 'Possibilities of Insect Control or Eradication Through the Use of Sexually Sterile Males', *Journal of Economic Entomology*, 48(4): 459–462. doi: 10.1093/jee/48.4.459.
- Kristoffersen, A. B., Rees, E. E., Stryhn, H., Ibarra, R., Campisto, J. L., Revie, C. W. and St-Hilaire, S. (2013).** 'Understanding sources of sea lice for salmon farms in Chile', *Preventive Veterinary Medicine*. 111(1–2): 165–175. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.03.015.
- Levicoy, C. (2013).** Estudio histológico de las estructuras reproductivas de dos géneros de ectoparásitos calígidos de *Eleginops maclovinus* en el sur de Chile. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile, p. 57.
- Nisbet, A. J., Cottee, P. A. and Gasser, R. B. (2008).** 'Genomics of reproduction in nematodes: prospects for parasite intervention?', *Trends in Parasitology*, 24(2): 89–95. doi: 10.1016/j.pt.2007.12.001.
- Núñez-Acuña, G. and Gallardo-Escárate, C. (2015).** 'Two novel male-associated *peroxinectin* genes are downregulated by exposure to de-lousing drugs in *Caligus rogercresseyi*', *Gene*. 557(1): 98–102. doi: 10.1016/j.gene.2014.12.006.
- Pino-Marambio, J., Mordue (Luntz), A. J., Birkett, M., Carvajal, J., Asencio, G., Mellado, A. and Quiroz, A. (2007).** 'Behavioral studies of host, non-host and mate location by the Sea Louse, *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae)', *Aquaculture*, 271(1–4): 70–76. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.025.
- Ritchie, G., Mordue (Luntz), A. J., Pike, A. W. and Rae, G. H. (1996).** 'Morphology and Ultrastructure of the Reproductive System of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligidae)', *The Crustacean Society*, 16(2): 330–346.
- Ritchie, G., Mordue (Luntz), A. J., Pike, A. W. and Rae, G. H. (1996b).** 'Observations on mating and reproductive behaviour of *Lepeophtheirus salmonis*, Krøyer (Copepoda: Caligidae)', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 201(96): 285–298. doi: 10.1016/0022-0981(96)00008-1.
- Rozas, M. and Asencio, G. (2007).** 'Evaluación de la Situación Epidemiológica de la Caligiasis en Chile: Hacia una Estrategia de Control Efectiva', *Salmocencia*, 2(1): 43–59.
- Saksida, S. M., Morrison, D., Mckenzie, P., Milligan, B., Downey, E., Boyce, B. and Eaves, A. (2013).** 'Use of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., farm treatment data and bioassays to assess for resistance of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*, to emamectin benzoate (SLICE®) in British Columbia, Canada', *Journal of Fish Diseases*, 36(5): 515–520. doi: 10.1111/jfd.12018.
- Sandlund, L., Nilsen, F., Male, R., Grøtmol, S., Kongshaug, H. and Dalvin, S. (2015).** 'Molecular characterization of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis salmonis* (Krøyer, 1837), ecdysone receptor with emphasis on functional studies of female reproduction', *International Journal for Parasitology. Australian Society for Parasitology Inc.*, 45(2–3): 175–185. doi: 10.1016/j.ijpara.2014.10.003.
- Sandlund, L., Nilsen, F., Male, R. and Dalvin, S. (2016).** 'Molecular & Biochemical Parasitology The ecdysone receptor (*EcR*) is a major regulator of tissue development and growth in the marine salmonid ectoparasite, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda, Caligidae)', *Molecular & Biochemical Parasitology*. 208: 65–73. doi: 10.1016/j.molbiopara.2016.06.007.
- Sandlund, L., Kongshaug, H., Horsberg, T. E., Male, R., Nilsen, F. and Dalvin, S. (2018).** 'Identification and characterization of the ecdysone biosynthetic genes neverland, disembodied and shade in the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda, Caligidae)', *PLoS ONE*, 13(2): 1–16.
- Sanz, M. A., Tsang, W. Y., Willems, E. M., Grivell, L. A., Lemire, B. D., Van der Spek, H. and Nijtmans, L. G. J. (2003).** 'The mitochondrial *prohibitin* complex is essential for embryonic viability and germline function in *Caenorhabditis elegans*', *Journal of Biological Chemistry*, 278(34): 32091–32099. doi: 10.1074/jbc.M304877200.
- Tellam, R. L., Kemp, D., Riding, G., Briscoe, S., Smith, D., Sharp, P., Irving, D. and Willadsen, P. (2002).** 'Reduced oviposition of *Boophilus microplus* feeding on sheep vaccinated with *vitellin*', *Veterinary Parasitology*, 103(1–2): 141–156. doi: 10.1016/S0304-4017(01)00573-8.
- Tröbø, C., Nilsen, F. and Dalvin, S. (2013).** 'RNA interference mediated knockdown of the *KDEL receptor* and *COP2* inhibits digestion and reproduction in the parasitic copepod *Lepeophtheirus salmonis*', *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B Biochemistry and Molecular Biology*. Elsevier B.V., 170(1): 1–9. doi: 10.1016/j.cbpb.2013.12.006.
- Valenzuela-Muñoz, V., Chavez-Mardones, J. and Gallardo-Escárate, C. (2015).** 'RNA-seq analysis evidences multiple gene responses in *Caligus rogercresseyi* exposed to the anti-salmon lice drug azamethiphos', *Aquaculture*. 446: 156–166. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.05.011.



*Matamos por encargo...*

**NUESTROS SERVICIOS**



CONTROL DE AVES



SANITIZACIONES



DESRRATIZACIONES



CAPTURA ANIMAL



TERMO NIEBLA



EQUIPOS ATRAPA INSECTOS

**NUESTRO EQUIPO**



Fono Fax (65) 2 253203 / (65) 2 480625  
 Cel. +56 9 6830 1662 / +56 9 6830 1647  
 Av. Presidente Ibáñez 352 - Puerto Montt

[info@7plagas.cl](mailto:info@7plagas.cl) / [www.7plagas.cl](http://www.7plagas.cl)



**BUSCANOS EN:**

- Temuco
- Valdivia
- Osorno
- Puerto Montt
- Chiloé
- Coyhaique
- Puerto Aysén

# Caracterizando los impactos sociales y ecológicos de salmones y truchas en los ecosistemas acuáticos del país



Savaria P., Gómez-Uchida D., Canales-Aguirre C., Quezada-Romegialli C. & M. Sepúlveda  
Núcleo Milenio INVASAL.

**H**oy salmones y truchas son peces que se han naturalizado ampliamente en aguas continentales del país, desde la frontera chileno-boliviana en el Lago Chungará (Vila *et al.* 2007) hasta las zonas más australes de Patagonia en Isla Navarino (Anderson *et al.* 2006). Están al mismo tiempo íntimamente integrados en la cultura nacional a través de la tradición centenaria de la pesca recreativa en el sur de Chile, y durante las últimas décadas se han convertido en un recurso igualmente relevante para operadores de turismo, guías de pesca, boteros, artesanos y pescadores artesanales. En todos estos sentidos, su introducción en ríos y lagos del país, promovido por todos los gobiernos durante los últimos 150 años, ha sido una iniciativa exitosa. Debido a su larga historia de introducción a nuestros ecosistemas acuáticos, no es de extrañar que los salmones y truchas sean considerados por muchos como especies nativas de Chile.

A partir de la década de los 80', con el crecimiento de la industria salmonera, la sociedad chilena y en consecuencia también el estado, comenzó a cuestionar el impacto que genera en nuestros ecosistemas la presencia de estos salmones no nativos. El reciente incidente del 5 de Julio del 2018, en el que cerca de 690.000 salmones escaparon de un centro de cultivo en pleno Seno del Reloncaví, puede ser visto como un hito histórico en

cuanto a la concientización pública del costo ambiental asociado a ser uno de los países con mayor producción de salmones a nivel mundial.

Actualmente, existe consenso en la comunidad científica en torno al impacto negativo de salmones y truchas sobre peces nativos (Arismendi *et al.* 2014; Habit *et al.* 2006; Sepúlveda *et al.* 2013; Soto *et al.* 2006). Sin embargo, la caracterización de las interacciones específicas de estos salmónidos con la ictiofauna nativa es limitada. Esta información juega un rol esencial en la elaboración de políticas públicas orientadas a la conservación de la biodiversidad nativa y muchas veces endémica a Chile, ya sea a través del desarrollo de planes de manejo, programas de erradicación de salmónidos o iniciativas de repoblamiento de especies nativas. En consecuencia, el año 2017 la Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo financia al Núcleo Milenio de Salmónidos Invasores (INVASAL), consolidando un grupo de trabajo compuesto de científicos de seis regiones del país, investigadores especialistas en el análisis sociológico y el estudio de interacciones ecológicas entre salmónidos y peces, mamíferos e invertebrados acuáticos a través de aproximaciones de ecología clásica complementadas con técnicas de vanguardia como análisis de isótopos estables y herramientas de ecología molecular como el eDNA y DNA barcoding.



## El Altiplano chileno invadido por truchas: El caso del Lago Chungará



Las truchas arcoíris introducidas al Lago Chungará en la década de 1990 podrían estar conduciendo a la especie endémica *Orestias chungarensis* (comúnmente conocida como karachi) a la extinción a través de depredación directa y competencia por espacio o por el consumo de invertebrados. Mientras el 2018 se llevó a



cabo una primera campaña de terreno que permitió caracterizar el sistema y su población de truchas, el 2019 será el año de elaboración de un plan de erradicación, combinando experimentos de selectividad de redes de enmalle y estimación de la biomasa de truchas a través de métodos acústicos y de depleción.

