

Distribución Gratuita
Consérvela Año 10 Nº19 2013

revista

versión

diferente

Salmón-Acuícola



Investigaciones de importantes Universidades Chilenas



ACTUALIDAD INFORMATIVA

**Antecedentes biológicos
del Piojo de Mar**

**Gestión Sanitaria
en la Salmonicultura**

**Perfil Metabólico
en Salmónidos**

Acuicultura Sustentable

HSMI –SRS

**Eficacia en Vacunas
contra Caligidosis**





SpaceWise

Soluciones Modulares



Arriendo de Contenedores y Módulos:

- Contenedor marítimo 20' STD dry.
- Contenedor marítimo 40' STD dry.
- Contenedor marítimo 40' HC dry.
- Contenedor marítimo 40' HC Reefer.
- Oficina 20' Planta Libre con y sin Baño.

Venta de Contenedores y Módulos.

- Contenedor marítimo 20' o 40' STD dry.
- Contenedor marítimo 40' HC dry.
- Contenedor marítimo 40' HC Reefer.
- Contenedor Bodega de 20' o 40'.
- Oficina 20' Planta Libre con y sin Baño.
- Oficina de 40' Planta Libre con Bodega.
- Batería de Baños.
- Módulos Armables.
- Módulo Europeo de 6 x 3 metros.





Año 10 - Nº 19
2º Semestre 2013

Distribución Gratuita a nivel Nacional
Semestral
3.000 unidades

EDITORES

Opción Comunicaciones
Cel: 09 443 3504 - 09 443 3076
opcionaraya@tie.cl
publicidad@opcionaraya.cl

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

Verónica Etcheverry Riquelme
verdisgraf@gmail.com

FOTOGRAFÍAS PORTADA

Gentileza de:

- Carlos Sandoval
- Salmones Trusal S.A.
- Centro de Microscopía Avanzada
CMA Bío-Bío, UDEC.

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
comunicaciones
SU MEJOR OPCION EN PUBLICIDAD

**Porque somos diferentes,
publique con nosotros**

Fonos: 09 443 3504 - 09 443 3076
opcionaraya@tie.cl
publicidad@opcionaraya.cl

Avisadores

7 Plagas	136	KEBT Chile	135
ASN	99	Lota Protein	T4
Aufiser	11	Maestranza Chilena	131
Centrovét-Virbac	31	Nauticentro	86
CIBA	59	Plásticos Austral	117
Compass Group	46	Rilab	35, 43, 51, 71, 91
D&C	73	Roble Alto	57
DigiPress	21	Saesa	100
DVP	130	Salfa Sur	17, 30, 42
Entel	T3, 44	Sitrans	105
Etecma	58	Spa Fish Austral	85
Hotel Solace	20	Space Wise	T2
Ice Market	87	Técnica Pompe	53, 65, 84
IST	72	Veterquímica	22
Kaufmann	52	Villalba Aceros	36
Kaweshkar	111		

Contenidos

Indice de Universidades	02
Editorial	03
Ferias Internacionales	04
Fases Lunares	05
Ferriados Internacionales	06
Mareas Puerto Montt	07
Mareas Puerto Chacabuco	09
Inflamación del Músculo Esquelético y Cardíaco (HSMI)	18
Rickemune-Vax® una protección a largo plazo contra el Síndrome Rickettsial del Salmón SRS	23
Sernapesca, Gestión sanitaria en la salmonicultura: pasado, presente y futuro	27
Eficacia en Vacunas Contra Caligidosis: Una aproximación estadística	32
I&D en el Diagnóstico de <i>Renibacterium salmoninarum</i>	48
Estudio de las relaciones filogenéticas de aislados de <i>Listeria monotectyógenes</i> , obtenidos de la industria acuícola	66

Índice de Universidades

SUS ESTUDIOS E INVESTIGACIONES

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE Antecedentes biológicos para un manejo integrado del piojo de mar.	12	UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE Centro de Biotecnología Acuícola, CBA, Facultad de Química y Biología.	106
Respuesta inmune innata en <i>Salmo salar</i> : Rol de los receptores tipo toll en el reconocimiento de los patógenos.	38	Plataforma para la producción <i>in situ</i> de proteínas con actividad estimulante de la respuesta inmune en salmónidos.	107
Lodos de pisciculturas de la región de los lagos y potencial uso como fertilizante orgánico: resultados preliminares.	54	Desarrollo de un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias: Una oportunidad para controlar el riesgo del virus ISA como reservorio en sistemas dulceacuícolas y marinos.	108
Respuesta de las comunidades bentónicas al desarrollo de la actividad mitilicultora.	76	Desarrollo de una formulación a base de extractos de plantas, destinado al control del estrés y a mejorar la sobrevivencia de salmónes durante el proceso de esmoltificación.	110
Juicio Experto: Una aproximación para la validación de indicadores bióticos de impacto en el sistema bentónico.	80	UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA Postgrado	112
UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS Siembra de trucha arcoíris: Antecedentes sobre su adaptación al agua de mar durante el proceso productivo.	120	Productos de valor agregado utilizando lodos y mortalidad de las Pisciculturas.	113
UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL NORTE Perfil metabólico en Salmónidos, bases para una estandarización metodológica: Parte 1	60	Bioautografía: Una técnica rápida y eficiente para la determinación de compuestos activos en mezclas complejas.	118
Avances tecnológicos para el Cultivo Sustentable de peces en Balsas-Jaulas.	88	UNIVERSIDAD DE SANTÍSIMA CONCEPCIÓN Facultad de Ciencias	123
Doctorados UCN	92	Centro Regional de Estudios Ambientales	124
<i>Terebrasabella heterouncinata</i> : Un problema relevante para la abalonicultura nacional.	93	UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN Red de observación oceanográfica en línea: herramienta imprescindible para el desarrollo sustentable de la Patagonia.	126
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO Postgrado	96	Apoyando la investigación en acuicultura a través de Microscopía Láser de última generación: Centro de Microscopía Avanzada en la Región del Bío-Bío	132
Hacia una acuicultura sustentable, ¿Cómo evaluar la salud de un ecosistema?.	97		
UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO Formulación de una pintura antifouling a base de principios activos naturales ambientalmente amigables.	102		

opción[®]

comunicaciones

Como se señaló en la primera edición de este año 2013, se optó por cambiar la fecha de publicación de la segunda edición y así facilitar a los panelistas estables e investigadores, el despacho de sus respectivos artículos. Desde ya agradecemos su comprensión y los invitamos a recoger como habitual las nuevas fechas de publicación, de esta manera buscamos mejorar nuestras publicaciones futuras.

Esperamos al igual que en ediciones anteriores podamos aportar artículos que sean de interés para usted. Como siempre queremos agradecer la variedad de artículos técnicos de extensión académicos y de empresas proveedoras de la industria salmonera, que hacen un importante aporte para esta edición en particular, consolidando la revista "Versión Diferente" como el medio escrito técnico científico de extensión más leído y esperado en cada edición semestral.

Para esta edición los temas a tratar entre otros son: "Antecedentes biológicos del Pijo de Mar", "HSMI", "SRS", "Gestión Sanitaria en la Salmonicultura", "Respuesta Inmune en Salmo Salar", "Diagnóstico de la Acuicultura", "Lodos y Valor Agregado", "Perfil Metabólico en Salmónidos", "Avances Tecnológicos en Balsas Jaulas", "Terebrasabella Heterouncinata en Abalones", "Acuicultura Sustentable", "Bioautografía", "Antecedentes de la Trucha Arcoiris" y "Microscopía Láser".



Al igual que en ediciones anteriores, Ud. podrá encontrar materias de consulta diaria como son: fases lunares, tablas de mareas, ferias salmón-acuícolas y novedades en servicios y productos de los principales proveedores de la industria.

Los invitamos a participar en nuestra próxima edición: Primer Semestre 2014

*Al Servicio de la Industria
Salmón-Acuícola*

CONTACTO

(09) 9 443 3504 - (09) 9 443 3076
opcionaraya@tie.cl - publicidad@opcionaraya.cl

Ferias Internacionales 2º Semestre 2013

AGOSTO

9 al 12 Agosto

AQUACULTURE EUROPE

University of Science and Technology
Trondheim - Noruega

13 al 16 Agosto

AQUANOR Trondheim

Noruega

SEPTIEMBRE

17 al 20 Septiembre

FHM Food & Hotel Malaysia

Kuala Lumpur Convention Centre - Malasia

22 al 27 Septiembre

20th Annual Practical Short Course
on Aquaculture, Texas - USA

OCTUBRE

5 al 9 Octubre

ANUGA Colgne - Alemania

6 al 10 Octubre

International Symposium on
Tilapia in Aquaculture
Ramada Hotel Jerusalem - Israel

9 al 11 Octubre

DANFISH INTERNATIONAL
Aalborg Congress and Culture Centre
Aalborg

9 y 10 Octubre 2013

PESCA SUR 2013

Chile

NOVIEMBRE

6 a 8 Noviembre

AQUAMAR INTERNATIONAL 2013
Cancún - México

7 al 9 Noviembre

EXPO PESCA & ACUIPERU
Centro de Exposiciones Jockey - Perú

DICIEMBRE

10 al 13 Diciembre

ASIA PACIFIC AQUACULTURE
Ho chi Minh City - Vietnam

10 y 12 Octubre 2013

Shanghai International
Fisheries & Seafood, Shanghai - China



AquaService Chile
www.aquaservice.cl

Casa Matriz Head Office
Santa Inés 406 Puerto Montt

Sucursal Branch
Ruta 5 Sur Km. 1029
Puerto Montt

Sucursal Branch
Puerto Aysén Km. 7 Chacabuco
Phone 56-65- 220033
Fax 56-65- 437566
www.aquaservice.cl
ventas@aquaservice.cl

arriendos



Consulte por otro tipo de equipamiento

Fases Lunares 2º Semestre 2013

	 NUEVA	 CRECIENTE	 LLENA	 MENGUANTE
JULIO	08 03:14 hrs.	15 23:18 hrs.	22 14:16 hrs.	29 13:43 hrs.
AGOSTO	06 17:51 hrs.	14 06:56 hrs.	20 21:45 hrs.	28 05:35 hrs.
SEPTIEMBRE	05 07:36 hrs.	12 13:08 hrs.	19 07:13 hrs.	26 23:55 hrs.
OCTUBRE	04 20:35 hrs.	11 19:02 hrs.	18 19:38 hrs.	26 19:40 hrs.
NOVIEMBRE	03 08:50 hrs.	10 01:57 hrs.	17 11:16 hrs.	25 15:28 hrs.
DICIEMBRE	02 20:22 hrs.	09 11:12 hrs.	17 05:28 hrs.	25 09:48 hrs.

En hora Oficial de Chile Continental, Z + 4

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile



BOMBAS PARA TRANSFERENCIA DE PECES
FISH TRANSFER PUMPS
www.aquaservice.cl

AquaService S.A.
 Servicios Integrales para la Acuicultura

Casa Matriz Head Office
 Santa Inés 406 Puerto Montt
Sucursal Branch Ruta 5 Sur Km. 1029 Puerto Montt

Sucursal Branch Puerto Aysén Km. 7 Chacabuco
 Phone 56-65- 220033 / Fax 56-65- 437566
 www.aquaservice.cl / ventas@aquaservice.cl

Feriados 2013 Internacionales



CHILE CANADA EEUU NORUEGA JAPON

Fuentes: www.dias-festivos.com - www.qppstudios.net

		CHILE	CANADA	EEUU	NORUEGA	JAPON
Martes 01 Enero	Año Nuevo	●	●	●	●	●
Miércoles 02 Enero	Noche Vieja aplazada		●	●		●
Lunes 14 Enero	Día de la mayoría de edad					●
Lunes 21 Enero	Día de Martin Luther King			●		
Lunes 11 Febrero	Día de la Fundación de la Nación					●
Miércoles 20 Marzo	Equinoccio de Primavera					●
Jueves 28 Marzo	Jueves Santo				●	
Viernes 29 Marzo	Viernes Santo	●			●	
Sábado 30 Marzo	Sábado Santo	●				
Lunes 1 Abril	Lunes de Pascua			●		
Lunes 29 Abril	Celebración del emperador showa					●
Miércoles 1 Mayo	Día del Trabajo	●			●	
Sábado 4 Mayo	Midori-nohi fiesta de la Naturaleza					●
Lunes 6 Mayo	Día de los Niños (kodomo no hi)					●
Jueves 9 Mayo	Ascensión				●	
Viernes 17 Mayo	Día de la Constitución				●	
Lunes 20 Mayo	Día de Pentecostés				●	
Lunes 20 Mayo	Día de la Reina Victoria		●			
Martes 21 Mayo	Día de las Glorias Navales	●				
Lunes 27 Mayo	Día Conmemorativo			●		
Sábado 29 Junio	San Pedro y San Pablo	●	●			
Lunes 1 Julio	Día de Canadá		●			
Jueves 4 Julio	Día de la Independencia			●		
Lunes 15 Julio	Acción de Gracias					●
Martes 16 Julio	Día Virgen del Carmen	●				
Lunes 5 Agosto	Día Festivo Regional		●			
Jueves 15 Agosto	Asunción de la Virgen	●				
Lunes 2 Septiembre	Día del Trabajo		●	●		
Lunes 16 Septiembre	Día del respeto a los Ancianos					●
Miércoles 18 Septiembre	Independencia Nacional	●				
Jueves 19 Septiembre	Día de las Glorias del Ejército	●				
Viernes 20 Septiembre	Día Festivo	●				
Lunes 23 Septiembre	Equinoccio de otoño					●
Sábado 12 Octubre	Día de Hispanidad	●		●		
Jueves 14 Octubre	Día del Deporte					●
Viernes 14 Octubre	Acción de Gracias		●			
Jueves 31 Octubre	Iglesias Evangélicas y Protestantes	●				
Viernes 1 Noviembre	Día de todos los Santos	●				
Lunes 4 Noviembre	Día de la Cultura Nacional					●
Lunes 11 Noviembre	Día de los Veteranos			●		
Jueves 28 Noviembre	Acción de Gracias			●		
Domingo 8 Diciembre	Inmaculada Concepción	●				
Miércoles 25 Diciembre	Día de Navidad	●	●	●	●	●
Martes 31 Diciembre	Nochevieja				●	

Mareas Puerto Montt 2º Semestre 2013

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

JULIO			AGOSTO			SEPTIEMBRE			
DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	DIA	HORA H.M.	ALTURA METROS	
01 L	0142 1.98 0809 5.12 1431 2.29 2038 4.76	16 M	0009 2.01 0630 5.13 1247 2.35 1853 4.95	01 J	0332 2.50 0954 5.16 1634 2.19 2238 4.72	16 V	0212 2.42 0847 5.29 1533 2.17 2143 4.86	01 D	0502 2.23 1108 5.55 1737 1.64 2343 5.27
02 M	0256 2.09 0921 5.21 1551 2.17 2154 4.79	17 MI	0112 2.14 0741 5.17 1406 2.36 2014 4.87	02 V	0437 2.30 1051 5.47 1725 1.86 2328 5.02	17 S	0350 2.22 1013 5.68 1652 1.68 2259 5.33	02 L	0540 1.88 1145 5.87 1809 1.33
03 MI	0404 2.03 1024 5.44 1655 1.92 2256 4.97	18 J	0230 2.17 0900 5.36 1534 2.16 2140 5.01	03 S	0524 2.04 1135 5.79 1805 1.56	18 D	0504 1.74 1120 6.21 1751 1.11 2357 5.87	03 M	0015 5.58 0614 1.54 1219 6.13 1839 1.07
04 J	0500 1.88 1115 5.72 1745 1.65 2345 5.18	19 V	0352 2.01 1017 5.73 1652 1.74 2257 5.34	04 D	0007 5.30 0603 1.79 1212 6.05 1839 1.32	19 L	0601 1.20 1214 6.72 1840 0.63	04 MI	0044 5.84 0646 1.25 1250 6.32 1908 0.87
05 V	0545 1.72 1158 5.97 1825 1.43	20 S	0505 1.66 1123 6.21 1756 1.24	05 L	0041 5.52 0637 1.57 1246 6.25 1910 1.15	20 M	0045 6.33 0650 0.76 1300 7.06 1923 0.31	05 J	0114 6.05 0718 1.03 1322 6.42 1938 0.74
06 S	0025 5.37 0623 1.59 1234 6.16 1901 1.29	21 D	0000 5.76 0605 1.25 1221 6.68 1850 0.78	06 M	0112 5.69 0710 1.41 1317 6.36 1939 1.05	21 MI	0127 6.62 0733 0.50 1342 7.18 2003 0.22	06 V	0143 6.20 0751 0.89 1354 6.42 2008 0.71
07 D	0101 5.50 0657 1.51 1308 6.28 1933 1.21	22 L	0054 6.15 0658 0.88 1312 7.03 1938 0.45	07 MI	0142 5.81 0741 1.30 1348 6.39 2008 1.00	22 J	0207 6.72 0814 0.45 1421 7.06 2040 0.33	07 S	0214 6.27 0824 0.85 1427 6.31 2039 0.79
08 L	0134 5.57 0729 1.48 1340 6.31 2004 1.20	23 M	0141 6.42 0746 0.65 1358 7.18 2022 0.31	08 J	0212 5.87 0813 1.26 1419 6.32 2037 1.03	23 V	0244 6.63 0853 0.61 1458 6.74 2115 0.62	08 D	0245 6.25 0900 0.92 1501 6.11 2112 0.96
09 M	0205 5.59 0801 1.50 1411 6.27 2034 1.25	24 MI	0226 6.52 0831 0.59 1441 7.10 2104 0.38	09 V	0241 5.87 0846 1.29 1450 6.19 2107 1.11	24 S	0319 6.38 0930 0.92 1534 6.28 2149 1.03	09 L	0319 6.15 0937 1.11 1538 5.80 2147 1.24
10 MI	0236 5.55 0833 1.57 1441 6.15 2104 1.33	25 J	0307 6.45 0913 0.72 1522 6.82 2144 0.62	10 S	0312 5.83 0920 1.38 1522 5.99 2138 1.25	25 D	0355 6.03 1008 1.34 1611 5.74 2224 1.51	10 M	0357 5.96 1019 1.39 1620 5.43 2228 1.59
11 J	0307 5.48 0905 1.67 1512 5.98 2134 1.45	26 V	0348 6.24 0955 1.00 1602 6.38 2223 0.98	11 D	0344 5.75 0955 1.53 1556 5.74 2211 1.44	26 L	0434 5.62 1049 1.81 1652 5.18 2303 2.01	11 MI	0441 5.70 1109 1.74 1713 5.03 2318 2.00
12 V	0338 5.39 0939 1.81 1544 5.78 2206 1.58	27 S	0429 5.93 1038 1.40 1643 5.85 2303 1.42	12 L	0419 5.64 1034 1.73 1635 5.45 2249 1.69	27 M	0519 5.22 1140 2.26 1747 4.67 2354 2.48	12 J	0541 5.39 1217 2.08 1828 4.68
13 S	0411 5.30 1015 1.95 1619 5.56 2240 1.72	28 D	0514 5.56 1125 1.84 1730 5.29 2349 1.87	13 M	0502 5.49 1122 1.98 1723 5.12 2336 1.98	28 MI	0623 4.88 1256 2.60 1912 4.31	13 V	0031 2.37 0705 5.17 1353 2.22 2010 4.59
14 D	0448 5.22 1056 2.09 1659 5.35 2320 1.86	29 L	0608 5.22 1224 2.25 1831 4.79	14 MI	0557 5.32 1224 2.23 1830 4.81	29 J	0114 2.81 0751 4.73 1443 2.64 2100 4.31	14 S	0214 2.47 0845 5.27 1533 1.96 2146 4.93
15 L	0533 5.16 1144 2.24 1748 5.13	30 M	0048 2.28 0718 4.98 1346 2.51 1955 4.49	15 J	0041 2.28 0714 5.20 1352 2.36 2003 4.66	30 V	0259 2.84 0919 4.88 1607 2.36 2217 4.58	15 D	0351 2.13 1009 5.68 1645 1.45 2253 5.48
		31 MI	0207 2.52 0839 4.96 1521 2.47 2128 4.49			31 S	0414 2.58 1023 5.20 1659 1.99 2306 4.93		

Mareas Dalcahue: Hacer las sgtes. correcciones. -Sumar 27 minutos a la hora pleamar -Sumar 27 minutos a la hora bajamar.

Mareas Castro: Hacer las sgtes. correcciones. -Sumar 3 minutos a la hora pleamar -Sumar 3 minutos a la hora bajamar.

Altura: Pleamar: restar 0,72 mts. Bajamar: restar 0,30 mts.

EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS.

Mareas Puerto Montt 2º Semestre 2013

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

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	0508	1.93	16	0534	0.93	01	0542	1.18	16	0025	6.32	01	0556	1.06	16	0049	6.20
M	1112	5.58	MI	1143	6.40	V	1147	5.95	S	0642	0.74	D	1202	5.93	L	0711	1.05
	1732	1.44		1800	0.61		1758	1.00		1248	6.17		1810	1.06		1314	5.79
	2339	5.53								1856	0.86					1916	1.30
02	0543	1.52	17	0006	6.38	02	0005	6.15	17	0102	6.37	02	0020	6.38	17	0124	6.23
MI	1146	5.91	J	0618	0.60	S	0620	0.79	D	0719	0.75	L	0643	0.71	M	0745	1.08
	1803	1.11		1225	6.60		1226	6.21		1324	6.13		1249	6.16		1348	5.77
				1840	0.45		1835	0.74		1931	0.97		1856	0.84		1949	1.37
03	0009	5.88	18	0045	6.58	03	0042	6.45	18	0136	6.31	03	0106	6.65	18	0156	6.19
J	0616	1.13	V	0658	0.46	D	0701	0.51	L	0754	0.88	M	0731	0.49	MI	0817	1.19
	1220	6.18		1304	6.63		1306	6.35		1358	5.99		1337	6.27		1420	5.68
	1834	0.82		1916	0.47		1914	0.61		2003	1.16		1943	0.73		2020	1.50
04	0040	6.18	19	0121	6.61	04	0122	6.64	19	0208	6.16	04	0154	6.77	19	0227	6.07
V	0650	0.80	S	0735	0.49	L	0742	0.38	M	0827	1.10	MI	0819	0.43	J	0848	1.35
	1254	6.37		1340	6.51		1348	6.36		1431	5.78		1425	6.26		1451	5.54
	1906	0.63		1950	0.63		1955	0.61		2034	1.42		2030	0.76		2050	1.68
05	0112	6.41	20	0155	6.49	05	0203	6.67	20	0240	5.94	05	0242	6.73	20	0257	5.89
S	0725	0.58	D	0809	0.68	M	0826	0.42	MI	0858	1.36	J	0908	0.51	V	0918	1.55
	1329	6.44		1414	6.26		1432	6.22		1503	5.53		1514	6.13		1522	5.35
	1939	0.55		2022	0.92		2038	0.76		2105	1.70		2119	0.90		2121	1.88
06	0146	6.54	21	0227	6.25	06	0247	6.55	21	0311	5.68	06	0331	6.54	21	0328	5.65
D	0802	0.50	L	0842	0.97	MI	0912	0.61	J	0930	1.66	V	0958	0.72	S	0948	1.77
	1405	6.37		1447	5.94		1518	5.96		1537	5.25		1604	5.91		1554	5.15
	2014	0.60		2053	1.27		2124	1.03		2138	2.00		2210	1.13		2154	2.10
07	0221	6.54	22	0258	5.95	07	0335	6.29	22	0345	5.39	07	0423	6.22	22	0400	5.39
L	0841	0.57	M	0915	1.32	J	1003	0.92	V	1005	1.96	S	1050	1.03	D	1020	1.99
	1444	6.17		1520	5.56		1610	5.63		1614	4.95		1658	5.64		1627	4.95
	2051	0.80		2124	1.67		2215	1.37		2214	2.30		2305	1.42		2229	2.31
08	0300	6.41	23	0330	5.61	08	0429	5.95	23	0423	5.08	08	0519	5.84	23	0435	5.13
M	0922	0.79	MI	0949	1.70	V	1059	1.28	S	1045	2.25	D	1146	1.36	L	1056	2.19
	1526	5.86		1555	5.17		1709	5.30		1657	4.68		1758	5.38		1706	4.77
	2132	1.12		2158	2.07		2314	1.71		2259	2.56					2310	2.50
09	0342	6.15	24	0406	5.24	09	0533	5.59	24	0510	4.80	09	0007	1.71	24	0515	4.89
MI	1008	1.12	J	1028	2.08	S	1206	1.60	D	1134	2.48	L	0623	5.46	M	1137	2.35
	1613	5.46		1638	4.78		1820	5.05		1752	4.47		1250	1.65		1752	4.66
	2218	1.52		2238	2.45					2355	2.76		1906	5.20			
10	0432	5.80	25	0452	4.89	10	0027	1.96	25	0610	4.59	10	0120	1.92	25	0000	2.64
J	1104	1.51	V	1118	2.43	D	0649	5.32	L	1237	2.61	M	0737	5.18	MI	0606	4.71
	1712	5.06		1736	4.45		1324	1.77		1902	4.40		1402	1.82		1229	2.45
	2315	1.94		2335	2.78		1941	5.00					2021	5.18		1851	4.64
11	0537	5.43	26	0556	4.60	11	0153	2.01	26	0108	2.80	11	0241	1.95	26	0103	2.68
V	1215	1.86	S	1231	2.67	L	0813	5.27	M	0722	4.53	MI	0856	5.09	J	0712	4.62
	1830	4.76		1900	4.27		1444	1.72		1348	2.59		1516	1.83		1332	2.47
							2059	5.18		2014	4.51		2133	5.33		2000	4.75
12	0034	2.25	27	0059	2.95	12	0314	1.79	27	0223	2.66	12	0357	1.78	27	0219	2.59
S	0703	5.21	D	0723	4.48	M	0930	5.43	MI	0834	4.64	J	1007	5.19	V	0828	4.67
	1347	1.98		1405	2.67		1553	1.50		1454	2.39		1621	1.70		1444	2.37
	2005	4.76		2031	4.34		2204	5.51		2113	4.78		2234	5.58		2109	5.01
13	0212	2.26	28	0235	2.83	13	0421	1.45	28	0327	2.34	13	0459	1.52	28	0335	2.32
D	0837	5.29	L	0845	4.61	MI	1032	5.69	J	0934	4.91	V	1107	5.38	S	0942	4.88
	1516	1.76		1518	2.44		1649	1.22		1549	2.09		1715	1.52		1554	2.14
	2130	5.09		2134	4.61		2258	5.86		2202	5.15		2326	5.85		2214	5.39
14	0340	1.90	29	0340	2.50	14	0515	1.11	29	0420	1.93	14	0549	1.28	29	0443	1.91
L	0955	5.64	M	0944	4.89	J	1123	5.94	V	1026	5.25	S	1155	5.58	D	1048	5.21
	1623	1.35		1607	2.11		1736	1.00		1638	1.73		1801	1.37		1657	1.80
	2233	5.57		2218	4.96		2344	6.14		2248	5.58					2313	5.85
15	0443	1.39	30	0425	2.08	15	0601	0.85	30	0508	1.48	15	0010	6.06	30	0543	1.44
M	1054	6.05	MI	1029	5.24	V	1208	6.11	S	1114	5.61	D	0633	1.12	L	1148	5.59
	1716	0.93		1646	1.73		1818	0.87		1724	1.37		1237	5.72		1754	1.42
	2323	6.03		2254	5.36					2334	6.01		1841	1.29			
			31	0504	1.63										31	0008	6.31
			J	1108	5.61										M	0637	0.98
				1722	1.35											1242	5.94
				2329	5.77											1847	1.07

Mareas Dalcahue: Hacer las sgtes. correcciones. -Sumar 27 minutos a la hora pleamar -Sumar 27 minutos a la hora bajamar.

Mareas Castro: Hacer las sgtes. correcciones. -Sumar 3 minutos a la hora pleamar -Sumar 3 minutos a la hora bajamar.

Altura: Pleamar: restar 0,72 mts. Bajamar: restar 0,30 mts.

EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS.

Mareas Puerto Chacabuco 2º Semestre 2013

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

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			
01 L	0205 0834 1455 2106	0.94 2.25 1.02 2.10	16 M	0045 0723 1350 1952	0.96 2.16 1.03 1.91	01 J	0329 1003 1643 2258	1.09 2.43 0.84 2.01	16 V	0236 0911 1557 2211	0.95 2.48 0.62 1.99	01 D	0434 1058 1731 2352	1.12 2.42 0.75 2.07	16 L	0423 1051 1718 2342	0.75 2.76 0.31 2.35
02 M	0309 0941 1607 2219	0.95 2.37 0.90 2.11	17 MI	0202 0835 1513 2114	0.96 2.27 0.88 1.93	02 V	0420 1051 1724 2341	1.04 2.52 0.74 2.09	17 S	0342 1014 1650 2310	0.84 2.64 0.43 2.15	02 L	0516 1136 1801	1.03 2.47 0.66	17 M	0519 1144 1802	0.59 2.86 0.21
03 MI	0403 1036 1702 2317	0.92 2.51 0.77 2.17	18 J	0308 0941 1616 2227	0.89 2.43 0.67 2.03	03 S	0504 1132 1800	0.97 2.58 0.65	18 D	0440 1110 1737 2359	0.70 2.81 0.26 2.32	03 M	0022 0554 1211 1830	2.16 0.93 2.51 0.58	18 MI	0026 0611 1233 1844	2.53 0.46 2.90 0.16
04 J	0450 1122 1746	0.87 2.63 0.65	19 V	0405 1038 1708 2325	0.77 2.62 0.45 2.16	04 D	0016 0544 1208 1831	2.15 0.91 2.62 0.59	19 L	0533 1201 1821	0.54 2.95 0.14	04 MI	0050 0629 1244 1858	2.24 0.82 2.54 0.51	19 J	0108 0659 1319 1926	2.66 0.38 2.87 0.18
05 V	0001 0532 1201 1824	2.22 0.81 2.71 0.57	20 S	0458 1130 1754	0.63 2.81 0.25	05 L	0047 0619 1240 1901	2.20 0.85 2.64 0.54	20 M	0043 0623 1248 1905	2.46 0.42 3.02 0.08	05 J	0118 0703 1316 1928	2.33 0.71 2.56 0.45	20 V	0151 0746 1403 2007	2.75 0.37 2.77 0.26
06 S	0037 0611 1237 1858	2.25 0.77 2.75 0.53	21 D	0013 0548 1218 1839	2.30 0.50 2.97 0.12	06 M	0116 0652 1311 1930	2.23 0.80 2.64 0.51	21 MI	0126 0711 1334 1948	2.57 0.35 3.01 0.09	06 V	0148 0739 1351 2000	2.40 0.62 2.53 0.42	21 S	0234 0833 1447 2048	2.77 0.42 2.61 0.39
07 D	0110 0646 1309 1930	2.26 0.75 2.75 0.51	22 L	0057 0637 1304 1923	2.42 0.39 3.06 0.05	07 MI	0144 0725 1341 1959	2.25 0.75 2.62 0.50	22 J	0209 0757 1418 2030	2.63 0.35 2.91 0.18	07 S	0222 0817 1427 2034	2.47 0.57 2.47 0.43	22 D	0318 0921 1532 2127	2.74 0.53 2.41 0.57
08 L	0140 0718 1339 2001	2.24 0.75 2.72 0.52	23 M	0141 0723 1350 2007	2.49 0.33 3.08 0.06	08 J	0213 0758 1413 2029	2.28 0.71 2.57 0.50	23 V	0254 0844 1503 2112	2.63 0.43 2.74 0.33	08 D	0259 0859 1506 2111	2.52 0.56 2.36 0.48	23 L	0401 1010 1620 2206	2.66 0.68 2.19 0.77
09 M	0209 0748 1408 2030	2.21 0.76 2.66 0.56	24 MI	0226 0810 1435 2052	2.51 0.35 3.00 0.15	09 V	0245 0833 1447 2101	2.30 0.70 2.49 0.53	24 S	0341 0933 1550 2154	2.60 0.56 2.52 0.53	09 L	0341 0945 1551 2151	2.54 0.60 2.22 0.58	24 M	0445 1103 1714 2247	2.56 0.84 2.00 0.97
10 MI	0238 0819 1438 2059	2.17 0.78 2.59 0.60	25 J	0313 0856 1521 2136	2.49 0.44 2.85 0.30	10 S	0322 0912 1524 2137	2.31 0.72 2.38 0.59	25 D	0429 1027 1642 2238	2.54 0.73 2.28 0.74	10 M	0427 1037 1646 2236	2.52 0.68 2.06 0.71	25 MI	0530 1204 1814 2333	2.44 0.98 1.84 1.14
11 J	0310 0851 1510 2131	2.14 0.81 2.50 0.66	26 V	0403 0945 1609 2222	2.44 0.59 2.63 0.50	11 D	0405 0958 1608 2216	2.32 0.77 2.23 0.67	26 L	0518 1128 1743 2327	2.46 0.89 2.06 0.96	11 MI	0519 1141 1753 2332	2.49 0.76 1.92 0.86	26 J	0620 1319 1922	2.34 1.07 1.75
12 V	0346 0927 1546 2206	2.12 0.86 2.38 0.73	27 S	0455 1040 1703 2311	2.38 0.77 2.39 0.71	12 L	0452 1052 1702 2302	2.32 0.85 2.08 0.79	27 M	0611 1241 1853	2.38 1.01 1.90	12 J	0619 1259 1911	2.45 0.80 1.85	27 V	0036 0718 1439 2038	1.27 2.25 1.09 1.73
13 S	0430 1011 1629 2247	2.10 0.93 2.24 0.81	28 D	0550 1146 1807	2.33 0.93 2.17	13 M	0546 1200 1809	2.31 0.91 1.93	28 MI	0027 0710 1406 2009	1.13 2.33 1.05 1.82	13 V	0046 0730 1425 2034	0.97 2.45 0.74 1.87	28 S	0153 0824 1540 2153	1.33 2.21 1.03 1.78
14 D	0520 1106 1723 2338	2.10 1.01 2.09 0.90	29 L	0009 0649 1308 1922	0.92 2.30 1.03 2.01	14 MI	0002 0648 1324 1929	0.91 2.32 0.91 1.86	29 J	0140 0816 1522 2127	1.22 2.30 1.01 1.82	14 S	0208 0844 1536 2152	0.98 2.51 0.61 1.99	29 D	0303 0926 1623 2245	1.31 2.21 0.94 1.89
15 L	0618 1221 1832	2.11 1.06 1.97	30 M	0119 0755 1436 2043	1.06 2.30 1.03 1.94	15 J	0119 0758 1449 2053	0.97 2.37 0.80 1.88	30 V	0248 0919 1616 2232	1.23 2.32 0.93 1.88	15 D	0321 0952 1631 2253	0.89 2.63 0.45 2.16	30 L	0401 1019 1657 2322	1.23 2.25 0.84 2.01
			31 MI	0230 0903 1550 2200	1.11 2.35 0.94 1.95				31 S	0345 1014 1657 2317	1.19 2.37 0.84 1.97						

Hacer ajustes del horario en los meses correspondientes.
EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS.

Mareas Puerto Chacabuco 2º Semestre 2013

Gentileza del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile

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	0448	1.11	16	0507	0.65	01	0545	0.75	16	0030	2.80	01	0607	0.47	16	0048	2.87
M	1103	2.31	MI	1129	2.70	V	1155	2.33	S	0638	0.44	D	1218	2.31	L	0705	0.43
	1727	0.73		1740	0.34		1754	0.54		1253	2.54		1805	0.48		1318	2.39
	2353	2.14								1842	0.45					1858	0.60
02	0529	0.96	17	0007	2.60	02	0023	2.52	17	0110	2.89	02	0034	2.78	17	0125	2.88
MI	1142	2.38	J	0600	0.51	S	0625	0.56	D	0722	0.39	L	0648	0.29	M	0743	0.43
	1756	0.62		1219	2.73		1235	2.39		1334	2.49		1300	2.37		1353	2.34
				1822	0.30		1830	0.44		1922	0.48		1847	0.39		1935	0.64
03	0021	2.28	18	0050	2.75	03	0058	2.68	18	0149	2.91	03	0115	2.91	18	0159	2.83
J	0606	0.80	V	0649	0.41	D	0705	0.39	L	0804	0.41	M	0731	0.18	MI	0819	0.48
	1218	2.44		1305	2.70		1314	2.42		1413	2.41		1343	2.39		1427	2.26
	1826	0.51		1904	0.30		1908	0.36		1959	0.55		1930	0.34		2008	0.70
04	0051	2.42	19	0131	2.84	04	0136	2.80	19	0227	2.86	04	0158	2.98	19	0231	2.75
V	0644	0.64	S	0735	0.38	L	0747	0.29	M	0844	0.48	MI	0816	0.14	J	0853	0.57
	1254	2.48		1349	2.62		1355	2.40		1451	2.28		1428	2.36		1500	2.17
	1859	0.43		1945	0.36		1948	0.34		2034	0.66		2014	0.35		2038	0.79
05	0123	2.55	20	0213	2.87	05	0217	2.87	20	0302	2.77	05	0243	2.97	20	0301	2.63
S	0722	0.51	D	0820	0.41	M	0831	0.25	MI	0923	0.59	J	0902	0.18	V	0925	0.67
	1331	2.48		1431	2.49		1439	2.33		1528	2.15		1516	2.31		1532	2.08
	1933	0.37		2024	0.47		2029	0.38		2106	0.79		2059	0.43		2108	0.88
06	0158	2.65	21	0253	2.83	06	0300	2.87	21	0335	2.64	06	0330	2.90	21	0330	2.50
D	0802	0.42	L	0905	0.50	MI	0917	0.29	J	1000	0.73	V	0951	0.28	S	0956	0.78
	1410	2.43		1513	2.33		1527	2.24		1605	2.01		1610	2.23		1606	2.00
	2010	0.36		2101	0.61		2113	0.47		2136	0.92		2146	0.55		2138	0.98
07	0237	2.71	22	0332	2.74	07	0347	2.82	22	0407	2.50	07	0420	2.78	22	0401	2.36
L	0845	0.40	M	0949	0.63	J	1008	0.38	V	1037	0.87	S	1043	0.42	D	1029	0.88
	1451	2.34		1555	2.15		1622	2.13		1644	1.90		1709	2.15		1646	1.95
	2048	0.41		2136	0.78		2200	0.61		2207	1.06		2239	0.72		2215	1.08
08	0320	2.73	23	0410	2.62	08	0438	2.73	23	0440	2.35	08	0516	2.63	23	0439	2.22
M	0931	0.43	MI	1034	0.78	V	1104	0.51	S	1117	1.00	D	1142	0.58	L	1107	0.97
	1538	2.21		1640	1.98		1725	2.03		1730	1.81		1811	2.11		1734	1.92
	2130	0.51		2210	0.95		2254	0.77		2242	1.18		2344	0.88		2304	1.17
09	0406	2.70	24	0448	2.48	09	0536	2.61	24	0519	2.21	09	0619	2.47	24	0527	2.08
MI	1023	0.52	J	1121	0.94	S	1209	0.63	D	1207	1.09	L	1250	0.72	M	1158	1.04
	1634	2.07		1729	1.84		1834	1.98		1825	1.77		1918	2.11		1832	1.93
	2216	0.66		2245	1.11					2335	1.29						
10	0457	2.63	25	0528	2.34	10	0001	0.91	25	0611	2.09	10	0103	0.99	25	0018	1.23
J	1123	0.62	V	1218	1.06	D	0642	2.51	L	1318	1.13	M	0731	2.34	MI	0633	1.97
	1740	1.95		1825	1.74		1325	0.70		1932	1.79		1404	0.78		1309	1.07
	2310	0.82		2328	1.25		1946	1.99					2030	2.18		1939	1.98
11	0557	2.55	26	0614	2.22	11	0122	0.99	26	0105	1.34	11	0229	0.98	26	0153	1.20
V	1235	0.70	S	1331	1.13	L	0755	2.45	M	0722	2.00	MI	0848	2.27	J	0751	1.91
	1853	1.89		1931	1.70		1440	0.69		1430	1.09		1510	0.78		1422	1.03
							2100	2.09		2047	1.87		2138	2.32		2050	2.09
12	0021	0.95	27	0038	1.35	12	0244	0.96	27	0239	1.28	12	0347	0.88	27	0315	1.06
S	0705	2.50	D	0715	2.12	M	0908	2.44	MI	0839	1.99	J	1001	2.28	V	0910	1.93
	1357	0.71		1445	1.12		1540	0.63		1523	1.00		1604	0.74		1520	0.93
	2011	1.91		2049	1.74		2206	2.26		2149	2.01		2236	2.50		2151	2.26
13	0144	0.99	28	0209	1.37	13	0357	0.85	28	0348	1.12	13	0449	0.72	28	0415	0.85
D	0819	2.50	L	0825	2.08	MI	1016	2.47	J	0948	2.04	V	1105	2.32	S	1019	2.01
	1510	0.63		1536	1.04		1631	0.56		1605	0.87		1652	0.69		1609	0.81
	2128	2.02		2156	1.84		2301	2.46		2236	2.20		2325	2.67		2242	2.47
14	0301	0.93	29	0323	1.29	14	0458	0.69	29	0440	0.91	14	0540	0.58	29	0504	0.61
L	0930	2.56	M	0931	2.10	J	1116	2.51	V	1045	2.12	S	1156	2.37	D	1116	2.13
	1607	0.52		1615	0.93		1716	0.50		1644	0.73		1737	0.64		1656	0.67
	2231	2.20		2242	1.99		2347	2.65		2316	2.41					2328	2.67
15	0409	0.80	30	0419	1.14	15	0551	0.54	30	0524	0.68	15	0008	2.80	30	0549	0.39
M	1033	2.64	MI	1027	2.16	V	1207	2.54	S	1134	2.22	D	0625	0.48	L	1204	2.25
	1655	0.42		1648	0.80		1800	0.46		1724	0.60		1239	2.40		1742	0.53
	2322	2.40		2317	2.16					2354	2.61		1819	0.60			
			31	0504	0.95										31	0012	2.85
			J	1113	2.25										M	0632	0.22
				1720	0.67											1248	2.34
				2350	2.34											1828	0.42

Hacer ajustes del horario en los meses correspondientes.