## Por primera vez en la historia de Chile, pesca artesanal de salmón Chinook



Desde el año 2000 en el Río Toltén, región de La Araucanía, salmones Chinook comenzaron a ser capturados incidentalmente durante actividades extractivas de corvinas, róbalo y pejerreyes, pesca de subsistencia para la comunidad de pescadores artesanales de Caleta La Barra que opera en el estuario del río. El fenómeno fue visto como una oportunidad para el desarrollo económico de una zona de rezago, una de las comunas más pobres del país. Durante el año 2014 y 2015 a través del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura, investigadores del Núcleo Milenio INVASAL caracterizaron la población de salmón Chinook de la cuenca y los usuarios del recurso. Dicha



información resultó clave para que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, en conjunto con una mesa de trabajo pública-privada, emitiera un decreto y resoluciones que reglamentan, autorizan y regulan la captura artesanal de esta especie.

La caracterización de la estacionalidad y temporalidad de la captura artesanal de salmón Chinook en la cuenca del Río Toltén está en su quinto año investigación, reportando estadísticas de extracción de hasta 190 toneladas para el periodo 2015-16, año en que se registró un retorno total de 43.628 individuos de 10 kg de peso promedio.

## Lobos marinos, salmones y la pesca artesanal



Una de las principales inquietudes expresada por pescadores artesanales a lo largo de todo el país en la actualidad es la “interferencia” del lobo marino común (LMC) con la actividad extractiva de la pesca artesanal (Sepúlveda et al. 2007). Mientras la ocurrencia de este fenómeno puede considerarse alta a lo largo de Chile, diversas investigaciones han podido constatar fuertes variaciones, tanto espaciales como temporales, en la intensidad de la interacción. Pese a ello, estudios recientes



sugieren que no existen diferencias significativas al comparar capturas entre labores de pesca realizadas en presencia y ausencia del LMC (Sepúlveda et al. 2007; 2018). La creciente preocupación entre pescadores y la presión de cumplir con estándares internacionales en torno a la conservación de mamíferos marinos mantendrán esta temática posicionada entre las prioridades de investigación científica del país.

## Isla Navarino, laboratorio natural



Isla Navarino, ubicado en el extremo sur de la Patagonia es un laboratorio natural para el estudio de invertebrados acuáticos, peces, sus interacciones ecológicas y adaptaciones al cambio global. Este ambiente ha sido colonizado por especies invasoras



como las truchas de arroyo y truchas arcoíris, fenómeno que junto al cambio climático han sido reconocidos mundialmente como las principales amenazas a la conservación de la biodiversidad.

### Pasantías de Investigación

Se encuentran abiertas nuestras pasantías de investigación y prácticas profesionales para el estudio de salmónidos invasores en Isla Navarino y la cuenca del río Toltén. Para más información ingresar a [www.invasal.cl](http://www.invasal.cl)

### Bibliografía:

Anderson C. B., Rozzi R., Torres-Mura J. C., McGehee S. M., Sherriffs M. F., Schüttler E. & A. D. Rosemond. 2006. Exotic vertebrate fauna in the remote and pristine sub-Antarctic Cape Horn Archipelago, Chile. *Biodiversity and Conservation* 15: 3295-3313.

Arismendi I., Penaluna B. E., Dunham J. B., Garcia de Leaniz C., Soto D., Fleming I. A., Gomez-Uchida D., Gajardo G., Vargas P. & J. León-Muñoz. 2014. Differential invasion success of salmonids in southern Chile: patterns and hypothesis. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 24: 919-941.

Habit E., Dyer B. & I. Vila. 2006. Estado de conocimiento de los peces dulceacuícolas de Chile. *Gayana* 70(1): 100-113.

Sepúlveda M., Pérez M. J., Sielfeld W., Oliva D., Durán L. R., Rodríguez L., Araos V. & M. Buscaglia. 2007. Operational interaction between South American sea lions *Otaria flavescens* and artisanal (small-scale) fishing in Chile: results from interview surveys and on-board observations. *Fisheries Research* 83: 332-340.

Sepúlveda M., Martínez T., Oliva D., Couve P., Pavez G., Navarro C., Stehlik M., Durán L. R. & G. Luna-Jorquera. 2018. Factors affecting the operational interaction between the South American sea lions and the artisan gillnet fishery in Chile. *Fisheries Research* 201: 147-152.

Soto D., Arismendi I., González J., Sanzana J., Jara F., Jara C., Guzman E. & A. Lara. 2006. Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 97-117.

Vila I., Pardo R. & S. Scott. 2007. Freshwater fishes of the Altiplano. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10(2): 201-211.

# Modelos econométricos explicativos de tendencias y del valor promedio (US\$/t) FOB Chile, de salmones y trucha arco iris, a partir de fluctuaciones y factores externos



UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DE  
TEMUCO

Mardones Alfonso<sup>\*1,2</sup>, Muñoz Gonzalo<sup>3</sup>, Vega Rolando<sup>1,2</sup>, De Los Ríos Patricio<sup>4,5</sup> & Ximena Salas-Carrasco

<sup>1</sup>Departamento Ciencias Agropecuarias y Acuícolas, Facultad Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco.

<sup>2</sup>Núcleo de Investigación en Producción Alimentaria. Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco

<sup>3</sup>Instituto de Fomento Pesquero

<sup>4</sup>Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco,

<sup>5</sup>Núcleo de Estudios Ambientales, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco

\*e-mail: mardolaz@uct.cl



Este trabajo consiste en evaluar mediante modelos econométricos lineales (Neter & Wasserman, 1974), la factibilidad de determinar tendencias y pronósticos del valor promedio (US\$/t), anual FOB - Chile de salmones y trucha arco iris, fresco-refrigerado y congelado. Dichos modelos nos permiten identificar los factores determinantes que construyen el precio de un producto o servicio y nos permiten pronosticar el precio futuro de los mismos.

Distintos factores influyen en el valor final de los productos, la mayoría descritos por Pashgian (1995) y Friedman (2007). También existen variables propias de la actividad, y otras globales no controladas, las que en mayor o menor medida también los afectan (Pérez & Pérez, 1987).

Se consideraron como variables explicativas 7 factores asociados a la industria salmonera. 3 variables internas: La proporción en ton/año de las cosechas por especies destinadas a las líneas de elaboración; el número anual de exportadores por línea de elaboración (Servicio Nacional de Aduanas, 2003-2016; IFOP, 2016) y el número de enfermedades o agentes patógenos presentes al año (SIAC, 2013; SERNAPESCA, 2013). Como factores externos se consideraron 4 variables: El valor promedio anual del dólar observado en pesos chilenos (CLP, Banco Central de Chile, 2016); el Indicador de Actividad Económica Regional (INACER, Instituto Nacional de Estadística, 2003-2016) promedio del año, de 3 regiones salmoneras: Los Lagos, Aysén y Magallanes; el valor promedio anual en dólares de la tonelada de la harina de pescado (Directorio Aqua, 2016) y la serie anual de

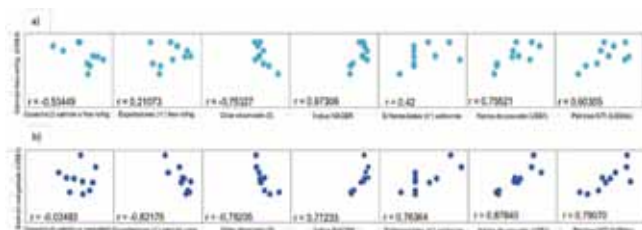


Figura 1. Gráficos de dispersión y coeficientes de correlación, entre el valor promedio (US\$/t) FOB Chile anual (2003-2012) de salmones y sus diferentes variables explicativas; a) fresco-refrigerado; b) congelado.

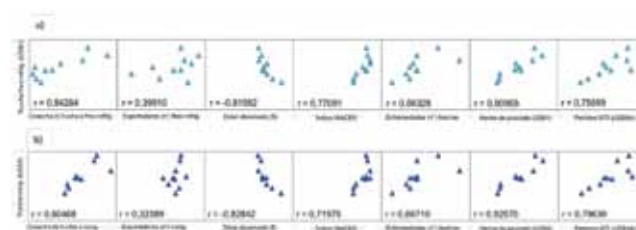


Figura 2. Gráficos de dispersión y coeficientes de correlación, entre el valor promedio (US\$/t) FOB Chile anual (2003-2012) de trucha arco iris y sus diferentes variables explicativas; a) fresco-refrigerado; b) congelado.

precios promedio en dólares del petróleo WTI (West Texas Intermediate), por barril (Faúndez et al., 2011).

Las diversas variables explicadas y las explicativas, mostraron tendencias tanto lineales como no lineales, así como también ausencia de relación (Figuras 1 y 2).

En tanto correlaciones significativas superiores al nivel del 5% para estos grupos de 10 observaciones (Gonzalvo, 1978; Gujarati & Porter, 2010), se dieron en la mayoría de las relaciones, aunque también en contraste bajo este nivel, demostraron ser las asociaciones lineales entre las variables de interés de precios de exportación y el factor número de exportadores, así como en algunas relaciones con el número de enfermedades y el petróleo WTI (Figuras 1, letra b, y Figura 2).

En tanto correlaciones negativas considerables (Hernández et al., 2006), se obtuvieron entre las variables dependientes y el valor del dólar observado, incluyendo el número de exportadores de salmón congelado (Figuras 1 y 2).