EL TIEMPO EMPLEADO CORRESPONDE AL MERIDIANO 60 W. ZONA + 4 HORAS.

Aufiser

Anclajes de Hormigón



- Construcción de Anclajes en Planta Trapén (Puerto Montt) y Planta Pid Pid (Castro)
- Construcción de Anclajes In - Situ (Playa)
- Contrapesos en diversos Formatos (20 a 1.300 Kilos) Recubiertos de Plástico
- Construcción y Diseño de Muelles

Naviera Rauco

Transporte Marítimo

Servicio de Transporte Marítimo y Cabotaje General



Fonos: (65) 633 021 - (65) 636 969
 Casa Matriz: Camino a Rauco, Km 1, Chonchi Sucursal: Sector Trapén, Puerto Montt
 info@aufiser.cl - www.aufiser.cl

ANTECEDENTES BIOLÓGICOS

para un manejo integrado del piojo de mar



Sandra Bravo y Verónica Pozo; Universidad Austral de Chile
sbravo@uach.cl

Desde sus inicios, *Caligus rogercresseyi* (Boxshall & Bravo) es una de las principales amenazas que enfrenta la industria del salmón en Chile. Al igual que para *Lepeophtheirus salmonis*, piojo que afecta al salmón del Atlántico en el hemisferio norte, los daños ocasionados están relacionados con el daño mecánico infringido y la inmunosupresión provocada, dejando a los peces altamente susceptibles a otras enfermedades virales y bacterianas causantes de severos cuadros de mortalidad. En Chile, *C. rogercresseyi* inmunodeprime a los peces, provocando severos cuadros de SRS (Síndrome Rickettsial de los Salmónidos). Estos piojos además se caracterizan por desarrollar resistencia a los escasos pesticidas autorizados para su control. Frente a este escenario, finalmente se ha entendido que el control del piojo de mar debe estar centrado en un manejo integrado, más que en el solo uso de pesticidas. Sin embargo, para poder lograr un manejo efectivo de la Caligidosis es importante conocer la biología del parásito, sus mecanismos de infección, sus requerimientos ambientales y los factores que inciden en la pobre defensa de los peces parasitados.

Diseminación de Caligus

C. rogercresseyi presenta ocho estados de desarrollo, tres planctónicos, de vida libre y cinco estados de parasitismo (Fig.1). El ciclo de vida es dependiente de la temperatura del agua. De acuerdo a estudios desarrollados por González y Carvajal (2003), a 10,0°C el ciclo de vida se completa en aproximadamente 45 días, a 15,0°C en 26 días y a 4°C no se observaría desarrollo. En la Tabla 1 se presenta información acerca de los grados-días que tarda el desarrollo de cada uno de los estadios de *C. roger-*

cresseyi en condiciones de laboratorio. A 10°C el ciclo desde la incubación de los sacos ovíferos maduros hasta la obtención de los piojos adultos es de aproximadamente 39 días (389°D). Esta información es útil para proyectar el ciclo de vida de Caligus y las cargas parasitarias en un centro de cultivo, de acuerdo a la estructura poblacional que presenten estos piojos sobre los peces al momento del muestreo.

Estado de desarrollo (10°C)	Tamaño (µm)	°D	Días	UTA
Incubación sacos ovíferos		0	0	0
Nauplius I	425	12	1,2	12
Nauplius II	463	12	1,2	24
Copepodito	658	79	7,9	103
Chalimus I	830	62	6,2	165
Chalimus II	1.271	88	8,8	253
Chalimus III	2.146	31	3,1	284
Chalimus IV	4.201	31	3,1	315
Adulto inmaduro	4.380	30	3	345
Adulto maduro	5.030	44	4,4	389

°D= grados-días; UTA= unidades térmicas acumuladas.

Tabla 1. Ciclo de vida y estados de desarrollo de *Caligus rogercresseyi* en condiciones de laboratorio

Caligus en su primera etapa de vida es de natación libre formando parte del zooplancton. Los estadios de natación libre (nauplius y copepodito), se desplazan a través de las corrientes de aguas superficiales, atraídos por la luz, distribuyéndose preferentemente en los primeros cinco metros de la columna de agua. Estos estadios se alimentan de sus propias reservas de energía endógenas (Boxaspen, 2006).

El copepodito, es el estado infectivo, y en condiciones de laboratorio no logran sobrevivir más de 7 días libre en el mar, por lo que deben adherirse rápidamente a un hospedador, de lo contrario morirá al agotar sus reservas de energía (Bravo, 2010). Su nivel de dispersión es dependiente de la velocidad de la corriente. En sectores donde la velocidad de la corriente es de 5 cm/segundo los parásitos pueden recorrer 30 Km en 7 días; 151 Km con velocidades de 25 cm/segundo y 300 Km con 50 cm/segundos. El conocimiento de la dirección y velocidad de las corrientes superficiales en los sitios de cultivos, es clave para implementar un programa de manejo integrado por área efectivo para el control de la Caligidosis.

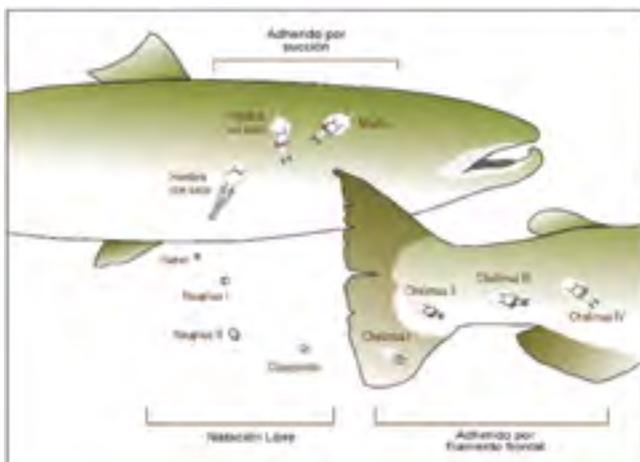


Figura 1: Ciclo de vida de *Caligus rogercresseyi*

Los cuatro estadios de chalimus se diferencian por el tamaño (Tabla 1; Fig. 2), y se caracterizan por presentar un filamento frontal que les permite permanecer adheridos al pez, alimentándose del mucus. Como en todos los crustáceos, los ejemplares juveniles realizan muda de la caparazón entre cada estadio de desarrollo, proceso necesario para que su cuerpo aumente de tamaño. A diferencia de *Lepeophtheirus*, las especies de *Caligus* realizan esta muda sin desprenderse de su hospedador, permaneciendo fijos en el sector de adhesión hasta alcanzar el estado adulto.



Figura 2: Estados de desarrollo de chalimus en *Caligus rogercresseyi*.

Los ejemplares adultos se mueven libremente sobre la superficie corporal del pez. Las hembras se diferencian claramente de los machos (Fig.3), y ambos sexos presentan similar tamaño, con una longitud aproximada de 0,5 cm (Boxshall & Bravo, 2000). Las hembras maduras se caracterizan por presentar dos largos sacos ovígeros que cuelgan del abdomen (Bravo y col., 2009).

En estudios realizados en laboratorio se ha podido observar que a 10°C las hembras sobreviven hasta 100 días (1000°D) en el hospedador, mientras que los machos sobreviven 80 días (800°D). Los ejemplares adultos de ambos sexos, pueden sobrevivir hasta 7 días sin un hospedador, libres en el mar (Bravo, 2010), lo que hay tener en consideración frente a tratamientos que presentan efectividad reducida, como resultado de una mala aplicación del producto, o debido al desarrollo de resistencia de estos parásitos al producto empleado.

Fecundidad

Las hembras una vez que alcanzan la etapa adulta son inmediatamente copuladas por un macho, atraído por las feromonas liberadas por la hembra. Durante la copulación, el macho introduce un par de espermatóforos en su complejo genital, bloqueando los ductos copulatorios de la hembra, de tal forma prevenir nuevos apareamientos, lo que obliga a las hembras a mantenerse monogamas.

Los estudios de fecundidad han generado importante información para entender los altos niveles de parásitos generados en los centros de cultivos. Como un mecanismo de estos parásitos para

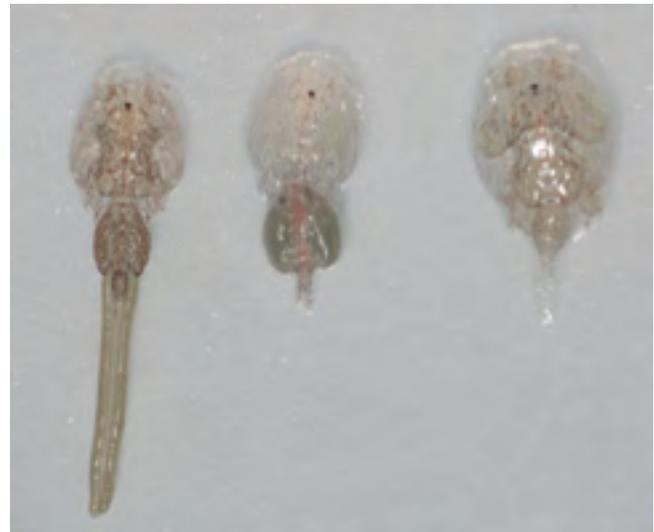


Figura 3: Estados adultos de *Caligus rogercresseyi* (hembra con saco, hembra sin saco y macho)

preservar la especie, al igual que *L. salmonis*, las hembras de *C. rogercresseyi* producen durante su período de vida hasta 11 generaciones de sacos ovígeros, con solo una cópula del macho. El par de sacos produce en promedio 100 huevos, los que son generados con una frecuencia de 4 días en verano y 6 días en invierno (Bravo, 2010). Esto significa, que si la carga promedio de piojos en un pez es de 5 hembras, en una jaula el número de huevos generado puede ser de 25.000.000, lo que multiplicado por 20 jaulas da un total de 500 millones de huevos generados en una camada. La sobrevivencia registrada en condiciones de laboratorio desde la incubación de los huevos a la etapa de copepodito es de aproximadamente 50%. Tomando en consideración lo anterior, se puede concluir que son las hembras (con y sin saco), las responsables de los altos niveles de infestación en las dos especies de salmónidos susceptibles (salmón del Atlántico y trucha arcoiris), y es hacia éstas que deben ir dirigidas las acciones de control. Por lo que la correcta diferenciación de las hembras de los machos es clave, para poder predecir correctamente los niveles de infestación.

Considerando que la tasa de fecundidad de las hembras de *L. salmonis* es alrededor de 700 huevos por saco, 15 veces mayor que la tasa de fecundidad de las hembras de *C. rogercresseyi*, las regulaciones en Noruega y en otros países del hemisferio



Figura 4: La hembra de arriba fue colectada desde salmones infectados en la X Región. La hembra de abajo fue colectada en la XI Región.

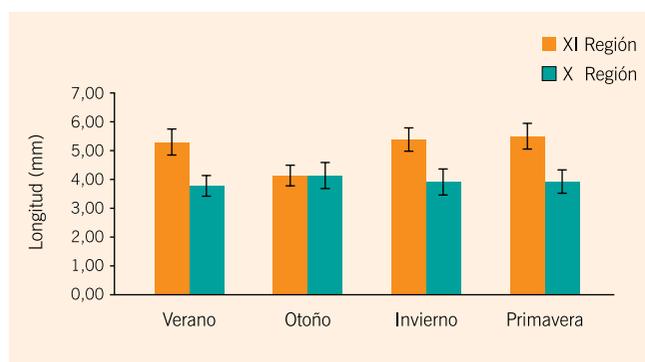


Figura 5: Comparación de la longitud de los sacos ovígeros en hembras colectadas en la X Región vs hembras colectadas en la I Región.

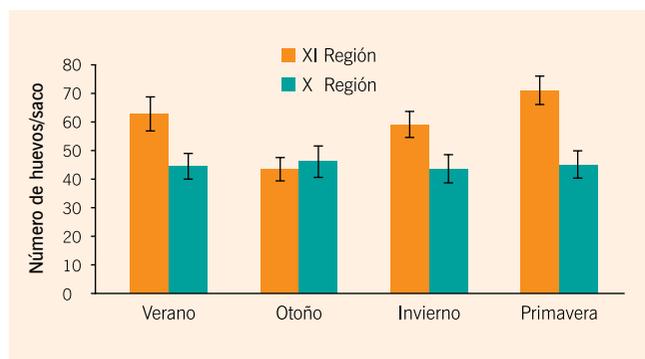


Figura 6: Comparación del número de huevos por saco ovígero en hembras colectadas en la X región vs hembras colectadas en la XI Región.

norte están focalizadas en mantener un número no mayor a 0.5 hembras por pez. La actual regulación en Chile exige eliminar el 25% de la biomasa del centro de cultivo cuando la carga de *Caligus* es superior a 9 parásitos adultos por pez, sin discriminar si son hembras o machos. La tasa de fecundidad es dependiente de la temperatura (Richie et al., 1993; Bravo y col., 2013). En estudios realizados en la XI Región se registró que a menor temperatura, el ciclo de vida es más largo, las hembras son más grandes (Fig. 4), generan sacos más largos (Fig. 5) y es mayor el número de huevos por saco (Fig. 6). Este es el caso de la XI Región, en donde la fecundidad de las hembras ha mostrado ser mayor que en la X Región, probablemente atribuido a diferencias en las condiciones ambientales que presentan ambas regiones. La XI Región, a diferencia del mar interior de la X Región es altamente influenciada por la corriente de Humboldt.

Requerimientos ambientales

Además de la temperatura, que tiene un claro efecto sobre el ciclo de vida de estos parásitos (González & Carvajal, 2003) y sobre su tasa de fecundidad (Bravo y col., 2013), la salinidad ha mostrado tener un efecto importante sobre su sobrevivencia, lo que ha llevado a que algunos centros de cultivos sean localizados en zonas estuarinas para evitar las infestaciones de los salmones por *Caligus*. Para *L. salmonis* se ha reportado una mayor tasa de crecimiento y una mayor tasa de asentamiento a salinidad de 34‰ comparado con salinidades de 24‰ (Tucker y col., 2000). La salinidad también ha mostrado afectar la eclosión de los huevos y el desarrollo de los estados de vida libre en *L. salmonis*, observándose en condiciones de laboratorio, que

a salinidad menor a 25 ‰ los nauplios son menos activos, registrándose también mortalidad y problemas de muda en los copepoditos (Johnson & Albright, 1991).

En condiciones de laboratorio, se ha observado que ejemplares adultos de *C. rogercresseyi* no logran sobrevivir por más de 30 minutos en agua dulce (0‰). A 15‰ se ha registrado 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 (Bravo y col., 2008), pero también se ha observado que los copepoditos no logran sobrevivir a salinidad menor a 25 ‰, lo que explicaría la menor intensidad de infestación registrada en zonas altamente influenciadas por agua dulce en el sur de Chile (Fig. 7).

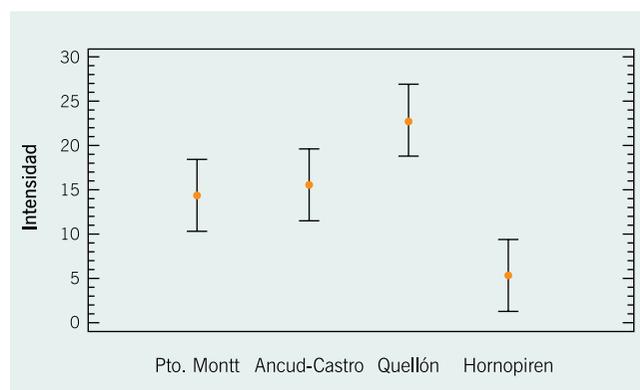


Figura 7: Intensidad de infestación de *Caligus rogercresseyi* en cuatro áreas de la X Región (media ± DS).

Efectos de la luz

En estudios desarrollados en Noruega se corroboró que el uso de fotoperíodo con luz artificial en centros de cultivos, incrementa la atracción de los copepoditos, incrementando la carga de piojos en las jaulas. Esto debido a que la luz artificial afecta la distribución vertical de los salmones en la jaula y también la distribución vertical y actividad de los piojos, favoreciendo la infestación (Hevroy y col., 2003). Novales y col. (2000) sugieren que el sistema de visión de los nauplios de *L. salmonis*, están mejor adaptados para la detección de sombras bajo campos de luz brillante (horas de luz diurna), mientras que los copepoditos y adultos estarían más especializados para la detección del hospedador en el crepúsculo y durante la noche, cuando el nivel de luz es más bajo, lo que también podría ocurrir con *C. rogercresseyi*.

Mecanismos de infección del piojo de mar

El copepodito, estado infectivo, localiza al pez a través de las antenas primarias, estructuras activadas por estímulos mecánicos, consideradas importantes apéndices sensoriales en los copepoditos y el principal sitio de percepción química, empleadas para la localización y reconocimiento del hospedador. Al igual que para *L. salmonis*, la fuerza de atracción natural está basada en ciertas moléculas presentes en el mucus de los peces (semioquímicos), que activan los mecanismos sensoriales tanto de los copepoditos como de los ejemplares adultos, permitiéndoles

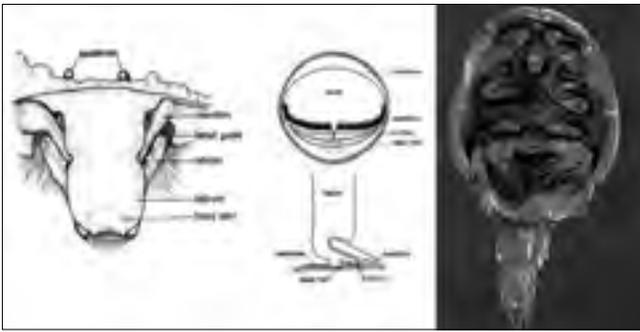


Figura 8: Estructura bucal de los copépodos pertenecientes a la familia Caligidae. Fuente: Kabata, 1974.

encontrar a su hospedador (Bailey y col., 2006; Pino y col., 2007). El copepodito se adhiere al pez a través del segundo par de antenas y de los maxilípedos. El filamento frontal se desarrolla inmediatamente después de que el copepodito se ha establecido e iniciado su alimentación sobre el hospedador. Frente a esto, los peces altamente estresados reaccionan secretando más mucus, como una forma de eliminar a estos ectoparásitos, lo que genera una mayor fuerza de atracción.

Efectos sobre el hospedador

El daño mecánico provocado por el piojo de mar en su hospedador está dado principalmente por la forma de alimentación, más que por el mecanismo de fijación o por el desplazamiento de estos parásitos sobre la superficie corporal del pez. Estos piojos raspan la superficie del pez con una estructura dentada presente en el extremo del cono oral (Fig.8), dirigiendo con ayuda de las maxilas y maxilípedos, el mucus y detritus acumulado al interior del cono bucal (Kabata, 1974). *C. rogercresseyi* se alimenta básicamente del mucus que producen los peces estresados, provocando Petequias que son puerta de entrada a otros patógenos. El nivel de severidad de estas Petequias es dependiente del número de parásitos sobre el pez (Fig.9). El daño provocado por *L. salmonis* es mucho más severo debido al mayor tamaño de las hembras (12 mm) con respecto a *Caligus* (5 mm), las que se alimentan además del mucus, de la epidermis de los peces (Fig.10).

Además de los efectos del daño mecánico que incluyen, pérdida del epitelio; hemorragias; incremento en la producción de mucus; alteración de la bioquímica del mucus; necrosis del tejido, y como resultado de esto, pérdida de la función protectora física y microbiana, provocando problemas osmorregulatorios e infecciones secundarias (Johnson y col., 2004; Tully & Nolan, 2002). El piojo de mar secreta compuestos inmunomoduladores a través de las glándulas salivales, los que contienen prostaglandina E2 (PGE2) y tripsinas, responsables de la falta de respuesta inmunitaria en el sitio de fijación, por parte de los peces parasitados (Fast *et al.* 2002; 2003), propiciando así el ingreso de otros patógenos, como es el caso de *P. salmonis*. La prostaglandina E2 es un compuesto vasodilatador que inhibe la respuesta inflamatoria del hospedador, en tanto que la tripsina juega un rol importante en el establecimiento y mantenimiento del piojo de mar sobre el hospedador (Fast *et al.*, 2003). Los

cambios más relevantes en la composición sanguínea incluyen anemia, reducción de los linfocitos, alteración de las proteínas, desbalance iónico, y niveles elevados de cortisol (Johnson y col., 2004; Tully & Nolan, 2002; Johnson & Fast, 2004). Estos cambios tienen un severo efecto en el bienestar del animal, lo que se traduce en estrés y debilitamiento del hospedador, con reducción en su capacidad de osmorregulación y habilidad respiratoria, lo que afecta su inmunocompetencia (Costello, 2006).

El salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) son las especies que han mostrado ser altamente susceptibles a *C. rogercresseyi*. El salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) presenta resistencia bajo las mismas condiciones de cultivo (Pino y col., 2007), siendo parasitado solo por estadios juveniles (chalimus), en ausencia de especies susceptibles, los que no logran alcanzar el estado adulto. Se sospecha que al igual que para el caso de *L. salmonis*, en el mucus del salmón coho existen compuestos que bloquean la secreción de proteasas de bajo peso molecular liberadas por estos parásitos, como es el caso de la tripsina (Fast y col., 2002; 2003).

Conclusiones

Para un manejo efectivo de la caligidosis, además de la rotación de productos con distinta composición molecular para evitar desarrollo de resistencia por parte de estos ectoparásitos, es fundamental lograr acuerdos de manejo integrado con los centros de cultivos que comparten las mismas masa de agua. Con esto, los períodos de descanso, las estrategias en la sincronización y rotación de tratamientos podran dar la efectividad esperada. El foco de las estrategias de control debe ser puesto en las hembras, considerando su alta tasa de fecundidad. Sin embargo, si los períodos de descanso son efectivos, la carga de piojos debiera disminuir significativamente, dado los pocos días que logran sobrevivir los copepoditos y ejemplares adultos libres en el mar, lo que permitirá disminuir los volúmenes de antiparasitarios utilizados para el control de *Caligus* en Chile. Las lecciones recibidas en el período 2007-2010 nos enseñaron que, bajas cargas de biomasa de salmones cultivados por área y la buena calidad de los smolts introducidos a los sitios de cultivos son también relevantes para lograr peces resistentes.



Figura 9: Salmón del Atlántico infestado por *Caligus rogercresseyi*.



Figura 10: Salmón del Atlántico infestado por *Lepeophtheirus salmonis*.

Referencias Bibliográficas

- Bailey R.J.E., Birkett M.A., Ingvarsdóttir A., Mordue (Luntz) A.J., Mordue W., O'Shea B., Pickett J.A., Wadhams J.J. (2006) The role of semiochemicals in host location and non-host avoidance by salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63:448-456.
- Boxaspen K. (2006) A review of the biology and genetics of sea lice. *ICES Journal of Marine Science* 63: 1304-1316.
- Boxshall, G.A., Bravo, S. (2000) On the identity of the common *Caligus* (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) from salmonid netpen system in southern Chile. *Contrib. Zool.* 69: 137-146.
- Bravo S, Pozo V, Silva M.T. (2008) The tolerance of *Caligus rogercresseyi* to salinity reduced in southern Chile. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 28:197-204.
- 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., Abarca D. (2013) Comparison of the fecundity rate of *Caligus rogercresseyi* infesting Atlantic salmon on farms in two regions of Chile. *Aquaculture* 404-405:55-58.
- Costello M.J. (2006). Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends in Parasitology* 22: 475-483.
- Fast M.D., Ross N.W., Mustafa A., Sims D.E., Johnson S.C., Conboy G.A., Speare D.J., Johnson G., Burka J.F. (2002) Susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Atlantic salmon *Salmo salar* and coho salmon *Oncorhynchus kisutch* to experimental infection with sea lice *Lepeophtheirus salmonis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 52:57-68.
- Fast M.D., Burka J.F., Johnson S.C., Ross N.W. (2003) Enzymes released from *Lepeophtheirus salmonis* in response to mucus from different salmonids. *Journal of Parasitology* 89: 7-13.
- González L., Carvajal J. (2003). Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids. *Aquaculture* 220, 101-107.
- Hevrøy E.M., Boxaspen K., Oppedal F., Taranger G.L., Holm J.C. (2003) The effect of artificial light treatment and depth on the infestation of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) culture. *Aquaculture* 220:1-14.
- Johnson S.C., Fast M. (2004) Interactions between sea lice and their hosts. In: Wiegertjes G, Flik G (eds.), *Host-Parasite Interactions*. Garland/Bios Scientific Publishers, Abingdon, pp. 131-159.
- Johnson S.C., Albright L.J. (1991) Development, growth, and survival of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) under laboratory conditions. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 71: 425-436.
- Johnson S. C., Treasurer J. W., Bravo S., Nagasawa K., Kabata Z. (2004) A review of the impacts of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological Studies* 43(2):8-19.
- Kabata Z (1974) Mouth and mode of feeding of Caligidae (Copepoda) parasites of fishes, as determined by light and scanning electronic microscopy. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 31:1583-1588
- Novalés I., Browman H.I, Bélanger M., Boxaspen K. (2000). Ontogenetic changes in visual sensitivity of the parasitic salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *The Journal of Experimental Biology* 203: 1649-1659.
- Pino-Marambio, J., Mordue A.J., Birkett M., Carvajal J., Asencio G., Mellado A., Quiroz A. (2007) Behavioural studies of host, non-host and mate location by the Sea Louse, *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture* 271: 70-76.
- Ritchie G.Mordue A.J, Pike A.W., Rae H. (1993) The reproductive output of *Lepeophtheirus salmonis* adult females in relation to seasonal variability of temperature and photoperiod. In: *Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea Lice* (ed. By G.A.Boxshall & D. Defaye), pp.153-165. Ellis Horwood, Chichester.
- Tully O, Nolan DT (2002) A review of population biology and host-parasite interactions of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Parasitology* 124:165-182.
- Tucker C.S., Sommerville C., Wootten R. (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.

SILVERADO

Potencia que desafía a cualquier aventura.



PRECIO DE LISTA A PARTIR DE:
\$14.120.000* IVA INCL.

PRECIO CON FINANCIAMIENTO GMAC A PARTIR DE:
\$14.020.000** IVA INCL.

VERSIONES: CABINA SIMPLE / CABINA EXTENDIDA / DOBLE CABINA

MOTOR VORTEC 5.3 LTS. V8 315 HP CON AFM*** / SUNROOF ELÉCTRICO1 / CLIMATIZADOR BI-ZONA1 / CÁMARA DE RETROCESO1 ASIENTOS ELÉCTRICOS1 / TAPIZ DE CUERO1 / NEBLINEROS / COMPUTADOR A BORDO / AIRBAGS FRONTALES, LATERALES Y DE CORTINA CONTROL DE ESTABILIDAD STABILITRAK / CAJA AUTOMÁTICA DE 6 VELOCIDADES CON POSIBILIDAD DE MANEJO MANUAL / CAPACIDAD DE REMOLQUE DE 4.309 KG1



www.chevrolet.cl
 800 800 115

WWW.SALFASUR.CL

VALDIVIA · OSORNO · PUERTO MONTT



600 600 4004
 Central de Atención Clientes



AUTOMOTRIZ SALFA SUR LIMITADA



CHEVROLET

Fotografías referenciales. Precio válido desde 02/07/13 hasta el 31/07/13, no incluye flete. Precio no válido para zona franca. (1) Según versión. *Precio Corresponde a modelo SILVERADO LT II RC 5.3 AT. ** Precio Corresponde a modelo SILVERADO LT II RC 5.3 AT e incluye bono de \$100.000 por compras con credito GMAC. Consulte condiciones en su concesionario Chevrolet. Condiciones del crédito son de exclusiva responsabilidad de GMAC. *** AFM: Active Fuel Management es un sistema de desactivación de cilindros para ahorro de combustible.

Inflamación del Músculo Esquelético y Cardíaco (HSMI)

Carlos Sandoval Hurtado; M.V. Escuela de Graduados, Fac. Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Jefe Laboratorio Biovac S.A., carlos.sandoval@biovac.cl

Enrique Paredes Herbach; M.V., Dr. med.vet. Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile. eparedes@uach.cl

María José Navarrete Talloni; M.V., MPVM, PhD. Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile. majose.navarrete@uach.cl

Epidemiología

La enfermedad HSMI, Inflamación del Músculo Esquelético y Cardíaco (Heart and Skeletal Muscle Inflammation) fue diagnosticada por primera vez en Noruega en el año 1999 y hasta la fecha ha ido en aumento. Escocia reportó un caso similar, el cual aún no ha sido confirmado (Ferguson 2005). Afecta solamente al Salmón del Atlántico, normalmente desde 4 y hasta 9 meses post-siembra en mar, pero también se han reportado casos de aparición de signología desde la primera semana en infecciones experimentales (Kongtorp 2009)

Es una enfermedad altamente infecciosa que ha ido en rápido aumento en Noruega, además de presentar una alta morbilidad, los centros pueden verse comprometidas en la totalidad de sus jaulas con una morbilidad cercana al 100%, y tasas de mortalidad que pueden alcanzar hasta el 20% (Kongtorp 2006).

Etiología

El agente causal es un Piscine Reovirus.

Signos clínicos

La enfermedad HSMI sólo afecta a *Salmo salar* y los brotes de la enfermedad comienzan en promedio 4 a 9 meses post-siembra en mar.

La signología externa que presentan los peces es escasa, describiéndose un nado errático, que se caracteriza en que los peces enfrentan la corriente dentro de la jaula, otro signo que puede estar presente es la pérdida del apetito. Las mortalidades suelen ser bajas pero la morbilidad muy alta como se mencionó anteriormente.

Los peces afectados normalmente son de 1 Kg y casi nunca superan 1,5 Kg estos peces pueden desarrollar un extenso daño en la musculatura cardíaca sin mostrar signología clara, pero una vez que el compromiso cardíaco es muy grande comienzan los brotes de mortalidad. En este punto alrededor del 100% de los peces ya están afectados (Kongtorp 2008).

A la necropsia, los peces afectados en general se presentan con una buena condición y sin lesiones externas. Internamente, lo que primero llama la atención es el hemopericardio y un corazón pálido o grisáceo. El hígado puede estar pálido e icterico o negro y congestivo. Algunos peces presentan una capa de fibrina en la superficie del hígado. Al ser esta una enfermedad que afecta el corazón, signos de trastornos circulatorios, tales como fluidos ascíticos y esplenomegalia también podrían o no estar presentes. El tejido que rodea los ciegos pilóricos puede

presentar puntos rojos, que indican petequias o congestión venosa (Kongtorp 2008). La aparición de estos signos no son concluyentes para el diagnóstico, pero nos pueden servir como herramienta de sospecha, más aún si se presentan en un alto porcentaje de la población.

Alteraciones macroscópicas del músculo esquelético (como el nombre de la enfermedad lo indica), no son frecuentes y estas lesiones se pueden detectar mediante histología sólo al final de la enfermedad.

Los daños producidos por el agente de HSMI se producen al poco tiempo del contagio (menor a diez días en infecciones experimentales).

HSMI se caracteriza por una severa epicarditis, siendo este el signo más temprano de la enfermedad junto con la presencia de células inflamatorias rodeando los vasos sanguíneos, con una infiltración predominante de células mononucleares.

Histopatología

Luego seguirán los signos más "clásicos" del HSMI que incluyen la presencia abundante de células inflamatorias en los tejidos ya mencionados, más los estratos cardíacos compacto y esponjo, donde se observan células mononucleares como macrófagos, linfocitos y células tipo plasmocito. Las células inflamatorias están ubicadas dentro y alrededor de los miocitos distribuidos con un patrón difuso. En casos severos la infiltración celular es extensiva y difusa con una gran número de miocitos necróticos. Los miocitos afectados muestran signos de condensación y degeneración celular, eosinofilia y vacuolización. También se pueden encontrar células con picnosis y cariólisis, estas células necróticas aparecen en asociación con los tejidos afectados por células inflamatorias. También algunos miocitos de ambos estratos cardíacos, se pueden encontrar con núcleos hipertróficos.

Diagnóstico

Mediante RT PCR Piscine Reovirus complementado con técnicas histopatológicas e IHQ.

Importancia Productiva

El impacto de HSMI es importante ya que logra mortalidades acumuladas en mar de hasta un 20% en *S. salar*, y al propagarse rápidamente podríamos tener más de 1 centro por zona afectado. Su alta morbilidad se suma al problema anterior. Además, se ha demostrado que los peces pueden transmitir el agente desde dos meses antes hasta dos meses después de un brote.

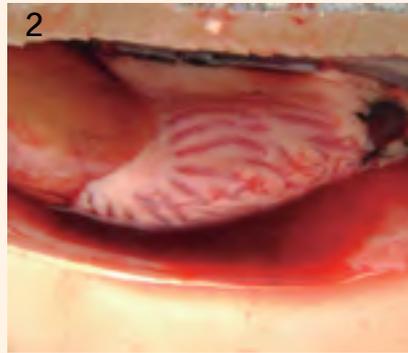


Imagen 1. *S.salar*. Se observa hemorragia ocular.

Imagen 2. *S.salar*. Se evidencia ascitis serosanguinolenta.

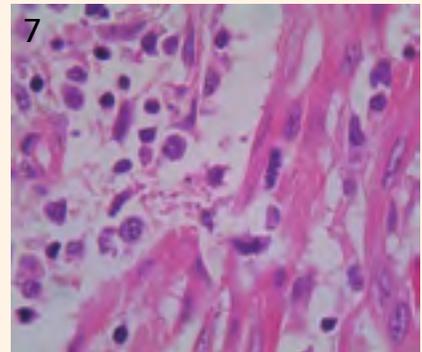
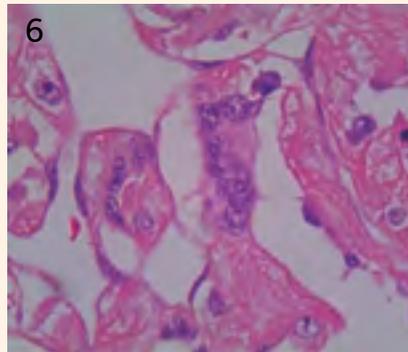
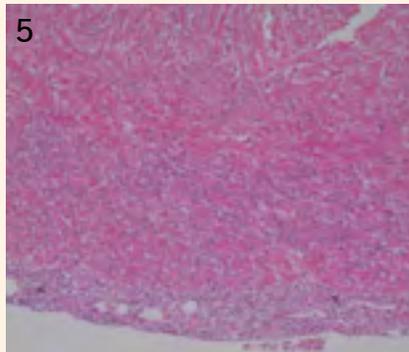
Imagen 3. *S.salar*. se observa hemopericardio y corazón e hígado pálido.

Imagen 4. *S.salar*. se observa hemopericardio y corazón pálido.

Imagen 5. *S.salar*. Corazón. Se evidencia una extensa epicarditis y miocarditis principalmente en estrato compacto.

Imagen 6. *S.salar*. Corazón. Se evidencian cluster de pequeños núcleos a nivel de miocitos.

Imagen 7. *S.salar*. Corazón. Se evidencia una intensa miocitis y presencia de células de Anitschkow.



Referencias

Alne. H., et al. (2009). Reduced HSMI mortality by dietary TTA. *Journal of Fish Diseases*. 32, 953–961.

Ferguson. H. W., et al. (2005). Heart disease in Atlantic salmon. *Journal of Fish Diseases*. 28, 119–123.

Kongtorp R.T., Kjerstad A., Guttvik A., Taksdal T. & Falk K. (2004a) Heart and skeletal muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a new infectious disease. *Journal of Fish Diseases* 27, 351–358.

Kongtorp R.T., Taksdal T. & Lyngøy A. (2004b) Pathology of heart and skeletal muscle inflammation (HSMI) in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Diseases of Aquatic Organisms* 59,217–224.

Kongtorp. R. T., et al. (2006). Longitudinal study of HSMI in salmon. *Journal of Fish Diseases*. 29, 233–244.

Kongtorp. R. T., et al. (2008). Heart and skeletal muscle in-

flammation (HSMI) in Atlantic salmon, *Salmo salar*: pathology, pathogenesis and experimental infection. Thesis for the degree of Philosophiae Doctor. Norwegian School of Veterinary Science. Oslo. Noruega.

Kongtorp. R. T., & Taksdal, T. (2009). Studies with experimental transmission of heart and skeletal muscle inflammation. *Journal of Fish Diseases*. 32, 253–262.

McLoughlin. M. F & Graham. D. A. (2007). Salmonid alphaviruses – a review. *Journal of Fish Diseases*. 30, 511–531.

Palacios. G, et al. (2010). Heart and Skeletal Muscle Inflammation of Farmed Salmon Is Associated with Infection with a Novel Reovirus. *Plos one*. Volume 5. Issue 7.

Watanabe. K., Karlsten. M., Devold. M., Isdal. E., Litlabø. A., Nylund. A. (2006). Virus-like particles associated with heart and skeletal muscle inflammation (HSMI). *Diseases of Aquatic Organisms*. 70: 183-192.

solace

HOTEL

www.solacehotel.cl



hacemos de tu evento ... toda una Experiencia.