Bajo estas consideraciones se conformaron 4 modelos (ecuaciones 1 a la 4) para estimar el valor promedio (US\$/t) FOB Chile de salmónidos por año:

$$(1) \ln(vtsFUS\$) = \beta_0 + \beta_1(ctsF)^{-1} + \beta_2 \ln(n^{\circ}esF) + \beta_3(v\$D)^{-1} + \beta_4Irs + \beta_5 \ln(n^{\circ}efs) + \beta_6vthpUS\$ + \beta_7vbpWTIUS\$ + \varepsilon$$

$$(2) \ln(vtsC US\$) = \beta_0 + \beta_1(n^{\circ}esC)^{-1} + \beta_2(v\$D)^{-1} + \beta_3Irs + \beta_4n^{\circ}efs + \beta_5vthp US\$ + \beta_6vbp WTI US\$ + \varepsilon$$

$$(3) \ln(vtaiF US\$) = \beta_0 + \beta_1ctaiF + \beta_2n^{\circ}eaiF + \beta_3(v\$D)^{-1} + \beta_4Irs + \beta_5n^{\circ}efai + \beta_6vthp US\$ + \beta_7vbp WTI US\$ + \varepsilon$$

$$(4) \ln(vtaiC US\$) = \beta_0 + \beta_1 \ln(ctaiC) + \beta_2n^{\circ}eaiC + \beta_3 \ln(v\$D) + \beta_4Irs + \beta_5n^{\circ}efai + \beta_6vthp US\$ + \beta_7vbp WTI US\$ + \varepsilon$$

Donde:

**vtsF US\$** : Valor promedio (US\$/t) FOB Chile de salmón fresco-refrigerado por año.

**vtsC US\$** : Valor promedio (US\$/t) FOB Chile de salmón congelado por año.

**ctsF** : Proporción de las cosechas totales en toneladas de salmón destinadas a fresco-refrigerado por año

**n°esF** : Número de exportadores de salmón fresco-refrigerado por año.

**n°esC** : Número de exportadores de salmón congelado por año.

**v\$D** : Valor promedio en CLP del dólar observado al año.

**Irs** : INACER medio anual de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

**n°efs** : Número de enfermedades o agentes patógenos diagnosticados que afectan a los salmones por año.

**vthp US\$** : Valor promedio (US\$/t) anual de harina de pescado, y

**vbp WTI US\$** : Valor promedio en dólares del barril de petróleo WTI por año.

Identificándose con las letras *ai*, las variables equivalentes a los datos de trucha arco iris.

Teniendo presente que las diversas variables explicativas de cada modelo, se mantuviesen relativamente estables en el próximo quinquenio, las respectivas proyecciones hechas a partir de sus límites de confianza, permitirían esperar que el valor promedio FOB Chile de salmónes fresco-refrigerado, fluctuará anualmente entre 6.381 y 9.583 US\$/t, y entre 6.847 y 8.886 US\$/t, en el caso del producto congelado (Figura 3).

En tanto en el caso de trucha arco iris, esta banda proyectada de precios sería más estrecha, pudiendo oscilar el valor promedio anual de la tonelada fresco-refrigerado, entre 7.038 y 8.713 US\$/t, y para congelado, con una mayor amplitud que podría variar entre 5.130 y 7.099 US\$/t, por año (Figura 4).

Se debe tener en cuenta, como en cualquier formulación de modelos matemáticos o econométricos, tal como lo expresó Meyer (1973); Draper & Smith (1981) y Thomas (1980), que si bien no influimos en las observaciones evaluadas, cuando elegimos el modelo, si intervenimos aplicando nuestro propio criterio considerándolo el más adecuado, admitiendo una relación lineal entre el valor promedio (US\$/t) FOB Chile de salmónes y trucha arco iris, fresco-refrigerado y congelado, por año, y una serie de variables cuantitativas, tanto discretas como continuas, relativas a factores internos, asociados a la industria, así como también indicadores externos de importancia para el sector.

Utilizando el análisis de regresión lineal múltiple se probó que más de una de esas variables, efectivamente se relacionarían linealmente con el valor promedio anual de salmónes y trucha arco iris, fresco-refrigerado y congelado.

Del mismo modo, se identificaron los factores referenciales asociados a las tendencias y fluctuaciones del valor promedio (US\$/t) FOB Chile anual de salmónes y trucha arco iris, fresco-refrigerado y congelado. Constatándose como indicadores viables: La proporción del volumen de las cosechas en toneladas

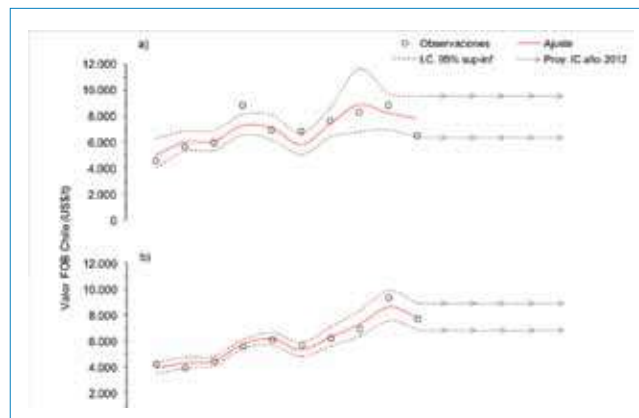


Figura 3. Ajuste con los modelos de regresión y sus intervalos de confianza sobre las observaciones de los valores promedio (US\$/t) FOB Chile anual, de salmónes por tipo de elaboración; a) fresco-refrigerado; b) congelado.

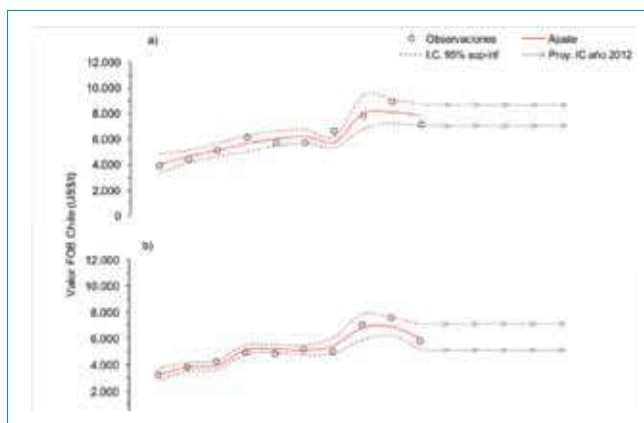


Figura 4. Ajuste con los modelos de regresión y sus intervalos de confianza sobre las observaciones de los valores promedio (US\$/t) FOB Chile anual, de trucha arco iris por tipo de elaboración; a) fresco-refrigerado; b) congelado.

por año dirigidas a las líneas de elaboración fresco-refrigerado de salmónes y trucha arco iris; el número de enfermedades o agentes patógenos presentes en salmónes por año; el número de exportadores de salmónes congelados en cada año; el índice INACER promedio anual de las tres regiones salmoneras y, el valor promedio anual en pesos del dólar observado.

Aunque también el orden de factores similares considerados en la regresión para estimar el valor promedio (US\$/t) FOB Chile anual de trucha arco iris congelado, presentaron una alta intercorrelación lo que dificultaría identificar con claridad el grado de influencia de cada una de ellos. Sus relaciones significativas sugerirían que esa multicolinealidad no sería grave y no constituiría un problema (Maddala, 1996; Green, 1999).

Por tanto, teniendo este antecedente, solo tres de los cuatro modelos desarrollados son adecuados para la estimación de los valores promedio (US\$/t) FOB Chile anual de las principales líneas de elaboración de salmónidos procesados por la industria.

En definitiva, aunque se comprobó el grado de asociación lineal entre las variables evaluadas, quedará como interrogante para los interesados en esta temática, demostrar si otros factores vinculados a la salmonicultura, que no fueron incluidos en este análisis, también se puedan relacionar con estos precios promedios de exportación, tales como bienes sustitutos y complementarios, número de demandantes, otras producciones de peces destinadas a consumo humano, consumo per cápita de los principales países destinatarios, entre muchos otros (Alejandro Gómez y Ximena Salas, comunicación personal), también permanecerá como interrogante saber si algunas de estas variables además podrían provocar una causa-efecto en este tipo de estimación (Gutiérrez & De la Vara, 2008; Pyndyck & Rubinfeld, 2001).

## BIBLIOGRAFÍA

**Banco Central de Chile.** 2016. Dólar observado. Estadísticas económicas. [www.bcentral.cl](http://www.bcentral.cl). <http://www.bcentral.cl/index.asp>. 22 septiembre 2016.

**Directorio Aqua.** Chile. 2016. Estadísticas. Harina y aceite de pescado

y vegetal. Obtenido de: [www.directorioaqua.com](http://www.directorioaqua.com). 9 septiembre 2016.

**Draper, N.R. & H. Smith.** 1981. Applied Regression Analysis. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. 709 pp.

**Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P.** 2006. Metodología de la Investigación. Cuarta Edición. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C. V. México. 850 pp.

**Faúndez, S., Mulder, N., Pérez, G., Sánchez, R.** 2011. El alza del precio del petróleo y su impacto en los fletes marítimos de productos exportados por Chile en contenedores. Publicaciones CEPAL. Serie Recursos Naturales e Infraestructura, 142 pp. Obtenido de: <http://www.eclac.cl/publicaciones/xml/3/43453/lcl3322e.pdf>. 15 agosto 2016.

**Friedman, M.** 2007. Teoría de los precios. Alianza Universidad Textos, España. 432 pp.

**Gonzalvo, G.** 1978. Diccionario de Metodología Estadística. Ediciones Morata S. A. Madrid. 180 pp.

**Gujarati, D. & N., Porter.** 2010. Econometría. Quinta Edición. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C. V. México. 921 pp.

**Gutiérrez, H. & La Vara, R.** 2008. Análisis y diseño de experimentos. Segunda Edición. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C. V. México. 545 pp.