- ▀ 86 Habitaciones Junior Suite
- ▀ Salones de Eventos para 300 personas
- ▀ Internet Wi- Fi por Fibra Óptica
- ▀ Business Center
- ▀ Estacionamiento Privado

Fono: +56 (65) 224100 | Puerto Varas, Lagos & Volcanes, Chile

digi Press

www.digipress.cl

Gigantografías

Adhesivos Murales

Volantes

Lienzos

Plotter de Corte

Instalaciones en Terreno

Pendones Roller

Facturas y Autocopiativos

Letreros Camineros

Diseño y Publicación Web

Empavonados

Merchandising

Señaleticas

Imagen Corporativa

Plotter Alta Resolución

One Way Vision

Partes de Matrimonios y Bautizos

Folletos

Diplomas

Etiquetas

Impresión Offset Digital • Plotter Alta Resolución • Diseño Personalizado

Osorno | (64) 2233715 | (64) 2613119 | (64) 2613118 | contacto@digipress.cl

RICKEMUNE-VAX®

PROTECCIÓN DE LARGA ACCIÓN

Vacuna monovalente
específica contra SRS

Protección
inmune efectiva

PROTECCIÓN

Reactiva la protección
a largo plazo



Puerto Montt: Bersartino 1986, Tel: (56-65) 200 600 / Santiago: Camino a Losquén 10387, Maipú, Tel: (56-2) 2 384 4000
www.veterquimica.com

 **VETERQUÍMICA**
CREANDO SALUD ANIMAL

Rickemune-Vax® una protección a Largo plazo contra el Síndrome Rickettsial del Salmón SRS



Ivan Valdés Valdivia, Juan Battaglia Aljaro, Susana Velásquez Soza, Carlos Sandoval Hurtado, Pedro Ilardi Lazcano y Harold Oliva Mayegas.
Laboratorio de I+D+i, Veterquímica S.A., Santiago de Chile.
ivaldes@veterquimica.cl

Resumen

Hoy en día el gran problema que enfrentan los cultivos de salmones en nuestro país, dicen relación fundamentalmente, en la fase de crecimiento y engorda en agua de mar, con la presencia de un patógeno intracelular facultativo de características epidemiológicas altamente invasivo, cada día más prevalente con un aumento sostenido en la frecuencia de aparición de brotes a nivel de los lotes cultivados y además altamente potente desde la perspectiva infecciosa denominado Septicemia o Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), el que además de sus características propias, reviste impacto en las poblaciones cultivadas al asociarse a otras patologías bacterianas que si bien no son propias del agua de mar se arrastran desde la fase de agua dulce como BKD causada por *Renibacterium salmoninarum* y también entidades parasitarias como la Caligidiosis (*Caligus spp.*). Así SRS causado por *Piscirickettsia salmonis* en cualquiera de sus variantes es hoy en día la gran enfermedad de los salmones Chilenos.

Es sabido que la vacunación ha permitido a la industria del salmón controlar numerosas enfermedades. No obstante, las infecciones con *P. salmonis* persisten, quizás debido a que, al ser éste, un patógeno intracelular facultativo, requiere formulaciones de vacuna con capacidad dual para inducir tanto una respuesta humoral como una respuesta celular.

En la actualidad la autoridad Salmonera nacional y a la luz de los últimos antecedentes han establecido un control exhaustivo sobre las áreas destinadas a la producción de salmónidos en nuestras regiones australes, a esto se suma la implementación de un programa nacional de vigilancia activa en el cual están fuertemente involucrados los productores, y las asociaciones gremiales de productores y criadores, es así como INTESAL de SalmónChile, elabora informes semanales de la situación sanitaria de las diferentes áreas, determinando para los centros la condición de Centro en Alerta y Centro de Activa Diseminación (CAD).

Rickemune-Vax®, por la pureza de su antígeno y la utilización, en su formulación, de un adyuvante de última generación tiene la capacidad de inducir en forma equilibrada una respuesta inmune, humoral y celular por parte de los peces vacunados.

Rickemune-Vax® estimula el sistema inmune innato y adquirido en poblaciones de *Salmo salar*, esto se demostró mediante la semicuantificación de marcadores moleculares asociados al

sistema inmune de los peces y por serología. Adicionalmente, mediante ensayos de eficacia de la vacuna Rickemune-Vax® frente al patógeno, se determinó un RPS > 70% tanto en desafío realizados a 600 UTA como a las 2100 UTA.

Introducción

La enfermedad infecciosa considerada como la principal causa de mortalidades en la salmonicultura nacional es el Síndrome Rickettsial de los Salmónidos (SRS), provocando anualmente grandes pérdidas a la industria chilena. Entre algunas características de la enfermedad se pueden destacar que frecuentemente comienza luego de algunas semanas que el pez haya sido introducido al agua de mar. Los peces infectados se observan letárgicos, orillados, y presentan movimientos verticales o circulares. Se evidencia oscurecimiento de piel, exoftalmia y distensión abdominal (Figura 1). En etapas avanzadas de la enfermedad se observa frecuentemente aumento de mortalidad con acumulados de un 2 a un 40%. Uno de los primeros signos clínicos evidenciados son pequeñas lesiones blancas a nivel de

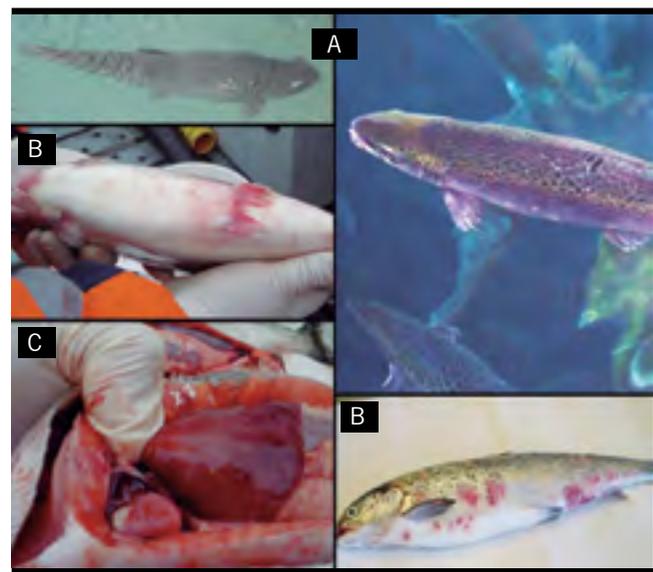


Figura 1. A. Trucha Arcoíris cursando con un cuadro de SRS, se observa orillada, con natación superficial, exoftalmia, oscurecimiento de piel y pequeñas úlceras cutáneas de distribución multifocal, además de una abundante carga de ectoparásitos (*Caligus spp.*) B. Lesiones ulcerativas a nivel de piel con exposición de tejido muscular. C. Hígado de *S. salar* infectado.

piel que luego nodulan para posteriormente ulcerarse. También se puede observar a nivel de musculatura la presencia de cavitaciones con contenido seroso de tipo abscedativo. Las lesiones observadas en piel implican varios grados de abrasión y posterior necrosis de epidermis, dermis y muscular subyacente, (Sandoval, 2012). Sin embargo en brotes agudos la mortalidad puede presentarse sin mayores signos de enfermedad.

	Zona Geográfica	Nº
1	Estuario Reloncaví	1
2	Seno Reloncaví	4
3	Chiloé Norte	7
4	Chiloé Centro	11
5	Chiloé Sur	1
6	Hornopirén - Reñihué	5
7	Chaitén	1
8	Puerto Cisnes	3
9	Melinka	1
10	Chonos	1
11	Puerto Aysén	3

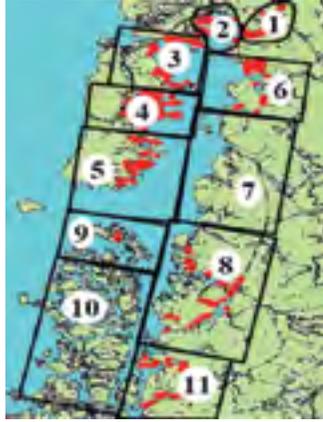


Figura 2. Mapa lugares geográficos donde se realizaron los aislamientos.

A nivel de cavidad abdominal, una de las lesiones patognomónicas de la enfermedad, es la presencia de hígado pálido amarillo con nodulaciones subcapsulares con halos hemorrágicos en su periferia (Figura 1). También se observan hemorragias petequiales en grasa peripilórica, grasa visceral y vejiga natatoria, palidez de órganos parenquimatosos, hepatomegalia, renomegalia, esplenomegalia, intestino y estómago hemorrágico, además de hemorragia sobre la superficie cerebral. La patología más marcada es la necrosis y edema con una respuesta granulomatosa, siendo encontrada en tejido hematopoyético de riñón, bazo y hepatocitos en hígado (Sandoval, 2012).

Están reconocidas como vías de entrada al pez de *P. salmonis* la piel y branquias, siendo la ruta oral la menos preferida por la bacteria para infectar los peces (Larenas y cols., 2003). Además, se ha reportado que su sobrevivencia en agua de mar le permitiría infectar peces por vía horizontal sin requerir un hospedero intermedio (Lannan y Fryer, 1994). Una vez que la bacteria supera las barreras físicas del pez, esta infecta, sobrevive, replica y se propaga en los macrófagos de salmonídeos (Rojas y cols., 2009), alterando la función de eliminación de bacterias por parte de los macrófagos al impedir la fusión fagosoma al lisosoma (McCarthy y cols., 2008; Gómez y cols., 2013). Finalmente causa la muerte de los macrófagos al inducir apoptosis de macrófagos (Rojas y cols., 2010). Tacchi y cols. 2011, observaron que en los estadíos tempranos de infección de salmones por *Piscirickettsia salmonis*, ocurría una disminución de transcritos de genes involucrados en la respuesta inmune adaptativa, por lo tanto no es de extrañar que SRS sea el causante de más del 60% de las mortalidades inducidas por enfermedades infecciosas en centros de engorda en agua de mar.

La ausencia de tratamientos efectivos contra la *Piscirickettsiosis* ha acentuado la necesidad de desarrollar estrategias que prevengan la enfermedad. Una alternativa es la vacunación, ya que este método ha permitido a la industria del salmón controlar numerosas enfermedades desde hace ya tiempo a nivel de los países tradicionalmente productores de salmón y truchas en cautiverio. En Chile, el uso de vacunas para la acuicultura, se remonta a comienzos de la década de 1980, y en la actualidad se dispone de varias formulaciones sean estas bacterinas, virinas o recombinantes, para infecciones usualmente presentes en los centros de cultivo, muchas de las cuales por acuerdos de la misma industria deben ser administradas a los peces de manera obligatoria.

Para el caso de infecciones controladas con *P. salmonis*, Smith y cols., (1997) lograron proteger peces pre-smolts inyectando una bacterina por vía intraperitoneal. Sin embargo, una formulación semejante pero concentrada no consiguió la misma protección, razón por la cual, se han utilizado diversas maneras de obtener antígenos efectivos en protectividad de *P. salmonis* ya sea mediante extracción por calor, recombinación de ellos o prototipos basados en el ácido nucleico bacteriano.

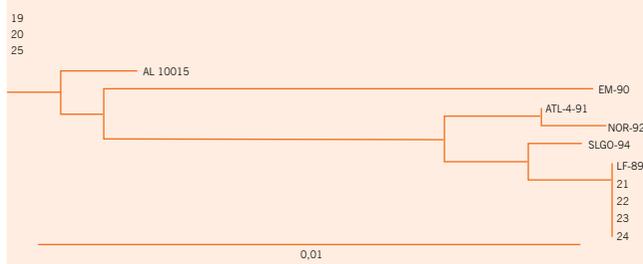
Estos y otros ensayos de vacunación han mostrado que los salmonídeos desarrollan una respuesta inmune adaptativa a este patógeno. Esto se ha concluido a partir de numerosos ensayos de vacunación-desafío y confirmado por el aislamiento de anticuerpos específicos. Sin embargo, la mayoría de los estudios correspondientes en peces, han investigado solamente la respuesta inmune humoral, desestimando o no evaluando la celular faltando información respecto de que parte del sistema inmune, humoral o mediado por células, es crucial en la defensa de las infecciones de *P. salmonis*, o si es que hay memoria inmunológica de células citotóxicas involucradas.

Desde los trabajos de Watts y cols. allá a inicios del 2000, se sabe que los peces teleósteos poseen sistema inmune innato y adquirido. Además, la respuesta innata mediada por las células presentadoras define si se evoca una respuesta predominantemente mediada por células o predominantemente mediada por anticuerpos. En el caso de *P. salmonis*, un patógeno intracelular facultativo, es sabido entonces que se requeriría de formulaciones vaccinales, con capacidad dual de inducir tanto una respuesta humoral como una respuesta celular. Esto resulta ser un factor determinante en la efectividad y la duración del efecto protector de las vacunas que actualmente están en el mercado y explicarían las fallas en la eficiencia protectora de larga duración. Lo que se aprecia en el uso creciente de antibiótico con la escasa correlación entre tratamientos y reducción de mortalidad por enfermedades.

Rickemune-Vax®

El objetivo de Rickemune-Vax®; vacuna contra *Piscirickettsiosis*, fue disponer de una formulación vaccinal efectiva, que mejorará la entrada de los antígenos de *P. salmonis* a las células presentadoras de los salmonídeos, con lo cual puede lograr una mejor activación del sistema inmune innato y adaptativo para luego desarrollar una inmunidad protectora contra dicho patógeno intracelular.

Figura 3. Árbol de alineamiento de secuenciación del 16S *P. salmonis*.



Es un hecho comprobado que para desarrollar vacunas altamente eficientes se debe considerar y conocer los factores antigénicos, relacionados con el hospedero, del agente infeccioso como también el serotipo predominante del patógeno en cada sector geográfico afectado, antes de la formulación de la vacuna. Para el desarrollo de Rickemune-Vax® se analizaron y caracterizaron más de 40 aislados de sectores representativos del sur de Chile (Figura 2).

Para la caracterización genética de los aislados se utilizaron técnicas de fingerprinting las cuales determinaron dos grupos genéticos. Los grupos genéticos están relacionados mayoritariamente a la cepa LF-89 y otro menor con la cepa LM-90, esto se ratificó mediante secuenciación de los genes 16S e ITS de los aislados, situación que coincide con la literatura técnica específica (Figura 3).

Sin embargo, al hacer un análisis antigénico de los aislados se determinó mediante estudios de perfiles de proteínas totales, ELISA SRS usando Kit comercial o *Western blot* (Figura 4), que sólo existía un serogrupo en todos los aislados estudiados razón que determinó utilizar para la vacuna una cepa de *P. salmonis*, representativa de la realidad nacional que además presenta características de patogenicidad que la hacen única.

El medio de cultivo en que se multiplica y crece la bacteria fue la segunda innovación en la formulación de Rickemune-Vax®, aun cuando, los métodos estándar de crecimiento de *P. salmonis* se basan en el cultivo de la bacteria en líneas celulares susceptibles como CHSE-214. La cepa escogida para Rickemune-Vax® fue crecida en placas de Agar, lo cual permite mejorar sustancialmente tanto la pureza del antígeno, sin la presencia de restos celulares, como también, aumentar la concentración bacteriana en las formulaciones sin generar factores inductores de inmunosupresión y además mantener las características de la bacteria en términos de morfología espacial (conformación) y patogenicidad.

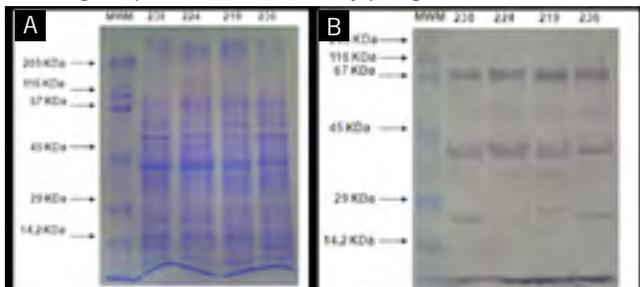


Figura 4. A. Gel SDS PAGE aislados *P. salmonis* representativos de los grupos genéticos. B. *Western Blot* aislados *P. salmonis* representativos de los grupos genéticos.

Se suma a este nuevo y efectivo producto vaccinal, en la preparación de las formulaciones la utilización de un adyuvante de última generación que genera una respuesta equilibrada de anticuerpos y células.

En pruebas del producto en condiciones controladas en dependencias de Veterquímica S.A., se determinó que en peces vacunados con Rickemune-Vax® se observaban aumentadas las poblaciones celulares CD4 y CD8, además, se observó, mediante el empleo de RT-PCR en tiempo real, el aumento en las citoquinas INF- γ y NKEF (Figura 5). Se espera que estos marcadores reflejen aumentos en los efectores de la citotoxicidad mediada por células los cuales fueron identificados como células tipo linfocitarias citotóxicas (CTLs) y tipo *natural killer* (NK) (Utke y cols., 2007). Adicionalmente se observó aumentos en la cantidad de anticuerpos específicos anti *P. salmonis* tanto a corto plazo (600UTA) como a largo plazo (1900 y 2055 UTAs. Figura 6).

Una vez conocidos los efectos en el sistema inmune de los peces, se realizaron ensayos de inmunización y desafío para evaluar la eficacia de la vacuna. En las pruebas de corto plazo (600 UTA) y en las de largo plazo, se obtuvo un porcentaje de supervivencia los peces (RPS) inmunizados con Rickemune-Vax® por sobre el 70% cuando el 60% de los peces controles había muerto y este RPS se mantuvo sobre un 70% finalizado el ensayo (Figura 7 A y B). Sin embargo, el desafío siempre fue generar una vacuna que protegiera del Síndrome Rickettsial del Salmón pasadas las 2000 UTA, para esto se inmunizaron peces y se desafiaron pasado este tiempo, los resultados mostraron que Rickemune-Vax® es capaz de producir RPS por sobre 70% en peces inmunizados por más de 2100 UTAs.

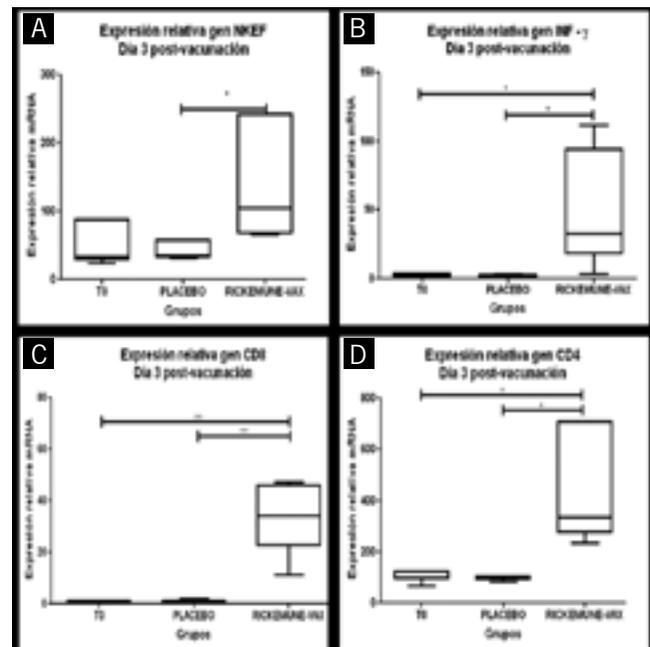


Figura 5. Expresión relativa marcadores inmunológicos salmonídeos tres días post-inmunización con Rickemune-Vax®. A. gen NKEF. B. gen INF- γ . C. gen CD8. D. gen CD4.

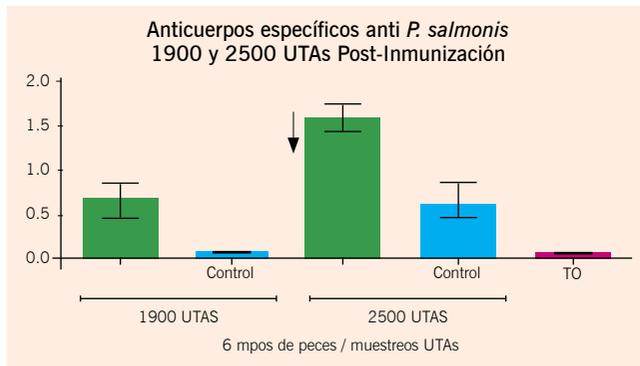


Figura 6. Medición Anticuerpos específicos anti *P. salmonis* Medición 1900 y 2500UTAs Post-Immunización con Rickemune-Vax®.

Conclusiones

- Rickemune-Vax® es un efectivo producto inmunológico diseñado para otorgar protección de largo plazo a los salmonídeos en cultivo contra el SRS,.
- La vacuna es elaborada a partir de aislados puros de una cepa patógena local, representativa tanto genética como antigénicamente de aislados de *P. salmonis* obtenidos desde centros positivos a la enfermedad.
- La bacteria fue multiplicada y crecida en placas de agar manteniendo todas las características de morfología y patogenicidad propias de la bacteria.
- Rickemune-Vax®, estimula el sistema inmune innato y específico de peces inmunizados, condición protectora, que se mantiene activa y altamente reactiva contra el patógeno aún pasadas 2100 UTAs post vacunación.

Referencias

Gomez, F.; Tobar, J.; Henriquez, V.; Sola, M. y Marshall, S. 2013. Evidence of the Presence of a Functional Dot/Icm TypeIV-B Secretion System in the Fish Bacterial Pathogen *Piscirickettsia salmonis* PLOS ONE, January 2013 Volume 8 Issue 1 e54934.

Larenas J., Bartholomew J., Troncoso O., Fernández S., Ledezma H., Sandova I N., Vera P., Contreras J. y Smith P. 2003. Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and in vitro study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. DAO 56:25-30.

Lannan, C.N y Fryer, J.L., 1994. Extracellular survival of *Piscirickettsia salmonis*. Journal of Fish Diseases, 17:545-548.

McCarthy UM, Bron JE, Brown L, Pourahmad F, Bricknell IR, Thompson KD, Adams A. y Ellis AE. 2008. Survival and replication of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout head kidney macrophages. Fish Shellfish Immunol. 2008 Nov;25(5):477-84.

Rojas V, Galanti N, Bols N. Y Marshall S. 2009. Productive infection of *Piscirickettsia salmonis* in macrophages and mono-

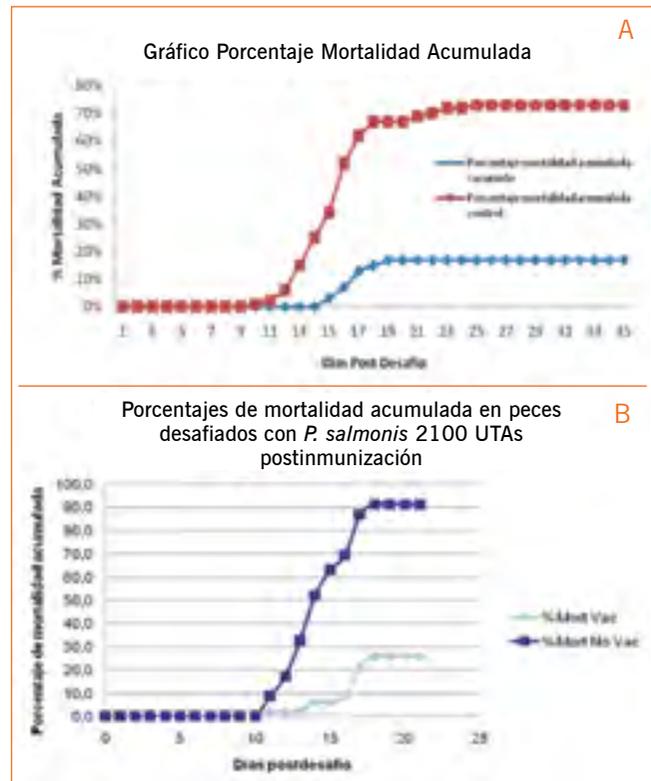


Figura 7. Gráficos de Mortalidad acumulada de peces inmunizados con Rickemune-Vax® y posteriormente desafiados con *P. salmonis*. A. Peces inmunizados por 600 UTA. B. Peces inmunizados por 2100 UTAs.

cyte-like cells from rainbow trout, a possible survival strategy. J Cell Biochem. 108(3):631-7.

Rojas V, Galanti N, Bols N, Jimenez V., Paredes R. y Marshall S. 2010. *Piscirickettsia salmonis* Induces Apoptosis in Macrophages and Monocyte-Like Cells From Rainbow Trout. J Cell Biochem. 110:468-476.

Sandoval, C. 2012. Hallazgos patológicos a nivel de campo en la industria Acuícola Chilena año 2007- 2012.

Smith, P.A, Contreras, J.R. y Larenas, J.J. 1997. Immunization with bacterial antigens: Piscirickettsiosis. En: Gudding, R., Lillehaug, A., Midtlyng, P.J., Brown, F., editors. Fish Vaccinology. Dev. Biol. Stand. Basel, Karger. 161-6.

Tacchi L, Bron JE, Taggart JB, Secombes CJ, Bickerdike R, Adler MA, Takle H. y Martin S. 2011. Multiple tissue transcriptional responses to *Piscirickettsia salmonis* in Atlantic salmon (*Salmo salar*). PhysiolGenomics.43(21):1241-54.

Utke K, Kock H., Schütze H., Bergmann S., Lorenzen N., Einer-Jensen K., Köllner B., Dalmo R., Vesely T., Otake M. y Fischer U. (2007): Cell-mediated immune responses in rainbow trout following DNA-immunization against the viral hemorrhagic septicemia virus. Submitted.

Watts M., Munday BL., y Burke CM. 2001. Immune responses of teleost fish. Australian veterinary journal. 79(8):570-4.

Gestión sanitaria en la salmonicultura: PASADO, PRESENTE Y FUTURO



Alicia Gallardo Lagno
Jefa Unidad de Salud Animal
Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Sernapesca

1. INTRODUCCIÓN

La Anemia Infecciosa del Salmón (ISA¹) es una enfermedad transfronteriza, altamente infecciosa que afecta al salmón de Atlántico (*Salmo salar*), siendo su agente etiológico un virus de la familia *Orthomixoviridae*, denominado virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAv²).

En Chile se produjo el primer brote de la enfermedad en salmón atlántico, en julio del 2007, en un centro de cultivo ubicado en la isla Lemuy en Chiloé central, en el cual se detectó aumento de la mortalidad, signología clínica consistente con la enfermedad y finalmente confirmación de laboratorio de la presencia del ISAv, por medio de PCR y cultivo celular.

¹ Por su sigla en inglés: Infectious Salmon Anemia

² Por su sigla en inglés: Infectious Salmon Anemia virus

La situación de centros de cultivo en la región, se observa en la siguiente figura:



T. Arcoiris	63
S. Salar	186
S. Coho	38
Multi - species	5
Total	292

2. MEDIDAS IMPLEMENTADAS

Las principales medidas post brote que se realizaron en el país fueron:

- Acciones específicas de vigilancia y control de ISA
- Fortalecimiento de Sernapesca
- Nueva regulación
- Nueva estructura institucional
- Nuevo modelo de gestión sanitaria
- Medidas voluntarias adoptadas por la industria
- Nuevo modelo de producción
- Investigación

Reforzamiento de Sernapesca

Durante el año 2008, Sernapesca recibió un incremento presupuestario que permitió implementar un equipo de inspectores sanitarios tanto en el nivel central como en los niveles regionales desde la región metropolitana a la región de Magallanes (la dotación regional de Sernapesca en el ámbito acuicultura pasó de 5 funcionarios a más de 50, concentrados principalmente en las regiones de Los Lagos y Aysén).

Sernapesca establece por primera vez en Chile una autorización sanitaria de movimientos basada en análisis negativos para ISAV. El certificado de movimientos está vigente hasta la fecha, aplica para todos los movimientos de salmónidos en el país y se denomina "Certificado Sanitario de Movimiento" (CSM).

En el Gráfico 1 se muestra la tendencia al alza de las actividades de control realizadas por Sernapesca desde el inicio del brote en julio del año 2007 a julio del 2008.

Medidas específicas de vigilancia y control de ISA

Mediante la Resolución N° 2638 de 8 octubre de 2008) se estableció el Programa Sanitario Específico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón a ejecutarse en todas las unidades de cultivos (en mar y agua dulce). En este programa se recogen las medidas contenidas en el Plan de Contingencia de ISA, y se incorporan medidas adicionales de control de movimientos de peces y estructuras, control de reproductores, control de smolts previo a su traslado al mar, exigencias para cosecha y procesamiento de peces, entre otros. Todas estas medidas tienden a controlar los principales factores de riesgo asociados a la transmisión de la enfermedad.

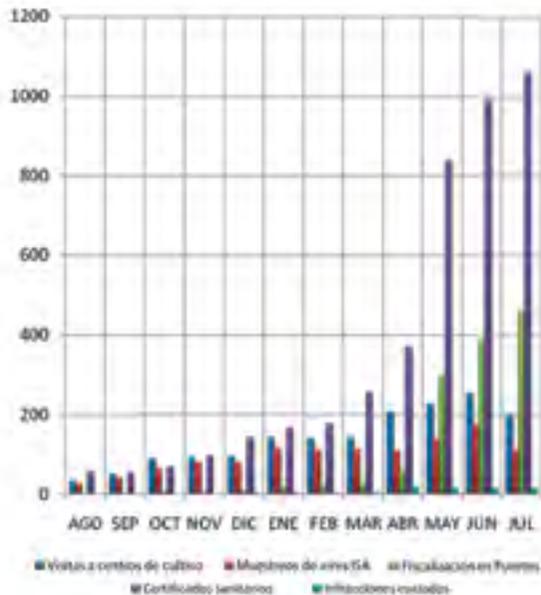


Gráfico 1. Actividades de fiscalización y control de ISA, realizadas por Sernapesca desde el mes de agosto de 2007 a julio de 2008.

Las acciones de vigilancia se realizaron en todas las etapas productivas. La técnica oficial fue el RT-PCR. Se estableció un laboratorio oficial de verificación y se fortaleció la red diagnóstica oficial de Sernapesca a través del desarrollo de procedimientos, normas técnicas, ring test y exigencias de acreditación de calidad. Se establecieron tamaños y frecuencias de muestreo.

Las acciones de control involucraban a los reproductores, traslados y a los centros de cultivos clasificados como brotes, los cuales debían cosechar o eliminar las jaulas con signología clínica, además algunos centros sospechosos, como medida precautoria, realizan una eliminación temprana de las jaulas positivas.



Centros de matanza y plantas de proceso

De acuerdo con el PSEVC-ISA, la matanza y procesamiento de peces provenientes de centros de cultivo confirmados, sospechosos y en riesgo sólo podía realizarse en centros de matanza o plantas de procesamiento que cuenten con un sistema de desinfección de riles, de acuerdo a las exigencias establecidas por el Servicio y que hayan sido autorizadas por éste.

Entre 2009 y 2010, el Servicio autorizó la operación de 29 plantas primarias y secundarias para el procesamiento de peces provenientes de centros clasificados como sospechosos o brote, todas las cuales contaron con sistemas de desinfección de riles, aprobado por el Servicio. La medida de desinfección de riles más utilizada por las plantas autorizadas fue el uso de derivados del cloro como el dióxido de cloro e hipoclorito del calcio con un 82%, seguido por el ozono con un 18%. Todas las plantas de proceso son sometidas a acciones de fiscalización.

OTRAS MEDIDAS

Control de importaciones

Dado que dentro de las vías de transmisión de ISA, la vía vertical y transgeneracional no estaban descartadas y basándose en el principio precautorio, Sernapesca consideró medidas alternativas y adicionales de protección y control para evitar la introducción de Enfermedades de Alto Riesgo a través de las ovas de especies salmónidas, estableciendo requisitos complementarios para la certificación sanitaria de ovas importadas (Resolución N° 1803 de 11 de julio de 2008).

Establecimientos de Áreas de Manejo Sanitario (AMS)

Las medidas consideran descansos coordinados por área de tres meses y densidades de cultivo para las cuatro especies. Estas áreas se denominaron posteriormente Agrupaciones de Concesiones de Salmonicultura (ACS), conforme lo estableció la Ley de Pesca y Acuicultura en el año 2010.

3. MODELO ACTUAL DE GESTIÓN SANITARIA EN SALMONICULTURA

Dada la experiencia adquirida desde el brote de ISA y diversas asesorías de expertos nacionales e internacionales, Sernapesca define el modelo de gestión sanitaria, el cual considera acciones pre frontera y post frontera.

Acciones Pre Frontera

- Aumento del nivel adecuado de protección.
- Basado en análisis de riesgo de importaciones (ARI) basado en lineamientos de la OIE.
- Identificación de peligros: listas de enfermedades en Chile.
- Evaluación de riesgos de materiales y equipos usados.
- Medidas de mitigación en origen y destino.
- Medidas de control para peces ornamentales.

El modelo post frontera considera acciones a nivel de toda la cadena de producción, basado en lineamientos OIE, con amplia participación de todos los actores y con transparencia durante los procesos.

El reglamento sanitario fue fortalecido en sus aspectos de bioseguridad crítica, relacionada con el manejo de mortalidades, cosecha, movimientos, descansos, entre otros.

Para la vigilancia de enfermedades existen nuevos actores, como los laboratorios de referencia, quienes gestionan la estandariza-

ción y control de calidad de las metodologías analíticas oficiales y realizan asesoría a Sernapesca.

Laboratorios de referencia nacionales

<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio de Patógenos Acuicola, NBC. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio de Biotecnología y Patología Animal. Universidad Austral de Chile. 	<ul style="list-style-type: none"> Laboratorio de Bioquímica y Virología. Universidad de Valparaíso.
ISA <i>Piscirickettsia salmonis</i>	<i>R. Salmoninarum</i> exóticas	<i>R. Salmoninarum</i> exóticas

Se fortalece la vigilancia temprana de enfermedades a través de la participación de Médicos Veterinarios privados, de Sernapesca y certificadores de la condición sanitaria.



Sernapesca ha elaborado dos programas de control de enfermedades para caligidosis y SRS, cuyos principios son:

- Conocer más al patógeno
- Detección temprana de positivos
- Control rápido de positivos
- Protección de negativos

4. SITUACIÓN SANITARIA ACTUAL

Se ha recuperado la producción de salmónidos, superando incluso la producción 2007.

La situación de ISA está bajo control, presentándose después de dos años dos brotes de la enfermedad en el presente año, los cuales no se diseminaron hacia otras zonas del país. Se estableció vigilancia en base al riesgo de forma de detectar oportunamente los casos positivos a ISA en la zona infectada y en la macrozona afectada.

En base al informe sanitario de la salmonicultura en centros marinos 2012, elaborado por Sernapesca, las principales conclusiones son:

- La biomasa de salmónidos cultivados en mar durante el año 2012 alcanza el máximo histórico, de las cuales la Región de Aysén concentra el 52,88.
- Los indicadores de mortalidad del año 2012, de acuerdo a los registros históricos de los últimos siete años, se encuentran dentro de los niveles esperados.
- Como resultado de la estrategia implementada a través del programa de control de ISA, desde el año 2010 no se han presentado brotes en el país. La variante predominante del virus es HPR 0. Las acciones de verificación, fiscalización y vigilancia de los centros Confirmados HPR 0 por parte del Servicio, así como los informes sanitarios semanales enviados por los Médicos Veterinarios de las empresas, no muestran evidencia de la aparición de signología clínica y/o mortalidad asociada a la enfermedad en estos centros.
- Se observa un incremento general moderado de cargas de caligus, entre el año 2011 y 2012.
- Existe una focalización de zonas con mayores cargas de caligus y una asociación positiva con el aumento de biomasa cultivada durante el año 2012.
- Se observa una disminución de las cargas de caligus desde la publicación del nuevo PSEVC-Caligidosis y específicamente en aquellas zonas donde se han realizado campañas sanitarias por parte del Servicio.
- En relación a la mortalidad, el análisis por región señala a Aysén como aquella que ha presentado los mayores aumentos en los meses del primer semestre en comparación al año anterior y la trucha arcoíris es la especie que ha presentado las mayores alzas de las tres especies más cultivadas. La causa infecciosa mayormente asociada a estas mortalidades en las tres especies de salmónidos es Piscirickettsiosis, enfermedad que destaca, además, con el mayor porcentaje de diagnósticos de laboratorio en centros marinos.
- Lecciones aprendidas**
 - La crisis de ISA se constituyó en una oportunidad para emerger más fuerte como Servicio y país.
 - Debemos estar preparados para nuevas emergencias siempre pensando en el peor escenario.
 - Las decisiones sanitarias deben basarse en ciencia.
 - La comunicación estratégica es clave en el control sanitario.
 - El trabajo con las partes interesadas de la industria es fundamental en el éxito para prevenir y controlar enfermedades.
 - La salmonicultura debe abordarse en forma holística y con una visión periférica (enfoque cadena de valor).
 - La gestión sanitaria debe apoyarse necesariamente con una adecuada regulación.

¿Qué sigue entonces?

Continuar con la implementación del nuevo modelo de gestión sanitaria (validación con nuevos escenarios); consolidación y fortalecimiento de la institucionalidad; potenciar la investigación y desarrollo aplicado a las prioridades sanitarias. No somos los mismos del 2007, tenemos una institucionalidad ad hoc, una reglamentación robusta, un trabajo público-privado avanzado y un modelo de gestión sanitaria que se validará continuamente...

PODEMOS HABLAR CON CONFIANZA DE INNOVACIÓN



Línea Acuícola PRODUCTOS BIOLÓGICOS



www.centrovet.com

Eficacia en Vacunas Contra Caligidosis: UNA APROXIMACIÓN ESTADÍSTICA



La caligidosis producida por el copépodo *Caligus rogercresseyi* es un problema persistente en la industria acuícola que a la fecha no tiene una solución concreta y eficaz. Los problemas derivados de esta patología recaen principalmente en la calidad del producto final, por consecuencia del retraso en el crecimiento de los peces parasitados, por el aumento del estrés y en la susceptibilidad de éstos a ser atacados por otros patógenos oportunistas.

Una alternativa a los tratamientos con antiparasitarios (piretroides, avermectinas e inhibidores de la síntesis de quitina), racional y con buenas proyecciones, es el uso de vacunas. Estos productos presentan numerosas ventajas frente a sus contrapartes químicas, debido a su inocuidad, su especificidad, su bajo impacto ambiental, su carácter preventivo y su posibilidad de ser actualizadas rápidamente en casos de resistencia, la cual es mínima. El uso de vacunas inyectables en las etapas de agua dulce y orales en la etapas de engorda permite también disminuir el manejo y bajar los costos de producción, y adelantar los tiempos de cosecha, dado el mejor rendimiento de los peces en cultivo.

A pesar de las numerosas bondades que las vacunas tienen ¿Por qué razón aún no existe un número considerable de vacunas contra ectoparásitos en el mercado en comparación con el número de vacunas existentes contra bacterias y virus? Esta pregunta se puede responder enfocándose en el mecanismo de acción de las vacunas y en el de los patógenos. Los ectoparásitos tienen poca o nula interacción con el sistema inmune del hospedero y por ende una reinfestación es bastante común, ya que en la mayoría de los casos, no se genera una memoria inmunológica protectora para infestaciones posteriores. Sin embargo, es posible sobrellevar este problema desplegando el concepto de antígenos ocultos (*concealed antigens*, en inglés) y antígenos expuestos (*exposed antigens*). Los primeros hacen referencia a proteínas que nunca son detectadas por el sistema inmune del hospedero, pero sí son accesibles a la acción de los anticuerpos. En los ectoparásitos que se alimentan de sangre, estos antígenos son generalmente proteínas ubicadas en el lumen del intestino, que están en contacto con la sangre y por ende, con los anticuerpos que están presentes en ella. La unión de los anticuerpos a estas proteínas puede generar una disminución de su función y dependiendo de ésta, puede provocar una disminución en la capacidad de permanecer parasitando al hospedero. Los antígenos expuestos se refieren a proteínas secretadas, que tienen una participación

importante durante la infestación, defensa y alimentación durante el ciclo de vida del parásito y que podrían ser reconocidos por el sistema inmune del hospedero, aunque se ha observado que por sí solos no generan una protección importante. Ambos conceptos nos permiten construir una estrategia para buscar y seleccionar antígenos candidatos para la vacuna a desarrollar. Sin embargo, es importante además tener un conocimiento acabado del mecanismo de infestación del parásito y también de su expresión genética durante su ciclo de vida. Estas razones explican la dificultad de desarrollar una vacuna contra los ectoparásitos y la respuesta de la poca abundancia de vacunas de este tipo.

Vacuna contra el Cáligus y estudios de eficacia

Virbac-Centrovét ha invertido cuantiosos recursos para desarrollar una vacuna contra *C. rogercresseyi* utilizando el conocimiento que se tiene actualmente de su mecanismo de infestación y de las proteínas que participan en este proceso. Con esto, nuestro equipo ha logrado desarrollar un producto que puede generar una disminución de carga parasitaria del alrededor de un 40 % respecto a peces controles en condiciones de infestación equivalentes. Este es un resultado promisorio y comparable con otros productos similares (Vacuna Gavac®), que sin embargo, puede tener otras aristas importantes que hay que considerar en el campo de los ectoparásitos.