**Green, W. H.** 1999. Análisis Econométrico. Tercera Edición. Prentice-Hall Iberia, Madrid. 952 pp.

**IFOP.** 2016. Estadística de Exportación de Productos Pesqueros y Acuícolas. Retrieved from: [www.ifop.cl](http://www.ifop.cl). 9 septiembre 2016.

**INACER. Instituto Nacional de Estadísticas.** 2016. Indicador de la Actividad Económica Regional (INACER). [www.ine.cl](http://www.ine.cl). Obtenido de: [http://www.ine.cl/canales/chile\\_estadistico/territorio/iner/iner.php](http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/territorio/iner/iner.php). 23 septiembre 2016.

**Maddala, G. S.** 1996. Introducción a la econometría. Segunda Edición. Prentice-Hall Hispanoamérica, S. A. México. 715 pp.

**Meyer, P.L.** 1973. Probabilidad y Aplicaciones Estadísticas. Fondo Educativo Interamericano, S. A. Panamá. 372 pp.

**Neter, J. & W. Wasserman.** 1974. Applied Linear Statistical Models: Regression, Analyses of Variance and Experimental Designs. Richard D. Irwin, Inc. Homewood, Illinois 60430. 842 pp.

**Pashigian, B. P.** 1995. Teoría de los precios y aplicaciones. Edición. McGraw-Hill/Interamericana de España S.A. 848 pp.

**Pérez, D., Pérez, I.** 1987. El Precio. Tipos y estrategias de fijación. Documentación de la EOI. Escuela de Organización Industrial, España. 53 pp. Retrieved from: [http://api.eoi.es/api\\_v1\\_dev.php/fedora/asset/eoi:45110/componente45108.pdf](http://api.eoi.es/api_v1_dev.php/fedora/asset/eoi:45110/componente45108.pdf)

**Pyndyck, R. S. & Rubinfeld, D.L.** 2001. Econometría: Modelos y Pronósticos. McGraw-Hill/Interamericana Editores de C. V. México. 661 pp.

**Servicio Nacional de Aduanas.** 2014. Ley de Transparencia. Valor (miles US\$) de las exportaciones de salmónidos por especie. Países de destino y valor (miles US\$) de los envíos de las exportaciones de salmónidos por especie. Tipo de producto/elaboración y valor (miles US\$) de las exportaciones de salmónidos por especie, en los últimos dos años (2012-2013). [www.aduana.cl](http://www.aduana.cl).

**SIAC. SERNAPESCA.** 2013. Ord. N°025744. Respuesta a consulta N°460305013. Archivos en formato Excel de Agentes patógenos identificados y reportados por los laboratorios de diagnósticos entre los años 2003-2013. Concesiones de salmónidos activas durante los últimos diez años, identificadas por su código RNA y titular. Listado de centros de cultivo positivos a ISA, publicados a partir del año 2007. Número de centros de cultivo que reportaron cargas parasitarias promedio mayor a cero, entre los años 2007 y 2013.

**Thomas, J. J.** 1980. Introducción al análisis estadístico para economistas. Marcombo Boixaren Editores. Barcelona. 284 pp.



# Desarrollo de nuevos alimentos basados en el uso de microalgas ricas en DHA y EPA para la producción sustentable de trucha arco iris enriquecida con omega-3



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS



E. Serrano<sup>1</sup>, R. Simpfendorfer<sup>1</sup>, A. Medina<sup>1</sup>, K. Castro<sup>1</sup>, C. Sandoval<sup>2</sup>, S. Davies<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios, Universidad de Los Lagos, Osorno, Chile.

<sup>2</sup>Veterinary Histopathology Center, Puerto Montt, Chile.

<sup>3</sup>Department of Animal Production, Welfare and Veterinary Sciences, Harper Adams University, Newport, UK.

## CONTEXTO MUNDIAL:

### Ácidos grasos esenciales y salud en el ser humano

A nivel mundial, la demanda de ácidos grasos omega-3 de cadena larga ("LC-HUFA") ha aumentado durante los últimos años. Este fenómeno se debe su uso farmacológico debido a sus características promotoras de la salud cardiovascular y neuronal en el ser humano. Recientes estudios han propuesto que el consumo de dietas ricas en aceites vegetales ricos en omega 6 podrían ser causantes de algunos tipos de cáncer (Huerta-Yépez et al., 2016). Dichos estudios proponen cambiar la relación de HUFAS omega-3/omega-6 de 1:1 usada actualmente, a 2:1, lo cual se traduce en aumentar el consumo de productos ricos en omega 3 HUFA con el fin de mejorar la salud del consumidor humano final. Los salmónidos son fuentes ricas en omega 3 HUFA, las cuales consiguen a través del alimento que reciben durante su cultivo (Tocher, 2015). Actualmente, la industria elaboradora de alimentos para salmónidos ha comenzado a incluir ingredientes ricos en omega-3 HUFAS alternativos al aceite de pescado en la fabricación de las dietas. A nivel comercial en nuestro país existen varias iniciativas en donde se utiliza harina de microalgas como fuente parcial de omega-3 HUFA, con el propósito de reducir el índice de dependencia de pesca pelágica y poder lograr certificaciones de buenas prácticas. Igualmente, se está trabajando activamente a nivel mundial en el uso de un aceite de soya transgénica rica en DHA para dietas para salmones (Betancor et al., 2015a, Betancor et al., 2015b, y Betancor et al., 2016). Recientemente se han incorporado al mercado aceites vegetales transgénicos ricos en omega-3 HUFAS. Estas nuevas materias primas aún no han sido aprobadas por los consumidores y se espera que su utilización pueda verse masificada dentro de los próximos 5 años siempre que las políticas que resguardan el cultivo de especies transgénicas así lo permitan. Considerando esto último, la necesidad de producir salmones ricos en omega-3

HUFAS alimentados con microalgas resulta ser una alternativa altamente atractiva para la industria salmonicultora nacional. El desarrollo de alimentos ricos en omega-3 y de bajo impacto sobre las pesquerías es un producto necesario para los productores de salmónidos. Las alternativas que brinda la industria de alimentos de peces actualmente considera el uso de microalgas como un suplemento nutricional y no como una solución nutricional completa en forma de dieta. Esto se debe principalmente a que la mayoría de la industria salmonera no ha solicitado un alimento con características especiales en términos de contenido de omega-3 HUFA aun cuando los mercados internacionales estarían dispuestos a comprar un salmón o trucha sustentable enriquecido con microalgas ricas en omega-3 HUFAS.

## SOLUCIÓN PROPUESTA

La producción mundial de alimento para salmón se duplicará en los próximos cinco años, aumentando la demanda de harina y aceite de pescado. Tradicionalmente, el aceite de pescado se ha utilizado como una fuente ideal de ácidos grasos omega-3 de cadena larga poli-insaturados (n-3 LC-HUFA) en alimentación de salmónidos. Sin embargo, la limitada disponibilidad, precio alto y la sostenibilidad ambiental de esta materia prima se han convertido en temas críticos para la industria salmonicultora, obligando a las empresas de alimentos de salmónidos a reducir sucesivamente el aceite de pescado de sus alimentos formulados y por lo tanto afectando el valor nutricional del pez (además de las capacidades y potencial de crecimiento y sistema inmune de los peces).

Aun cuando las iniciativas mencionadas anteriormente se encuentren abordando solucionar el problema planteado en nuestro proyecto, la inclusión de las harinas de microalgas en dietas comerciales se encuentra limitada por el desconocimiento científico-técnico. No existen estudios en Chile y el mundo que

abordenla forma tecnológica de utilización de microalgas como fuentes nutricionales del DHA y EPA para salmónidos. Esto último reafirma las actividades de investigación realizadas en el presente proyecto y su contribución a mejorar el uso de estas materias primas de manera costo eficiente.

Por otra parte, cabe destacar, que los estudios realizados en Noruega relacionados con la importancia de los ácidos omega 3 HUFA en los parámetros productivos del salmón concluyen que el 1% EPA y DHA en la dieta de salmón del Atlántico, un nivel previamente considerado como el nivel mínimo de requerimiento, es demasiado bajo para mantener una buena salud y crecimiento de los peces en condiciones ambientales desafiantes (altas temperaturas de cultivo) (Ruyter et al., 2016). La inclusión de EPA y DHA en las dietas de salmón debería ser suficiente para garantizar todas las funciones metabólicas básicas, como el mantenimiento de la homeostasis fisiológica y la respuesta inmune adecuada (Emery et al., 2017 y Sissener et al., 2016).

Ante el escenario descrito anteriormente, resulta imperativo el continuar realizando investigaciones en torno a la utilización de microalgas ricas en omega-3 LC-HUFA en la alimentación de salmónidos, ya que la creciente demanda por alimentos ricos en estos ácidos grasos para consumo humano exigirá a la industria salmonicultora chilena recurrir a nuevas fuentes ricas en estos compuestos. Adicionalmente, un mayor uso de estas materias primas puede contribuir a desarrollar empresas biotecnológicas en Chile, considerando las condiciones climáticas favorables para su cultivo y producción, lo cual contribuiría a disminuir la dependencia a los mercados internacionales por estos insumos funcionales.

Actualmente, las instituciones de investigación y empresas de alimentos para peces están en busca de nuevos ingredientes alternativos que contengan ácidos grasos omega-3 con el fin de reemplazar el aceite de pescado en las dietas de pre-engorda y engorda de salmónidos. La sustitución de aceite de pescado por alternativas como subproductos de pescado, descartes, capturas incidentales, krill, peces mesopelágicos, organismos genéticamente modificados y microalgas marinas se han evaluado en los últimos años, pero aún queda mucho trabajo por hacer para validar y utilizar restos ingredientes en los alimentos de salmón. Entre las alternativas antes mencionadas, las microalgas heterótrofas de los géneros *Schizochytrium* y *Nannochloropsis* son prometedoras fuentes sostenibles de n-3 HUFA producidas comercialmente. Estas microalgas son extremadamente ricas en ácido docosahexaenoico (DHA, 22: 6, n-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5, n-3), siendo su contenido hasta tres veces más que en el aceite de pescado.

**Tabla I.** Resultados de producción de trucha arcoíris, luego de 68 días de alimentación con 3 dietas, con contenidos crecientes de microalgas marinas (indicados en %) como fuente de EPA y DHA.

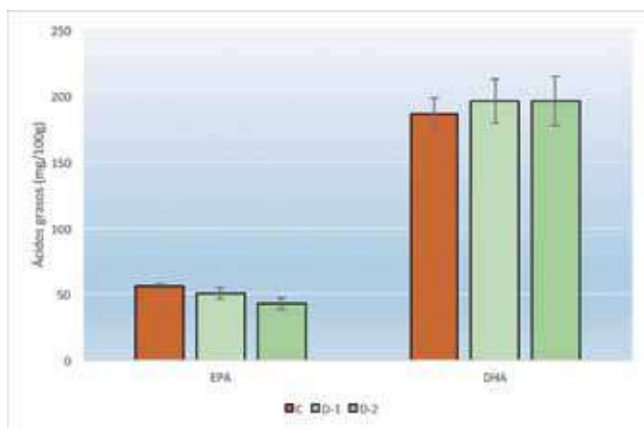
Growth parameters	Control	Diet-1 (9%)	Diet-2 (17%)	P value
Initial weight (g)	189.7 ± 1.1	184.7 ± 2.3	193.1 ± 1.9	0.132
Final weight (g)	281.4 ± 15.4a	244.7 ± 2.5ab	230.7 ± 4.9b	0.022
Gain (g)	91.6 ± 14.4a	60.0 ± 4.8ab	37.6 ± 4.5b	0.024
Feed intake (g/fish)	122.3 ± 19.5	138.5 ± 10.4	117.4 ± 11.8	0.589
SGR	0.58 ± 0.08a	0.42 ± 0.03ab	0.26 ± 0.03b	0.019
FCR	1.34 ± 0.02a	2.31 ± 0.02b	3.14 ± 0.07c	0.0001
HSI	1.68 ± 0.15	1.52 ± 0.14	1.22 ± 0.02	0.084

*Schizochytrium* y *Nannochloropsis* han demostrado que pueden sustituir con éxito los n-3 HUFA provenientes del aceite de pescado en la dieta del salmón del Atlántico, la trucha arcoíris, la tilapia y la dorada en etapas tempranas de crecimiento. Sin embargo, estas microalgas ofrecen algunos desafíos, tanto técnicos y nutricionales, que pueden limitar la inclusión en dietas de peces. En consecuencia, se necesita más investigación para convertir las microalgas ricas en DHA y EPA (*Schizochytrium* sp. y *Nannochloropsis* sp.) en una fuente de reemplazo rentable para el aceite de pescado en los alimentos de salmón.

Esta problemática de la industria nacional del salmón está siendo abordada por un grupo de científicos del Departamento de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios de la Universidad de Los Lagos en conjunto con la Universidad Harper Adams (UK) a través de la ejecución de un proyecto financiado por FONDEF ID16110344, y cuyo objetivo principal es desarrollar y evaluar dietas sustentables ricas en omega-3 y con bajo índice de dependencia de aceite de pescado basadas en el uso de harina de *Schizochytrium* sp. y *Nannochloropsis* sp. como fuente de DHA y EPA, respectivamente, para el cultivo de trucha arcoíris calidad premium.

## RESULTADOS PRELIMINARES

Se elaboró en el marco de este proyecto diferentes dietas con contenidos crecientes de una mezcla de microalgas, para evaluar crecimiento, conversión de alimento, histología de hígado e intestino, y contenido de ácidos grasos EPA y DHA en el tejido muscular. Además se analizó la expresión génica de genes asociados a crecimiento, stress, respuesta inmune y transporte de lípidos, en diferentes tejidos de trucha arcoíris. Las dietas con mayores contenidos de microalgas no contenían aceite de pescado, lográndose así su reemplazo total, lo cual es perseguido en el presente proyecto, además de buscar incrementar el reemplazo de harina de pescado de manera paralela. Las experiencias se están llevando a cabo en el Centro Experimental de Acuicultura y Ciencias del Mar (CEACIMA-Metri), perteneciente al Departamento de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios de la Universidad de Los Lagos. Luego de someter ejemplares de trucha arcoíris a alimentación durante 68 días con estas diferentes die



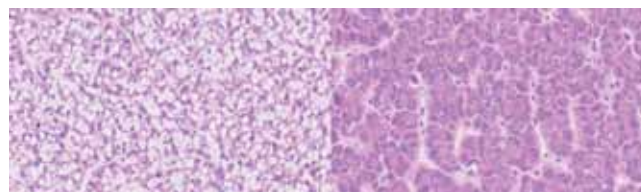
**Figura 1.** Contenido de EPA y DHA en el tejido muscular de 27 ejemplares de trucha arcoíris (9 por cada dieta). Se muestra los promedios (+SD). Se obtuvo diferencias estadísticamente significativas para EPA, entre la dieta Control y la Dieta-2 (con un 17% de contenido de la mezcla de microalgas); para DHA, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre las 3 dietas.

tas con elevados contenidos de microalgas (de hasta un 17%), se obtuvo resultados disímiles: mejor crecimiento y conversión de alimento al utilizar *Schizochytrium* sp., respecto de aquellas dietas que contenían porcentajes crecientes de *Nannochloropsis* sp., debido a una baja digestibilidad de esta microalga. Actualmente se trabaja en el proyecto en pre-tratamientos físico-químicos que aumenten la digestibilidad de estas microalgas, con resultados altamente promisorios hasta el presente.

En cuanto al efecto sobre perfil de ácidos grasos en músculo, estos respondieron a contenido de ácidos grasos en las dietas respectivas. La cantidad de EPA disminuyó a medida que aumentaba la cantidad de harina de microalgas en la alimentación, en respuesta a la disminución de este ácido graso en la dieta. Sin embargo el DHA no disminuyó entre los tratamientos dietéticos, a pesar de lograrse la sustitución completa de aceite de pescado en algunas dietas (Figura 1). Este resultado nos permitiría evidenciar que el pez no tiene preferencias por el origen de los omega-3 HUFA (aceite de pescado o microalga).

El índice hepato-somático (Tabla I) no fue estadísticamente diferente en los peces alimentados con estas dietas experimentales. Al realizar un análisis histológico en hígado e intestino, se observó que las dietas no modificaron la estructura de las vellosidades intestinales, ni se evidenció signos de inflamación del epitelio intestinal. Solamente se observó manifestación de depósitos grasos en el hígado en peces del grupo control, lo cual fue reducido significativamente con las dietas con contenidos crecientes de microalgas (Figura 2).

Respecto de la expresión de los genes marcadores monitoreados, en los tejidos hígado (HSP70), músculo (MyoD), riñón anterior (IL-12) e intestino distal (SCARB1), estos no mostraron diferencias estadísticamente significativas, para ninguna de las diferentes dietas respecto de la dieta control.



**Figura 2.** Hígado de trucha arcoíris (Tinción H&E). Se observa una degeneración vacuolar a la izquierda, correspondiente a un ejemplar alimentado con la dieta Control, donde se obtuvo un engrasamiento hepático en el 67% de los peces. A la derecha se observa el hígado de un ejemplar de trucha alimentado con la Dieta-1 (9% de inclusión de una mezcla de microalgas).

Considerando los resultados obtenidos en este estudio, se puede inferir que la utilización de harinas de microalgas puede reemplazar el aceite de pescado hasta ahora, en un 50% sin afectar significativamente el crecimiento de los peces ni el contenido de EPA y DHA en el tejido muscular. De esta manera, se abren promisorias fuentes alternativas y sustentables de ácidos grasos esenciales para la acuicultura nacional (salmonicultura y otras especies acuáticas igualmente), con un gran potencial, lo cual demanda futuros esfuerzos en investigación científica-tecnológica de elevadísimo impacto nacional y global.

En las etapas siguientes del proyecto se estudiará las proporciones óptimas de inclusión de microalgas, su combinación con diferentes aceites, y el pre-tratamiento óptimo para aumentar la eficiencia de incorporación de ácidos grasos esenciales al tejido muscular de los peces alimentados con estas dietas sustentables para la salmonicultura nacional.

## Referencias

- Betancor, MB, Sprague, M, Sayanova, O, et al. (2015a)** Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. *Aquaculture* 444, 1–12.
- Betancor, MB, Sprague, M, Sayanova, O, et al. (2016)** Nutritional evaluation of an EPA-DHA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLOS ONE* 11, e0159934.
- Betancor, MB, Sprague, M, Usher, S, et al. (2015b)** A nutritionally-enhanced oil from transgenic *Camelina sativa* effectively replaces fish oil as a source of eicosapentaenoic acid for fish. *Sci Rep* 5, 8104.
- Emery, JA, Norambuena, F, Trushenski, J, et al. (2016)** Uncoupling EPA and DHA in fish nutrition: dietary demand is limited in Atlantic salmon and effectively met by DHA alone. *Lipids* 51, 399–412.
- Huerta-Yépez S, Tirado-Rodríguez AB, Hankinson O (2016)** Role of diets rich in omega-3 and omega-6 in the development of cancer. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 73: 446-456.
- Ruyter, Bente; Bou, Marta; Bæverfjord, Grete; Østbye, Tone-Kari K; Ytrestøyl, Trine; Bjerke, MålfridTofteberg; Sigholt, Trygve; Berge, Gerd-Marit (2016)** Langtidseffekter av lave omega-3 nivåer i fôr på laksens helse. *Nofimarapportserie* (26/2016).
- Sissener, NH, Torstensen, BE, Stubhaug, I, et al. (2016)** Long-term feeding of Atlantic salmon in seawater with low dietary long-chain n-3 fatty acids affects tissue status of the brain, retina and erythrocytes. *Br J Nutr* 115, 1919–1929.
- Tocher, DR (2015)** Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture* 449, 94–107.