La baja en la carga parasitaria indicada también está asociada a una probabilidad de ocurrencia, esto es relevante debido a la alta variabilidad que tienen naturalmente los peces y al acotado número de éstos que se utiliza en los monitoreos de carga en los centros de cultivo. Para denotar esto de mejor manera utilizaremos como ejemplo los peces control (sin vacuna) de un estudio de eficacia típico, cuando son sometidos a un desafío con cáligus. La dispersión natural que se ha encontrado es bastante alta, con peces que presentan carga de 8 cáligus/pez hasta 150 cáligus/pez bajo las mismas condiciones, entregando un promedio de 50 parásitos por pez. Esto nos hace creer que existe una probabilidad de infección asociada al parásito y una probabilidad de rechazo a la infección asociada al pez, que en su conjunto puede explicar y permitir modelar los resultados obtenidos en los ensayos. La vacuna en este sentido aumentaría la probabilidad de rechazo de la infección parasitaria en los peces, pero el resultado estaría influenciado de las condiciones de cada pez o dicho de otra manera, de la distancia de este respecto al promedio de la población analizada. Si el aumento de la probabilidad promedio del rechazo de la infestación es

significativo respecto a los controles, el rango de variabilidad en el resultado final se acorta, ya que disminuyen el número de opciones de infestación y por otro lado la inmuno-estimulación de los peces vacunados homogenizaría en parte la respuesta de la población frente a la infestación. Para evaluar esta conjetura, hemos realizado un análisis de re-muestreo o *bootstrapping* de los resultados de dos formulaciones de vacunas de eficacia conocida, como se muestra en la figura 1, para estimar la varianza de las poblaciones analizadas y su intervalo de confianza. Para realizar este método utilizamos los resultados crudos de un ensayo de desafío como la representación de la distribución natural de una población más grande. A ésta se le simuló 10 mil muestreos aleatorios de 30 peces calculando el promedio de carga en cada uno. Una vez con los 10 mil resultados se realizó un histograma de los promedios de cada muestreo y se calculó el promedio global y la varianza. Cabe destacar que el promedio global calculado se aproxima con un decimal al valor promedio del muestreo original.

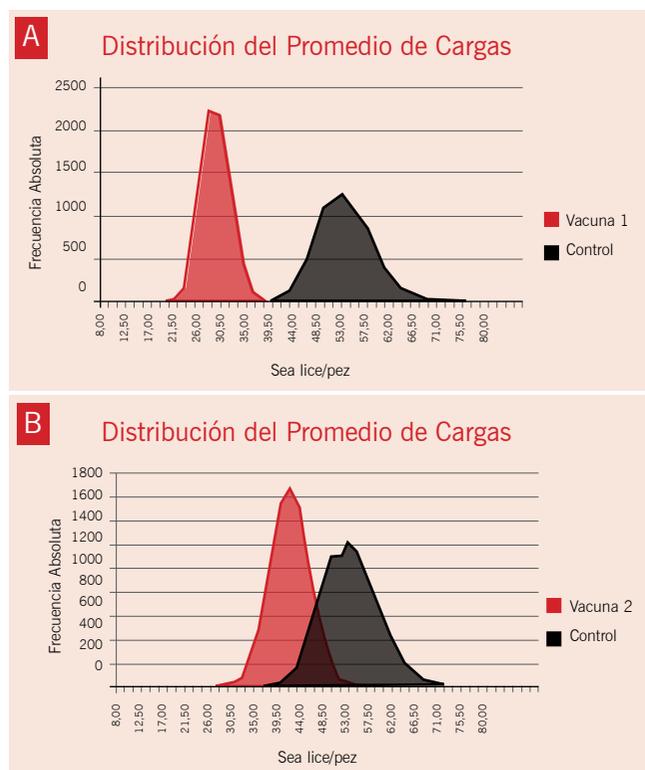


Figura 1: Resultado del análisis de bootstrapping con 10000 re-muestreos. **A:** Vacuna 1 con un 43 % de reducción de carga con promedio de 27,8 cáligus/pez y varianza 6,7; Control con promedio 49,8 cáligus/pez y varianza 25,7 (intervalo de confianza 99,8 %). **B:** Vacuna 2 con 22 % de reducción de carga con promedio 38,6 cáligus/pez y varianza 13,1; Control 49,9 cáligus/pez y varianza 25,9 (intervalo de confianza 75 %).

Con este análisis podemos inferir que la variabilidad del resultado se ve afectada por la eficacia de la vacuna al aumentar la probabilidad de rechazo de la infestación de los peces, sin importar la variabilidad natural de los peces. Aunque es natural pensar que los peces utilizados en el ensayo son distintos y por ende su variabilidad es distinta y quizás no comparable. Para eliminar este problema, modelamos un proceso de infestación

reduciéndolo a solo tres variables, de valores que van desde 0 a 1: La primera es la probabilidad de infestación de una población de copepoditos (PC), la segunda es la probabilidad de rechazo de la infestación promedio de una población de peces (PP) y finalmente la tercera es la variabilidad de estos peces en la población analizada (VP). Se modelaron 150 infestaciones de cáligus por pez con un total de 10 mil peces, modificando las variables anteriormente mencionadas, de tal manera de ajustar los resultados de este modelo (promedio y varianza) con los obtenidos con las pruebas experimentales. Los resultados se observan en la figura 2.

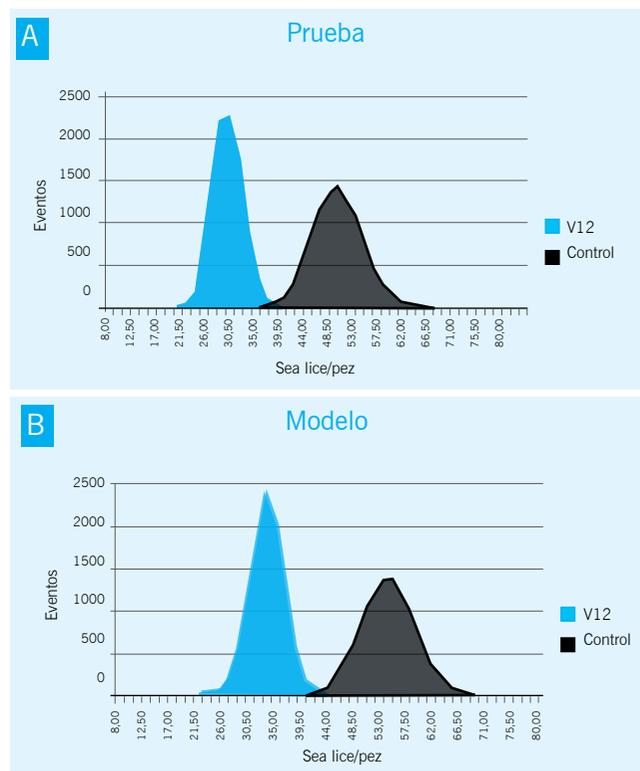


Figura 2: Resultado del modelo de infección. **A:** Resultado de un ensayo de desafío en acuario, Vacuna V12 con promedio de 29,22 cáligus/pez y varianza 7,1; Control con promedio 47,3 cáligus/pez y varianza 26,7. **B:** Resultado del modelo propuesto, Vacuna V12 con 30,24 cáligus/pez y varianza 7,6; Control 48,0 cáligus/pez y varianza 25,8. Los valores de las variables en el modelo fueron: Vacunados V12: PC = 0,6; PP = 0,693; VP = 0,87. Controles PC = 0,6; PP = 0,49; VP = 0,87.

Los resultados muestran que para imitar los resultados experimentales de los peces controles en el modelo, tuvieron que tener valores de PC = 0,6; PP = 0,49 y VP = 0,87. Lo que destaca la alta variabilidad de los peces. Sin embargo, al ver los resultados de los peces vacunados en el modelo, PC = 0,6; PP = 0,693; VP = 0,87, se observa que lo único que cambió fue la probabilidad de rechazo a la infestación, manteniendo la variabilidad natural de los peces. Por un lado, esto asegura en parte, la correcta realización de la prueba experimental, ya que al tener la misma variabilidad tanto vacunados como controles, son comparables entre sí. Y además demuestra por otro lado, que la disminución de la varianza de la carga parasitaria por pez del grupo vacunado se debe principalmente al aumento de

la probabilidad de rechazo a la infestación, no solo disminuyendo la carga promedio, respecto al control, sino que homogenizando la carga de la población vacunada. Los valores de PC se mantuvieron iguales en ambos grupos, debido a que el desafío en la prueba experimental fue único y en el mismo estanque para peces vacunados y controles.

Adicionalmente, existe una incertidumbre asociada al muestreo que puede reflejar una realidad completamente distinta a la que ocurre a nivel global. Por esta razón, determinar la eficiencia de una vacuna de este tipo, solamente por la reducción promedio de carga parasitaria, puede llevar a errores en su evaluación en terreno. Para solucionar este tipo de problemática, se utilizaron los datos obtenidos por el análisis de *bootstrapping* y se calculó la probabilidad de reducción de carga en diferentes niveles de tres vacunas con promedios de reducción similares, esto se muestra en la figura 3.

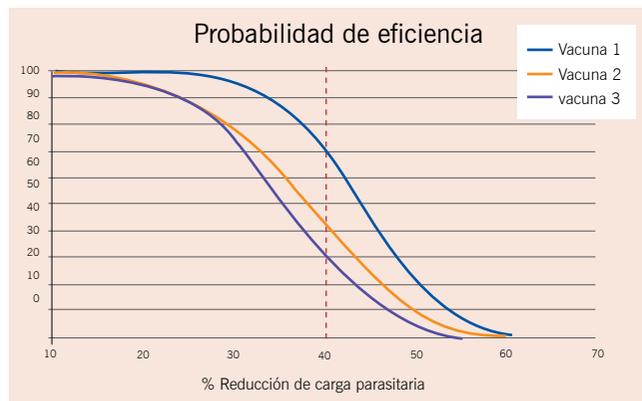


Figura 3: Probabilidad de reducción de carga de distintas formulaciones de vacunas contra calígus. **Vacuna 1** tuvo un 43% de reducción de carga, la **vacuna 2** un 39% de reducción de carga y la **vacuna 3** un 36% de reducción de carga. Sin embargo, la probabilidad de tener una reducción de al menos un 40 % (línea punteada) para la **vacuna 1** fue de 70%, para la **vacuna 2** fue de un 42% y para la **vacuna 3** de un 32%.

El análisis realizado indica la importancia no sólo de la reducción de la carga, sino también de la homogeneidad de la respuesta en el grupo vacunado. Esto permite asegurar una respuesta notoria en los muestreos realizados en terreno. También podemos observarlo más dramáticamente si evaluamos la vacuna 1 usando como criterio una reducción de carga de al menos un 30%; en este caso la probabilidad sube a un 95% (ver figura 3), asegurando una disminución homogénea y significativa en los muestreos.

En conclusión, una vacuna con estas características no puede evaluarse de la misma manera que las desarrolladas para patógenos virales o bacterianos y necesita tener criterios distintos de seguimiento y de eficacia para poder asegurar su correcto funcionamiento en terreno. Una disminución de un 40 % de las cargas parasitarias generaría una baja significativa en el uso de antiparasitarios evitando el desarrollo de resistencia en los parásitos y una baja también significativa en impacto ambiental

Bibliografía

- Johnson, S. C., Treasurer, J. W., Bravo, S., Nagasawa, K., Kabata, Z. (2004). A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zool Stud* 43, 229-243.
- González, L., Carvajal, J. (2003). Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids. *Aquaculture* 220, 101-117.
- Jones, S. R. M. (2001). The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Dev Comp Immunol* 25, 841-852.
- Fast, M. D., Burka, J. F., Johnson, S. C., Ross, N. W. (2003). Enzymes released from *Lepeophtheirus salmonis* in response to mucus from different salmonids. *J Parasitol* 89, 7-13.
- Fast, M. D., Johnson, S. C., Eddy, T. D., Pinto, D., Ross, N. W. (2007). *Lepeophtheirus salmonis* secretory/excretory products and their effects on atlantic salmon immune gene regulation. *Parasite Immunol* 29, 179-189.
- Fast, M. D., Ross, N. W., Craft, C. A., Locke, S. J., MacKinnon, S. L., Johnson, S. C. (2004). *Lepeophtheirus salmonis*: characterization of prostaglandin E2 in secretory products of the salmon louse by RP-HPLC and mass spectrometry. *Exper Parasitol* 107, 5-13.
- Costello, M. J. (2006). Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *TRENDS Parasitol* 22, 475-483.
- Bustos-Obregon, E., Vargas, A. (2010). Chronic toxicity bioassay with populations of the crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. *Biol Res* 43, 357-362.
- Medina, M., Barata, C., Telfer, T., Baird, D. J. (2004). Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms. *Ecotoxicol Environ Saf* 58, 236-245.
- Olsvik, P. A., Lie, K. K., Mykkeltvedt, E., Samuelsen, O. B., Petersen, K., Stavrum, A., Lunestad, B. T. (2008). Pharmacokinetics and transcriptional effects of the anti-salmon lice drug emamectin benzoate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *BMC Pharmacol* 8, 16-29.
- Bayoumi, A. E., Balaña-Fouce, R., Sobeiha, A. K., Hussein, E. M. K. (1998). The biological activity of some chitin synthesis inhibitors against the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval), (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol San Veg Plagas* 24, 499-506.
- Hahn, S., Schneider, K., Gartiser, S., Heger, W., Mangelsdorf, I. (2010). Consumer exposure to biocides-identification of relevant sources and evaluation of possible health effects. *Environ Health* 9, 7-17.
- Lees, F., Baillie, M., Gettinby, G., Revie, C. W. (2008). The efficacy of emamectin benzoate against infestations of *Lepeophtheirus salmonis* on farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L) in Scotland, 2002-2006. *PLoS ONE* 3, 1549-1560.
- Jones, S. R. M. (2009). Controlling salmon lice on farmed salmon and implications for wild salmon. *Perspectives in Agriculture, veterinary Science, Nutr Nat Resour* 4, 1-13.
- Raynard, R., Bricknell, I., Billingsley, P., Nisbet, A., Vigneau, A., Sommerville, C. (2002). Development of vaccines against sea lice. *Pest Manag Sci* 58, 569-575.
- Casu, R., Eisemann, C., Pearson, R., Riding, G., East, I., Donaldson, A., Cadogan, L., Tellam, R. (1997). Antibody-mediated inhibition of the growth of larvae from an insect causing cutaneous myiasis in a mammalian host. *Proc Natl Acad Sci* 94, 8939-8944.



Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda.

Higiene

Soluciones tecnológicas de vanguardia

Aquaculture Lab SCL-08

Obtenga resultados precisos que reflejen las condiciones reales de la calidad del agua. Procedimientos simplificados utilizados para cada prueba. Pruebas de valoración realizadas con el **Titulador de Lectura Directa de LaMotte**, proporciona resultados directamente en ppm.



ATP - Higiene SystemSURE Plus[®] Luminómetro de tres pasos.

- 250 puntos programables por plan.
- 20 planes de prueba programables.
- Id. alfanumérica de las ubicaciones.
- Almacena 2.000 resultados.
- ID de usuario programable.
- Auto-calibración en el encendido.
- Detecta hasta 1 femtomol.

SureTrend 100% amigable:

- SureTrend descarga los resultados a un PC.
- Genera gráficos de análisis en colores (semáforo), visualiza tendencias y genera reportes.
- La información se puede exportar a Excel.
- Identifique las áreas problemáticas, tome medidas correctivas en tiempo real.
- Realice los seguimientos de los HACCP y SSOP.

Controle las variables que harán que su plan sea eficiente.



Control de Higiene ATP, Proteínas y Microbiológico

Tómulas Universales para equipos Higiene y de otras marcas.

Snapshot[®] es compatible 100% con equipos 3M y Lightning



Cintas para Control de Sanitizantes



SINGLE FACTOR TEST STRIPS

TEST FACTOR	RANGE (ppm)	# OF TESTS PER FACTOR (SEE KIT)	VALUES (ppm)
CHLORINE DIOXIDE	0-10	50	0, 0.25, 0.5, 1, 3, 10
CHLORINE DIOXIDE	0-500	50	0, 10, 25, 50, 100, 250, 500
CHLORINE FREE, LOW RANGE	0-10	25	0, 0.25, 0.5, 1, 3, 5, 10
CHLORINE TOTAL, LOW RANGE	0-10	25	0, 0.25, 0.5, 1, 3, 10
CHLORINE FREE, HIGH RANGE*	0-800	50	0, 50, 100, 250, 500, 800
CHLORINE TOTAL	0-5	50	0, 0.5, 1, 3, 5
HARDNESS, LOW RANGE	0-180	50	0, 30, 60, 120, 180
IODINE			
ppH, WIDE RANGE	4-10 (ppH)	50	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
PERACETIC ACID, LOW RANGE	0-50	50	0, 5, 10, 20, 30, 50
PERACETIC ACID	0-150	50	0, 10, 20, 40, 60, 85, 160
PERACETIC ACID, HIGH RANGE	0-1,000	50	0, 50, 100, 250, 500, 1000
ODAC			
HYDROGEN PEROXIDE	0-50	25	0, 1, 3, 10, 30, 50
HYDROGEN PEROXIDE HI	0-90	25	0, 15, 30, 50, 90

Representante exclusivo:

Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda. E-mail: rilab@adsl.tie.cl - Fono/Fax: (56-2) 2688 2010

PARA
PROYECTOS ACUÍCOLAS

Confianza EN Aislación

Nueva línea de PANELES AISLADOS
ideales para proyectos de cámaras
frigoríficas.



Villalba Aceros, presenta su **nuevo y completo mix de paneles de acero aislados en Poliuretano PUR y PIR, Lana de Roca y Poliestireno Expandido**, de la más alta calidad, que permiten entregar completas soluciones para cielos, cubiertas y revestimientos de todo tipo de proyectos industriales.

De manera integral **Villalba Aceros** ofrece el servicio especializado de montaje de nuestros paneles, aportando soluciones de arquitectura e ingeniería para áreas limpias y procesos con un alto nivel de exigencia sanitaria.

DESDE 1949

VILLALBA[®]
ACEROS



ISO 9001:2008
Certificate Number: 43635

65 Años

Confianza en aceros



Panel FireProof
Núcleo LANA DE ROCA

Panel ThermoFire
Núcleo PIR

Panel ThermoProof
Núcleo PUR

Panel FrigoProof
Núcleo POL

- Completo mix de paneles aislados
- Paneles fabricados en línea continua
- Amplia variedad de colores de chapas de acero
- Desbaste del panel para traslape longitudinal
- Proceso de curado en línea, evitando deformaciones posteriores
- Machiembado lateral del núcleo



Óptima Aislación
Térmica



Alta Resistencia
al Fuego



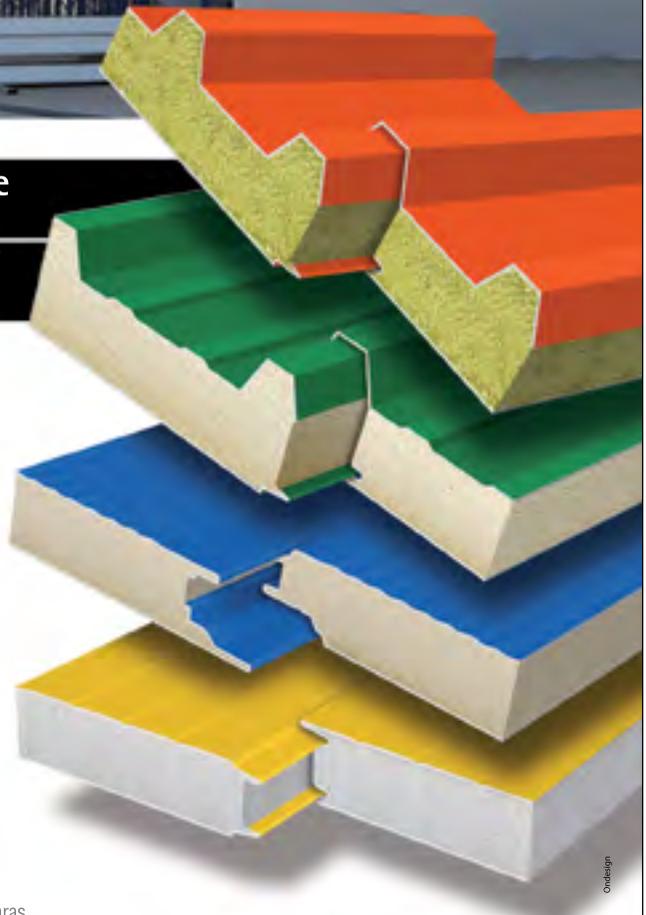
Alta Resistencia
Mecánica



Alta
Durabilidad



- > Calce Z en acero que permite mejorar las condiciones de barrera de vapor.
- > Sellos y calce machiembado en la aislación que interrumpe el flujo de aire entre las dos caras del panel, mejorando la aislación.



negocioscorporativos@villalba.cl www.villalba.cl

Avda. Vista Hermosa 9510, Tel.: (56 2) 24122600, Fax: (56 2) 24122645, Cerrillos, Santiago - Chile

RESPUESTA INMUNE INNATA EN *Salmo salar*.