# Observatorio para la sustentabilidad del Ecosistema Acuicultor (OSEA):

## UNA MIRADA HUMANA Y CIENTÍFICA AL AMBIENTE MITILICULTOR



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS



Gonzalo Gajardo, Patricia Beristain, Mauricio Quiroz y Cristian Aguilar  
Laboratorio de Genética, Acuicultura & Biodiversidad. Universidad de los Lagos, Osorno.  
ggajardo@ulagos.cl www.acuicultura-osea.cl

Figura 1. Ecosistema acuicultor, compartido por múltiples usuarios y sometido a múltiples presiones, entre otras el cambio climático.



*El equipo OSEA fue testigo del impacto del evento de Marea Roja del 2016 sobre las comunidades humanas ("Mayo chilote") y de choritos (*Mytilus chilensis*) en los centros de engorda. Este proyecto FIC-GORE Gobierno de la Región de Los Lagos demostró, aunque en un período breve de dos años, la importancia de monitorear regularmente el ecosistema que hospeda a la industria acuícola ("ecosistema acuicultor"), de contar con marcadores genéticos relacionados con la adaptación y con una especie "centinela" como el chorito para pesquisar perturbaciones y calidad ambiental.*

## Objetivos

- Integrar a los grupos de interés (stakeholders) que comparten el uso del ecosistema acuicultor, incluyendo grupos originarios, para conocer sus preocupaciones y planear estrategias de manera participativa para una acuicultura responsable y sustentable.
- Generar datos científicos sobre la diversidad genética adaptativa, espacial (7 localidades) y temporal, de choritos de cultivo los cuales son especies filtradoras “testigos” del ecosistema acuícola.
- Difundir y transferir a los beneficiarios información clave para fortalecer la toma de decisiones.
- Integrar a la comunidad escolar a la realidad pesquero-acuícola regional para que adquieran una cultura de explotación y manejo sustentable de recursos en un ecosistema compartido.

El uso de un ecosistema compartido y sensible como el mar interior de Chiloé ofrece beneficios (servicios) pero también demanda responsabilidad a los usuarios. La Convención sobre Diversidad Biológica (CBD, en inglés) ha llamado a los países firmantes, Chile entre ellos, a explotar de manera responsable los recursos genéticos y a proteger los ecosistemas que los contienen considerando su beneficio económico y social. Explotar de manera sustentable el ecosistema acuicultor requiere proteger su diversidad, tanto al nivel de especies como de genes, puesto que de éstos depende el potencial evolutivo de las especies y de poblaciones. La premisa del proyecto fue que ante el creciente impacto de perturbaciones antrópicas, sean directas como la acuicultura o indirectas como el cambio climático, un Observatorio como OSEA era necesario por sus beneficios en múltiples dimensiones: temporal, ambiental, económica y social. Desde la perspectiva de los grupos de interés (stakeholders), que utilizan el ecosistema acuicultor (Fig. 1), la aproximación sustentable-ecosistémica es una responsabilidad ineludible y compartida.

## OSEA, un proyecto de pertinencia regional

OSEA fue financiado por el Gobierno de la Región de Los Lagos a través del Fondo para la Innovación Competitividad, FIC 2014 (código BIP 30423060, para cumplir 4 objetivos (ver recuadro) en concordancia con la Estrategia Regional de Innovación (ERI) orientada a “potenciar y maximizar las ventajas comparativas regionales para construir ventajas competitivas” y también para la diversificación productiva en base al saber hacer de los sectores productivos y del potencial existente en la región” Los productos de OSEA fueron: 1) Página Web [www.acuicultura-osea.cl](http://www.acuicultura-osea.cl) con una Base de Datos Geo-referenciada asociada, de libre uso, la cual contiene toda la información obtenida por el proyecto; 2) Protocolo para identificar, amplificar, secuenciar y comparar fragmentos de los genes Receptor Asociado al Factor de Necrosis Tumoral (TRAF6) cuyo gen codifica para una proteína esencial para la correcta activación del sistema inmunológico (Walsh et al., 2015) y de la Proteína Fenólica del Biso (PFB) cuyo gen codifica para una de las proteínas involucradas en la fijación del chorito al sustrato, que influyen, respectivamente, en la sobrevivencia y en la capacidad de fijación individual; 3) Caracterización socio-económica de la pesca artesanal en Chiloé; 4) Video de difusión del proyecto; 5) Guías de apoyo para que la comunidad educativa de Chiloé incorpore la sustentabilidad de los recursos marinos y de su ecosistema en su práctica habitual.

## La dimensión humana de OSEA

La Región de los Lagos cuenta con 82 caletas base en las que se registran los desembarques de 175 organizaciones de la pesca artesanal. A través de seis talleres participativos el equipo OSEA convocó a 21 de estas organizaciones, cooperativas y asociaciones de las comunas de la Región. A través de cartografía participativa y debates abiertos se pudo conocer su percepción sobre sustentabilidad y acuicultura a pequeña escala en escenarios de co-gestión y co-manejo de recursos naturales, así como



Figura 2. Figuras disponibles en el Mapa Geo-Referenciado. Frecuencia y distribución de variantes del gen PFB (arriba) y frecuencia y distribución de las 8 variantes de la proteína codificada por el gen TRAF (abajo).

las condiciones organizacionales y productivas de la pesca artesanal. Paralelamente se entrevistó a 12 informantes claves, considerados pertinentes para tener una aproximación inicial a su racionalidad ambiental y productiva. En general, la preocupación está en la desarticulación territorial y social de la pesca artesanal lo que es un obstáculo para el desarrollo sustentable. La pesca artesanal visualiza que las relaciones económico-productivas y las condiciones territoriales (ecosistema-paisaje-cultura) y locales (social-política) impactan negativamente sobre los recursos y su co-manejo, y ven con especial preocupación las perturbaciones antropogénicas producto del desarrollo de la industria acuícola en Chiloé. El “Mayo Chilote” dejó en evidencia que los conflictos y problemáticas socio-económicas postergan temas como la sustentabilidad y el ecosistema en general, y mostró las debilidades en las organizaciones territoriales y también macro-territoriales en lo referido a formas de gestión y participación en la toma de decisiones. Desde el prisma de OSEA creemos que se hace necesario fortalecer las formas de organización e instalación de otras formas de liderazgo, así como la puesta en marcha de planes de ordenamiento territorial considerando actividades de tierra y mar, con asistencia técnica y transferencia tecnológica con base científica, que permitirán dar fluidez a las relaciones socio ecológicas propias de un co-manejo sustentable y sostenible.

Creemos que los pescadores artesanales son agentes activos del desarrollo de sus territorios y son capaces de generar estrategias adaptativas para continuar sus condiciones de vida reconociendo la amplia diversidad ambiental, sus capacidades auto-organizativas y sus formas de conocimiento.

### Choritos como testigos del evento de Marea Roja del 2016

Luego del lanzamiento del proyecto en Marzo de 2016 el equipo OSEA realizó la primera colecta de choritos en los centros de engorda que cooperaron, de las localidades de Pullinque, Quemchi, Curaco de Vélez, Quinchao, Quinchad, Queilen y Yaldad. La muestra de Marzo es el control previo al evento de Marea Roja de Mayo, lo que nos permitió comparar la conducta de los marcadores genéticos antes y después del evento, hasta el término del proyecto. Es importante resaltar que observar y evaluar el fenómeno FAN fue producto de las colectas estacionales de OSEA, la selección del chorito como especie “testigo”, que por su condición de filtrador conserva una memoria de la situación ambiental al momento de la colecta y, finalmente, el disponer de herramientas adecuadas (genes TRAF6 y PFB). Debido a que fuimos testigos del evento de marea roja del año 2016, la hipótesis de trabajo planteada fue que el paisaje genético en cada localidad (distribución espacial y temporal de haplotipos) fue afectado por la FAN.

En la situación control (Marzo de 2016) detectamos 20 variantes (haplotipos) en el fragmento de ADN del gen TRAF6 y 23 variantes en el gen PFB, algunas con alta frecuencia como se señala en rojo en la Fig 2 (foto de la Base de Datos Geo-

referenciada). Estas variantes producen cambios en la proteína deducida del gen TRAF6 que se traduce en 8 conformaciones potencialmente diferentes. La frecuencia de estas variantes y de genotipos disponibles en cada individuo, dentro y entre centros de cultivo, fue monitoreada durante 24 meses. El caso de PFB aporta información adicional pues el fragmento del gen secuenciado contiene un sitio de corte específico para la enzima de restricción Aci I (Tarifeño et al, 2012) para las especies *M. edulis* y *M. galloprovincialis*, sitio que no tiene la especie *M. chilensis*, lo que permitió descartar la presencia de animales exóticos en toda la muestra (100% *Mytilus chilensis*).

Previo al evento FAN las variantes de cada gen estaban distribuidas de manera relativamente homogéneas entre los centros de cultivo, situación que cambió en las muestras colectadas posteriormente. Es decir, las variantes más frecuentes antes del evento (adaptadas a la condición ambiental local previa) disminuyeron lo que significa que los individuos portadores habrían mermado, mientras que aparecieron variantes que eran menos frecuentes antes del evento. Adicionalmente, apareció otra variante (H6) no registrada previamente. Estos cambios tienden a revertirse en el muestreo 4 (campaña del verano 2017) lo que indicaría que hay variantes y genotipos adaptados localmente (ambiente sin perturbación).

La heterocigosidad, es decir el número de individuos heterocigotos (con haplotipos diferentes) para cada gen del total de individuos analizados en cada centro de cultivo es una medida aproximada de su salud genética, pues a mayor heterocigosidad mayor es la capacidad de responder a perturbaciones ambientales. En general las poblaciones muestran heterocigosidades cercanas al 50% (Pullinque, Quinchao, Queilen y Yaldad) mientras que Quemchi exhibe un 40% de heterocigotos

### Difusión y Base geo-referenciada de datos.

El taller de cierre realizado en Castro el 13 de Julio reunió a todos los stakeholders, incluyendo representantes del GORE y autoridades de la Universidad de los Lagos, y fue la oportunidad para discutir con los presentes la importancia de los resultados. Se valoró especialmente los marcadores genéticos disponibles y su relación con potenciales mejoras al proceso productivo, especialmente en lo referido a evaluar la calidad de reproductores, semilleros y animales en engorda. Igualmente, para evaluar el impacto sobre la variabilidad genética de los trasplantes desde semillero a sitios de engorda, puesto que por definición un trasplante desde el sitio original a uno nuevo implica pérdida de la capacidad adaptativa. Hubo consenso en la necesidad de continuar con la versión 2.0 de OSEA para incorporar estas limitaciones o desconocimientos, y para ello los empresarios presentes ofrecieron su colaboración. El video del proyecto entrega algunas opiniones de los presentes (Fig. 3).

Durante el evento se presentó la Base de Datos Geo-referenciada que el proyecto OSEA ha puesto a disposición de la comunidad de colaboradores e interesados en general (Fig. 2).



Figura 3. Difusión del proyecto. El taller final en Castro contó con la presencia de representantes del Gobierno Regional y de la Universidad de los Lagos, y fue la oportunidad para discutir los datos, especialmente los de genética los que se consideran relevantes en varios estados del sistema productivo (fotos de arriba y centro). También se realizaron talleres participativos con la comunidad de pescadores artesanales, el taller de lanzamiento en Marzo de 2016 y, finalmente, algunos asistentes colaboraron con su impresión sobre el proyecto para el video del mismo, como los representante de la empresa Toralla y de INTEMIT.

### Bibliografía

Tarifeño, E., Galleguillos, R., Llanos-Rivera, A., Arriagada, D., Ferrada, S., Canales-Aguirre, C. and Seguel, M. (2012) Erroneous identification of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*. (Lamarck 1819) as the specie, *Mytilus chilensis* (Hupe 1854) in the Bay of Concepcion, Chile. *Gayana* 76(2): 167-172.

Walsh, M. C., Lee, J., & Choi, Y. (2015). Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) regulation of development, function, and homeostasis of the immune system. *Immunological reviews*, 266(1), 72-92.

Zhao, X., Guo, C., Han, Y., Che, Z., Wang, Y., Wang, X., ... & Liu, G. (2017). Ocean acidification decreases mussel byssal attachment strength and induces molecular byssal responses. *Marine Ecology Progress Series*, 565, 67-77.

### Agradecimientos

GORE X Región por el financiamiento. A las siguientes entidades y personas (en orden alfabético): AMICHILE; Agrupación de Orilleras de Duhatao; APE Yaldad; Asociación de Mitilicultores de Chiloé; Comercial y Aislantes Sur Pol Ltda; Comunidad Indígena Folil Trincao; Comité de Manejo Bahía Ancud; Concesión Marítima de Ancud; Consejo Territorial de Pescadores Artesanales y Pueblos Originarios del Territorio Sur Austral PRODELMAR; Empresa Lamar Asociados; Sra. Doris Vargas; Sr. Edgardo Bórquez; Sr. Eduardo Mondaca; Escuela José Aberlardo Núñez de Maullín; Federación de Pescadores Fuerza Chiloé; Ilustres Municipalidades de: Chonchi; Quellón, Queilen, Quinchao; Liceos: Insular de Achao; Polivalente de Queilen, Rayen Mapu de Quellón; INTEMIT; Sra. Marcela Flores, Geonodo Los Lagos; Sr. Mauricio Piñeiro; ONG Defendamos Chiloé, Sociedad Cultivos Marinos Lincay; STI: Algueros Changue, Chaiguao, Comuna de Chonchi, Costa del Mar de Huelden, El Futuro, EL Palqui, Estero Compu, Los Abandonados de Ancud, Los Chungungos de Huentemo; Muelle Ancud, Muelle de Quellón, Polocue, Río Pudeto, Pupelde, Viento Sur, Vivimos del Mar; SERNAPESCA, Oficina Quellón, Sociedad Cultivos Marinos Lincay; Sr. Víctor Guaguín.

# Declaración y recaudación fiscal 2018



[www.asesoria-gestion.cl](http://www.asesoria-gestion.cl) · [www.propiedadesosorno.cl](http://www.propiedadesosorno.cl)

De acuerdo a los datos publicados por el SII del total de las declaraciones presentadas por los contribuyentes se objetaron 416.599 declaraciones de Impuesto a la Renta, un 11,3% del total.

Al ver estos resultados se puede inferir que los errores cometidos son bajos o los contadores se lograron preparar adecuadamente para este año de cambios de reformas tributarias y modificaciones de regímenes de tributación.

Las declaraciones de renta aumentaron en un 6,57% más que el año anterior, de este total, el 80,89% corresponde a solicitudes de devolución; 8,23%, a declaraciones con pago de impuestos y 10,88% a declaraciones calzadas (sin devolución ni pago).

De los contribuyentes que presentaron su declaración de impuestos, el 68,38% corresponde a personas; 24,93% a micro empresas; 5,33% a pequeñas empresas; 0,89% a medianas y 0,47% a grandes contribuyentes.

Las devoluciones solicitadas en 2018 superaron los \$3,612 billones, con una reducción del 10% respecto del año anterior (-25% en el caso de grandes contribuyentes). En tanto, los montos pagados este año superaron los \$2,95 billones, un 7% más que en 2017 (32% en grandes empresas).

Empresas declarantes por tipo de régimen

RÉGIMEN	CANTIDAD	%
Renta Atribuida (14A)	587.789	51,9%
Semi integrado (14B)	161.296	14,3%
14ter	272.926	24,1%
Renta Presunta	109.891	9,7%
<b>TOTAL</b>	<b>1.131.902</b>	<b>100,0%</b>

Como se puede apreciar más de la mitad de las declaraciones de las empresas fueron realizadas por el sistema de renta atribuida

correspondiente al régimen del 14 A, la Renta atribuida se caracteriza por disponer la tributación total de las rentas percibidas o devengadas por las sociedades o empresas, en el mismo ejercicio de su generación, manteniéndose la integración total entre ambos impuestos, es decir la utilidad tributaria del periodo de la empresa pasa directamente al Global Complementario del socio. En este régimen, se atribuye el 100% de la utilidad al socio, la cual ingresa al Global Complementario de cada persona en el porcentaje de participación que posea en la empresa, sin importar los retiros que hubiese realizados. La Renta Líquida de la empresa se grava con tasa del 25%, este impuesto será utilizado por los socios como crédito al impuesto global en su totalidad.

Al integrar la tributación de la empresa y los socios en el mismo periodo, no quedan utilidades pendientes de tributación.

Para el sistema semi integrado 14 B se acogieron el 14,3% del total de las empresas que declararon sus impuestos, en este sistema Opera un mecanismo de tributación similar al vigente hasta el 31/12/2016, en el cual los socios tributaban en base a los retiros, en este caso también se busca la postergación en el pago de los impuestos finales, pero la tasa del impuesto a la renta es de 27% , 2% mayor al 14 A y el crédito a imputar al Impuesto Global Complementario se castiga en 35%, perdiendo 9,47 puntos de la tasa pagada en este sistema.

Para el caso del 14 ter el porcentaje de empresas que optaron es de 24,1%, el cual no es menor sobre la muestra, se debe considerar que este es un sistema muy adecuado para pequeñas empresas, de las cuales la mayoría debe haber operado bajo este sistema, es un nuevo Régimen Simplificado de Tributación según el cual los contribuyentes declararán y pagarán el Impuesto de Primera Categoría y el Impuesto Global Complementario o Adicional, según corresponda, sobre la base de sus ingresos anuales netos devengados (ingresos menos egresos).

El propósito de este sistema de tributación es ayudar a las pymes a contar con una mayor liquidez, una simplificación de la contabilidad y una mayor facilidad para el cálculo y pago de impuestos.



Se libera al contribuyente de algunas obligaciones tributarias como:

- ✓ Llevar contabilidad completa.
- ✓ Practicar inventarios de bienes.
- ✓ Confeccionar balances.
- ✓ Efectuar depreciaciones.
- ✓ Aplicar corrección monetaria.

Sólo dos registros son obligatorios para los contribuyentes acogidos a este sistema y estos son: el libro de compra y venta y el libro de caja. Si los contribuyentes están afectos a IVA, deben llevar un libro de compras y ventas. Si no está afectos a IVA, es necesario que tengan un libro de ingresos y egresos.

## Rentas presuntas

En este tipo de tributación el Estado presume la renta de los contribuyentes, independientemente de los resultados reales obtenidos en su actividad económica y sin considerar su contabilidad. Muy distinto a la renta efectiva, que hace referencia a las ganancias reales de una determinada explotación.

Este régimen se halla dirigido, especialmente, a las pequeñas y medianas empresas dedicadas a actividades de transporte, minería y explotación de bienes raíces agrícolas y no agrícolas.

Por lo que la presunción se determina en base a ciertos hechos conocidos, como:

- ✓ Avalúo fiscal de los inmuebles (agrícolas y no agrícolas).
- ✓ Valor de tasación de los vehículos.
- ✓ Valor anual de las ventas de productos mineros.
- ✓ A estos valores se les aplica un porcentaje, a fin de obtener la base sobre la cual se aplicará el Impuesto a la Renta.

## Tipos de rentas presuntas y porcentajes

Según la actividad económica, la ley determina los porcentajes a aplicar para deducir la renta de las personas naturales o empresas que se acogen a este sistema de tributación. A saber:

### 1. Propietarios o usufructuarios de inmuebles agrícolas (10%)

En este caso, la renta presunta corresponde al 10% del avalúo fiscal del predio, y la tributación con que se afecta es de primera categoría, y global complementario o adicional, según sea el caso.

### 2. Arrendatario de inmuebles agrícolas

Para las personas o empresas que explotan terrenos agrícolas en arriendo, se presume una renta del 4% del avalúo fiscal del bien.

### 3. Arrendadores de bienes raíces no agrícolas

Para los arrendadores de inmuebles no destinados a la actividad agrícola, la tasa aplicable es del 7% del avalúo fiscal de la propiedad, y tributan por global complementario o adicional, es decir, que no cancelan impuesto de primera categoría, sino que pagan directamente el impuesto terminal.

### 4. Transportistas

En este caso, la renta se presume de acuerdo con el valor de los vehículos utilizados para ejecutar la actividad económica. Cabe

señalar que dicho precio se obtiene de la tasación que de éstos publique el Servicio de Impuestos Internos. Tanto propietarios como arrendatarios tributan sobre el 10% del valor definido en plaza.

## 5. Mineros

Las personas y empresas dedicadas a la minería no tributan de acuerdo con el avalúo de los bienes usados en el desarrollo de su actividad económica, sino que lo hacen en base al monto de sus ventas anuales. Al igual que con los arrendadores, solo se les aplica el impuesto terminal.

## 6. Requisitos para acogerse y permanecer en el régimen

Dados los beneficios que supone no tributar bajo el sistema de renta efectiva, los únicos contribuyentes que pueden optar por este régimen son:

- Personas naturales que actúen como empresarios individuales (EI).
- Empresas Individuales de Responsabilidad Limitada (EIRL).
- Comunidades (Cm).
- Cooperativas (Co).
- Sociedades de Personas (SP) y Sociedades por Acciones (SpA), conformadas por comuneros, cooperados, socios o personas naturales.

Adicionalmente, las ventas o ingresos netos anuales de la primera categoría no pueden exceder los siguientes límites:

- Agrícola: 9.000 UF.
- Transporte terrestre: 5.000 UF.
- Minería: 17.000 UF.

Sin duda, se trata de un régimen cuya carga de obligaciones accesorias es mucho menor.

## Devoluciones retenidas y Proceso de Fiscalización

Según los datos indicados por el SII Sólo el 4% de los contribuyentes de bajo riesgo (117.657) enfrentó una retención parcial o total de su solicitud de devolución.

Por otro lado, el 85% de los 17.548 contribuyentes de alto riesgo que solicitó devolución tuvo una retención parcial o total de ésta, por un monto equivalente a \$1,066 billones. Estos contribuyentes serán llamados para presentarse en las oficinas del SII con los antecedentes que acrediten su información o deberán rectificar su declaración.

Así, este año se retuvo parcial o totalmente al 9% de los contribuyentes con solicitudes de devolución, por un monto equivalente a más de \$1,82 billones.

En cuanto a los principales focos en los que se concentrará la fiscalización, el SII informa que se contemplan acciones de control especial sobre:

- ✓ Los 77.909 contribuyentes que, pese a registrar ingresos durante el 2017, aparecen como no declarantes en el proceso.
- ✓ Los subdeclarantes del Impuesto Global Complementario; los contribuyentes de altos ingresos y alto patrimonio con declaraciones de renta que no se condicen con esa característica; y quienes registran inversiones, pero no acreditan rentas que las sustenten.

- ✓ Los subdeclarantes de Primera Categoría; los contribuyentes que declaran pérdidas, pero han tenido utilidades, y la sobreutilización de la depreciación por activo fijo. A las empresas que declaran pérdidas, pese a que la información disponible en el SII muestra utilidades, se les ha estado aplicando modelos matemáticos que buscan determinar los márgenes de utilidades de empresas comparables en el mismo sector económico, región, tamaño o antigüedad.
- ✓ Habrá un monitoreo especial sobre la declaración de rentas nacionales o extranjeras obtenidas mediante terceros, custodios o intermediadores que no son instituciones financie-

ras, información recabada a través de la Declaración Jurada N°1932. Se detectaron ingresos no declarados por este concepto por \$29.509 millones.

Esto nos demuestra la importancia de efectuar declaraciones de renta con profesionales que tengan una preparación sólida y con capacitaciones actualizadas respecto de los cambios que se presentan en cada una de las áreas de estudio, el tener un profesional a su servicio con adecuadas capacitaciones no es un gasto para su negocio es una inversión que rinde frutos que no siempre se ven en su total dimensión.

Conceptos	Presunta	14 ter (Simplificada)	14A (Atribuida)	14B (Semi integrado)
Resumen	Régimen de tributación que paga impuesto sobre la base de una renta presunta	Régimen simplificado que libera al contribuyente de algunas obligaciones tributarias.	Régimen de tributación en base a contabilidad completa con imputación total de crédito del Impuesto de Primera Categoría a los socios.	Régimen de tributación en base a contabilidad completa con imputación parcial de crédito del Impuesto de Primera Categoría a los socios.
Contribuyentes que pueden optar	Micro y Pequeñas empresas (Agrícolas, Transporte y Minería)	Micro, Pequeñas y Medianas empresas	Cualquier segmento	Cualquier segmento
Ingresos Max anuales	Montos en UF: Agrícola ≤ a 9.000 Transporte ≤ a 5.000 Minería ≤ a 17.000	Promedio de los 3 últimos años comerciales ≤ a 50.000 UF	Sin límite de ingresos	Sin límite de ingresos
Formas jurídicas que se pueden acoger	* Empresas Individuales * Empresas Individuales de Responsabilidad Ltda. * Comunidades. * Cooperativas. * Sociedades de Personas. * Sociedades por Acciones. Los tipos de sociedades nombrados deben estar conformadas en todo momento por personas naturales.	Año 2016: Todo tipo de contribuyente (persona natural o jurídica). Año 2017: * Empresas Individuales. * Empresas Individuales de Responsabilidad Ltda. * Comunidades. * Sociedad de Personas (excluidas las en comandita por acciones). * Sociedad por acciones.	* Empresas Individuales. * Empresas Individuales de Responsabilidad Ltda. * Comunidades. * Sociedades de Personas (excluidas las en comandita por acciones). * Sociedades por Acciones. * Agencias (Art 58 N° 1).	* Sociedades Anónimas abiertas. * Sociedades Anónimas Cerradas. * Sociedad por Acciones. * Sociedad en Comandita por acciones. * Sociedad de Personas. * Agencia (Art. 58 N°1).
Tributación de la empresa	Impuesto determinado primera categoría sobre la base imponible que depende del giro del contribuyente: - Bienes raíces agrícolas 10% de avalúo fiscal del predio. - Transporte terrestre de carga o pasajeros 10% del valor corriente en plaza del vehículo, incluido su remolque, acoplado o carro similar. - Minería depende del metal del que se trate. Se aplica un porcentaje sobre las ventas netas anuales, según el precio promedio de la libra de cobre.	Impuesto determinado primera categoría sobre la Base Imponible, que se determina a partir de la diferencia entre los ingresos percibidos y los egresos pagados en el periodo.	Impuesto determinado primera categoría sobre la Renta Líquida Imponible de la empresa.	Impuesto determinado primera categoría sobre la Renta Líquida Imponible de la empresa
Tasa de impuesto	2017 25% 2018 25%	2017 25% 2018 25%	2017 25.5% 2018 27%	2017 25% 2018 25%
Crédito socios	100% del crédito	100% del crédito	100% del crédito	Crédito parcial del 65%
Quedan utilidades por tributar	NO	NO	NO	SI

# opción<sup>®</sup>

comunicaciones

AGENDAS TÉCNICAS  
CORPORATIVAS



REVISTA TÉCNICA  
SEMESTRAL



CUADERNOS  
CORPORATIVOS



CALENDARIOS  
DE ESCRITORIO



**CONTACTO:** +56 9 9443 3504 +56 9 9443 3076  
publicidad@opcionaraya.cl  
[www.opcioncomunicaciones.cl](http://www.opcioncomunicaciones.cl)



Universidad Austral de Chile

Escuela de Graduados - Sede Puerto Montt

Doctorado en Ciencias  
de la Acuicultura

Programa  
**ACREDITADO**



**3 años**

Hasta noviembre 2021

# Ve más allá

# DOCTORADO

## en Ciencias de la Acuicultura

REPRODUCCIÓN, DESARROLLO Y CRECIMIENTO DE RECURSOS ACUÍCOLAS

NUTRICIÓN ACUÍCOLA

SUSTENTABILIDAD Y MANEJO DE RECURSOS MARINOS

SANIDAD Y PRODUCCIÓN ANIMAL

BIOLOGÍA MOLECULAR ACUÍCOLA

GENÉTICA ACUÍCOLA



**G9**

UNIVERSIDADES  
PÚBLICAS  
NO ESTATALES



### CONTACTO

[marcelaastorga@uach.cl](mailto:marcelaastorga@uach.cl) / [egpm@uach.cl](mailto:egpm@uach.cl)

+56 65 227 7122 / +56 65 227 7142

[www.doctoradoacuicultura.uach.cl](http://www.doctoradoacuicultura.uach.cl)