Rol de los receptores tipo toll en el reconocimiento de los patógenos



¹Salazar C., ¹Hausmann D., ^{1,2}Isla A., ¹Kausel G., ^{2,3}Romero A. y ^{1,2}Figueroa J.

¹Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias Universidad Austral de Chile.

²Centro FONDAF: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR). Proyecto N°15110027

³Instituto de Patología Animal, Facultad de C. Veterinarias, Universidad Austral de Chile.



RESUMEN

El Sistema Inmune Innato es la primera barrera de defensa de los organismos frente a los patógenos, en este sistema, los patógenos son reconocidos por diversos receptores, entre los principales están los Receptores tipo Toll, TLR. Los TLRs reconocen Patrones Moleculares Asociados a Patógenos, PAMPs. Cada TLR es capaz de reconocer uno o varios PAMPs de diversos patógenos, como virus o bacterias, y desencadenar una Respuesta Inmune Innata contra ellos, además de activar y dirigir una Respuesta Inmune Adaptativa contra los patógenos en el organismo hospedero. En peces teleosteos se han descrito algunos TLRs y además se han descubierto TLRs específicos de peces.

P. salmonis es uno de los patógenos que causa fuerte mortalidad en las especies salmónideas cultivadas en Chile. El mecanismo de reconocimiento de las células blanco, de invasividad y los tipos de respuesta generada, son hasta ahora desconocidos. Se estudiaron algunos de los TLR en el tiempo, involucrados en la respuesta inmune de salmón ante la infección de *P. salmonis* viva, *P. salmonis* inactivada y LPS, usando la línea celular SHK-1 como modelo. Para ello se clonaron parcialmente los receptores TLR1, TLR22, TLR5 de membrana y TLR5 soluble, y se analizaron sus cinéticas de expresión mediante RT-qPCR ante las distintas infecciones. Con los resultados obtenidos se puede concluir que *Salmo salar* expresa los receptores TLR1, TLR22, TLR5 de membrana y TLR5 soluble. Los que modulan su expresión dependiendo de la forma de exposición de *P. salmonis*. Además TLR1 y TLR22 logran estimular su expresión frente al patógeno indicando que reconocen algún PAMPs.

INTRODUCCION

El sistema inmune lo poseen todos los vertebrados, incluidos los peces teleosteos, para defenderse de los diversos patógenos a los que se ven enfrentados diariamente. A través de la evolución se han desarrollado mecanismos para identificar estos agentes patógenos, diferenciándolos de los componentes propios del organismo, y así poder eliminarlos (Collado *et al.*, 2008). La defensa por el sistema inmune se basa en dos respuestas: La Respuesta Inmune Innata y la Respuesta Inmune Adquirida. Debido a que la inmunidad adquirida no ocurre inmediatamente en respuesta a un antígeno o patógeno nuevo, este retardo en la respuesta podría tener un efecto devastador en el hospedero, las respuestas innata y adquirida

Tabla 1: TLRs en peces teleosteos: especies que los poseen y ligandos descritos.

TLR	Ligando	Especies de peces
TLR1	Triacil-lipopéptidos	T. rubripes; D. rerio; T. negroviridis*2;
TLR2	Lipopéptidos; Lipo-proteínas; Pam3CSk4	T. rubripes; D. rerio; C. carpio; T. negroviridis; P. olivaceus; I. punctatus;
TLR3	dsRNA; polyI:C; componentes bacterianos	T. rubripes; D. rerio; C. carpio; T. negroviridis; O. mykiss; P. olivaceus; I. punctatus; G. rarus;
TLR4a/b	NC	D. rerio*1,*2; G. rarus
TLR5m	Flagelina	T. rubripes; D. rerio*2; T. negroviridis; O. mykiss; I. punctatus
TLR5s	Flagelina	T. rubripes; O. mykiss; S. salar; I. punctatus;
TLR7	ssRNA	T. rubripes; D. rerio; C. carpio; O. mykiss;
TLR8	ssRNA	T. rubripes; D. rerio*2; O. mykiss*2; T. negroviridis; S. salar;
TLR9	CpG DNA no metilado	T. rubripes; D. rerio; T. negroviridis; S. salar; O. mykiss; P. olivaceus; S. aurata*2; P. crocea*2
TLR13	NC	S. salar;
TLR14	NC	T. rubripes; D. rerio
TLR19	NC	D. rerio*2;
TLR20	NC	D. rerio*2; I. punctatus;
TLR21	CpG DNA no metilado	T. rubripes; D. rerio; T. negroviridis; I. punctatus;
TLR22	dsRNA; poly I:C	T. rubripes; D. rerio; T. negroviridis; S. salar*2; O. mykiss*2; C. aurata*2
TLR23	NC	T. rubripes; T. negroviridis;

NC: No se conoce; *1: TLR4 no está envuelto en el reconocimiento de LPS; *2: Se observa duplicación génica. Basado en Rebl *et al.*, 2010; Palti, 2011; Takano *et al.*, 2010; Boltaña *et al.*, 2011.

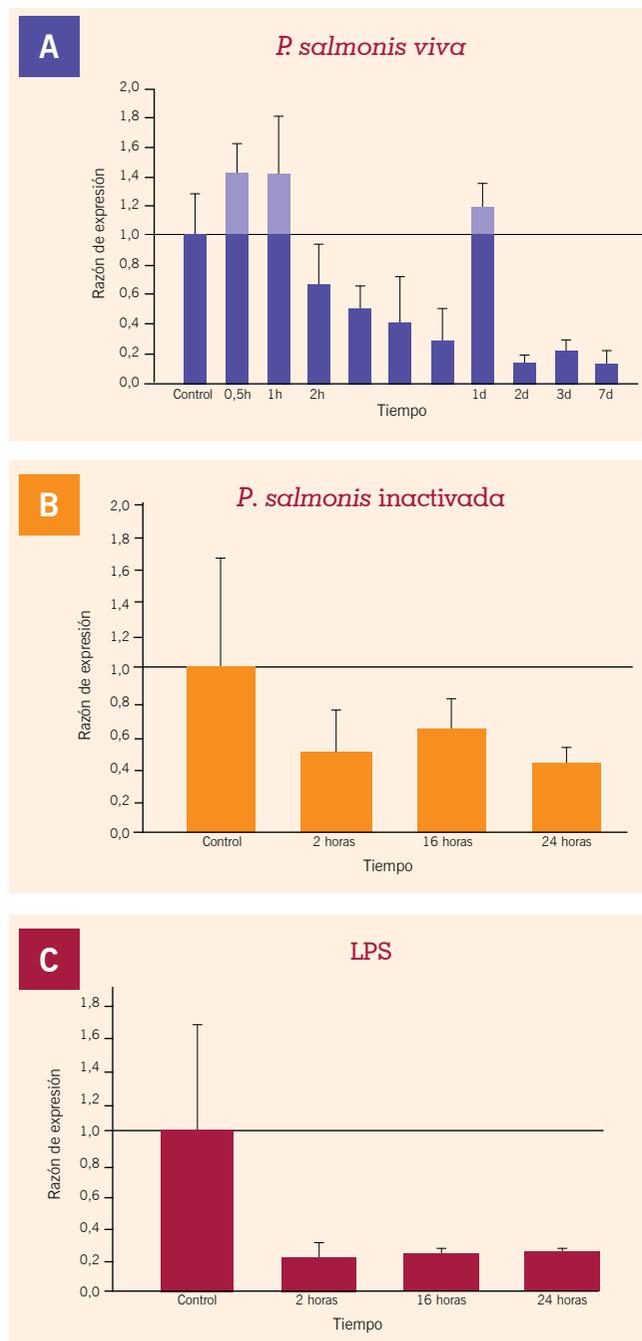


Figura 1: Cinéticas de expresión del receptor TLR5m. Control: tiempo 0 para cada cinética; h: hora; d: día. Línea negra representación de la expresión del control en cada cinética. Cambio de color en cada cinética corresponde a un aumento con respecto al control. Los otros TLR analizados muestran similares resultados a los mostrados.

están coordinadas, de tal forma que la respuesta inmunitaria innata representa el proceso inicial e instructor en la defensa del hospedero en mamíferos. En peces teleósteos, al ser organismos poiquiloterms, cuando se encuentran a temperaturas muy bajas no son capaces de activar adecuadamente algunas funciones inmunitarias adaptativas, como la producción de anticuerpos y una lenta proliferación de linfocitos (Rubio, 2010). En cambio la respuesta inmune innata es relativamente independiente de la temperatura (Magnadóttir, 2006).

El riñón anterior posee similitudes morfológicas con la médula ósea de vertebrados superiores, ya que también sirve como un órgano linfóide secundario y se ha visto que está implicado en el “aclaramiento” de antígenos que están en circulación, además de ser el principal sitio de producción de anticuerpos. El bazo ha sido implicado en el aclaramiento de antígenos y complejos inmunes de la circulación sanguínea, también tiene un papel en la presentación de antígenos y el inicio de la respuesta inmune innata. Por su parte, el timo puede ser considerado como agregación de macrófagos que procesan la proliferación de células T (Alvarez-Pellifero, 2008). El riñón anterior y el bazo son reconocidos como órganos linfoides secundarios (análogos a los ganglios linfáticos de los mamíferos), órganos donde se localizan poblaciones de macrófagos y linfocitos capaces de iniciar una respuesta innata (Rubio, 2010).

La respuesta inmune innata, mediada por sus células, tiene la importante decisión de responder o no frente a un microorganismo en particular, esta decisión está a cargo de los Receptores de Reconocimiento de Patrones, RRP (Akira *et al.*, 2006; Janeway *et al.*, 2002), los que tienen a su cargo el reconocimiento de un gran número de posibles patógenos (Aderem *et al.*, 2000). Estos RRP reconocen Patrones Moleculares Asociados a Patógenos, PAMPs y también Patrones Moleculares asociados a Daño, DAMPs, que son estructuras endógenas liberadas de tejidos dañados (Randon *et al.*, 2009). Todos los RRP poseen 3 características comunes: 1) Reconocen PAMPs; 2) Son expresados constitutivamente por el hospedero y pueden detectar al patógeno independiente del ciclo de vida en el que se encuentre; 3) Son codificados en el genoma, no clonales, expresados en todas las células de un tipo celular, independientes de memoria inmunológica y dan lugar a distintas respuestas contra patógenos (Akira *et al.*, 2006).

Los PAMPs se caracterizan por ser: i) Estructuras moleculares que sólo están presentes en patógenos microbianos, no se encuentran en el organismo hospedero. Esta propiedad permite discriminar entre lo propio y lo no propio; ii) Estructuras moleculares que son esenciales para la supervivencia de los patógenos. iii) Son estructuras compartidas por un gran número de patógenos, lo que permite que un número limitado de receptores pueda reconocer una gran variedad de patógenos. Esta información permite identificar el tipo de patógeno que está invadiendo y permite evaluar el tipo de respuesta (Medzmitov *et al.*, 2000).

Los RRP se pueden encontrar en la membrana celular, en compartimentos dentro de la célula (Medzmitov *et al.*, 2000) o pueden ser secretados al torrente sanguíneo y fluidos de tejidos (Janeway *et al.*, 2002). Sus funciones son: i) opsonización de la bacteria o virus, por fagocitocitosis o activación del complemento, además de producción de mediadores de inflamación, con el fin de impedir la diseminación del patógeno antes de que se desarrolle la inmunidad adquirida (Moreno *et al.*, 2003); ii) captación de agentes patógenos por los fagocitos y células dendríticas; iii) activación de las vías de señalización

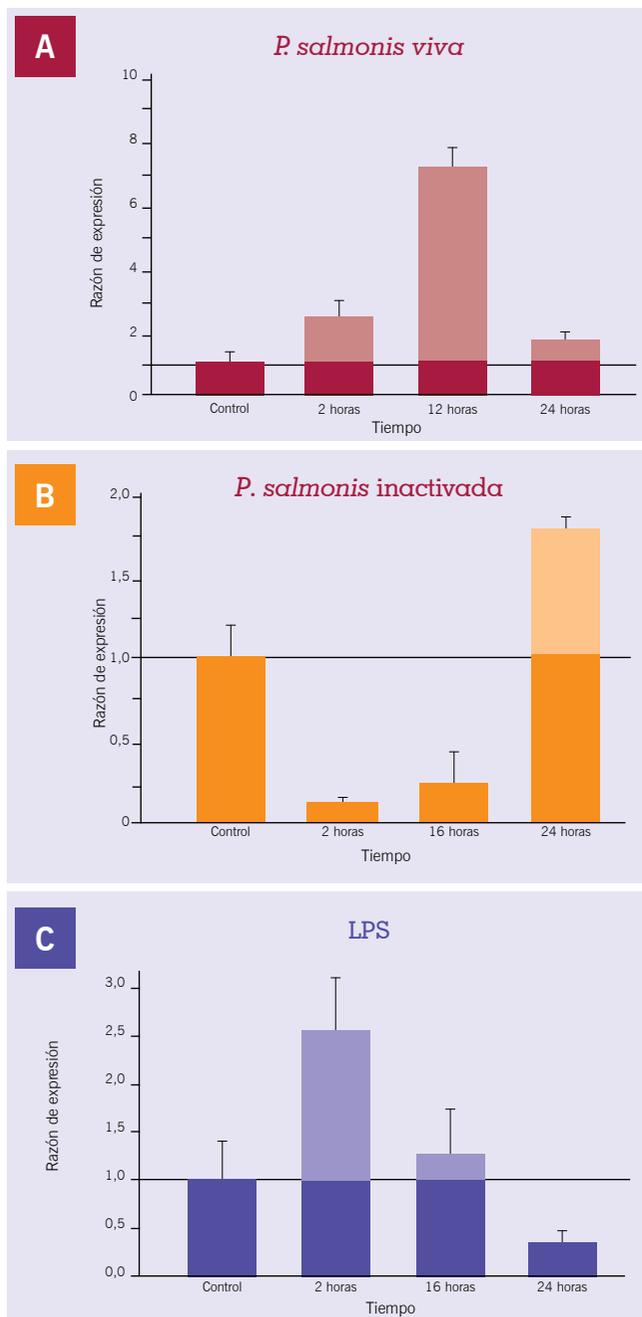


Figura 2: Cinéticas de expresión del efector IL-1 β . Control: tiempo 0 para cada cinética; h: hora; d: día. Línea negra representación de la expresión del control en cada cinética. Cambio de color en cada cinética corresponde a un aumento con respecto al control.

que dan lugar a la inducción de genes de respuesta inmune, tales como los péptidos antimicrobianos y las citoquinas inflamatorias (Medzmitov *et al.*, 2000; Akira *et al.*, 2006).

La fagocitosis, junto con el producto de los genes activados por los TLR, instruye el desarrollo de la inmunidad adaptativa, relacionando así a los TLRs con esta última. La activación de los TLRs en las células presentadoras de antígenos, como macrófagos y células dendríticas, induce la producción de citoquinas y la expresión de moléculas co-estimuladoras de superficie, ayudando en la elaboración de la respuesta inmune adaptativa.

TLR en peces teleósteos

Se han descubierto 17 TLR en peces teleósteos, estos pueden diferir entre especies de peces, los cuales son: TLR1, 2, 3, 4, 5m, 5s, 7, 8, 9, 13, 14, 18, 19, 20, 21, 22, 23, perdiéndose TLR6 y 10 con respecto a los humanos. La estructura es altamente conservada entre mamíferos y peces lo que sugiere la capacidad de reconocer PAMPs similares a los reconocidos por TLR de mamíferos (Takano *et al.*, 2010).

Además la conservación estructural de los TLR sugiere que la regulación de la respuesta inmune es similar en peces y mamíferos (Rebl *et al.*, 2010). En la tabla 1 se encuentra un resumen de los TLR que se encuentran en peces y los PAMPs que reconocen. En el salmón del Atlántico, se han sido descubiertos hasta el momento: TLR8, 9, 13, 22a, 22b y 5 soluble (Boltaña *et al.*, 2011).

RESULTADOS

Cinéticas de expresión evaluada por RT-qPCR

Para evaluar la expresión de los receptores TLR5M, TLR5S, TLR22 y TLR1 frente a la infección por *P. salmonis* se realizó una cinética a distintos tiempos (0,5, 1, 2, 4, 8, 12 h, 1, 2, 3 y 7 días) y se analizó la expresión de ellos por RT-PCR tiempo en real. También se realizaron otras cinéticas de expresión, a los tiempos 2, 16 h y 1 día, infectando las células con: 1.- *P. salmonis* inactivada con formaldehído; 2.- LPS. De esta manera se pudo evaluar la expresión de los distintos genes en estudio frente a los mismos patrones moleculares expuestos de distintas maneras. Como normalizador para los ensayos de cinética en RT-qPCR se analizó β -actina y EF-1a.

La investigación de las formas de TLR en peces puede abrir puertas y estrategias terapéuticas para la profilaxis animal. Adicionalmente, el entendimiento de la función de los TLR en peces y sus especificidades de patógenos puede guiar al desarrollo de mejores inmunoestimulantes para el uso en acuicultura comercial, así como agonistas para el control y prevención de enfermedades (Randon *et al.*, 2010).

Evaluación de Cinéticas por desafíos de infección Infección causada por *P. salmonis* viva:

En general se observa una modulación de la expresión de los distintos marcadores estudiados. Lo que podría concluir que *P. salmonis* posee la capacidad de modular la expresión de los TLR en su beneficio, lo que se apoya con el hecho de que esta bacteria puede vivir y replicarse intracelularmente, por lo tanto podría evadir la respuesta inmune contra ella. En particular es llamativo el hecho de que de TLR5m y TLR5s no exista una gran expresión de ellos en esta cinética, aunque era esperable por aparentemente poseer flagelina en su membrana, y ante la infección con *P. salmonis*, causaría una gran activación de ellos, en particular de TLR5. La modulación de la expresión diferencial de los TLR estudiados se apoya con el hecho de que las células del sistema inmune usan múltiples TLR para detectar varias características de un patógeno simultáneamente, productos microbiales pueden también inducir otros TLR (Randon *et al.*, 2010).

Infección causada por *P. salmonis* inactivada:

En general en todos los marcadores estudiados, su expresión disminuyó o fue nula, con respecto al control. Lo que concluye que esta forma de inactivación no es buena para generar respuesta inmune, al menos vía TLR. Podría explicarse porque la bacteria queda fija y oculta los ligandos (PAMPs) y no pueden interactuar con sus TLR y de esta manera no habría activación de respuesta inmune contra ella.

Infección causada por LPS:

En general en la mayoría de los genes evaluados, menos IL-1 β , se ve una disminución de expresión en comparación con el control. En cambio para IL-1 β se ve un aumento durante las primeras horas de infección. Esto concluye que ninguno de los TLR evaluados presenta como ligando a LPS, pero que sí existiría algún otro RRP que lo reconozca y que ejercería una respuesta inmune contra él (Rebl *et al.*, 2010).

Es importante recordar que este estudio se realizó en cultivo celular, por lo tanto las interacciones entre distintos tipos celulares y compuestos humorales no son posibles. Por lo que es necesario el estudio en cultivo primario y luego en el organismo (in vivo) para comprobar que el comportamiento de los TLR concuerda

con el estudio realizado in vitro. Además se podrían agregar mayores factores inductores o ligandos para poder comprender el comportamiento del sistema inmune más global frente a la infección con *P. salmonis*.

Basándose en los resultados obtenidos, podemos concluir que:

- Existe RNA mensajero para los receptores tipo Toll, TLR1, TLR2, TLR5 de membrana y TLR5 soluble en salmón del Atlántico. Todas las proteínas resultantes poseen las características estructurales propias de los receptores tipo Toll descritos hasta ahora.

- *P. salmonis* logra modular la expresión de los receptores estudiados; e IL-1 β , importantes en la cascada de señalización de TLR. Lo que puede representar una forma de cómo esta bacteria logra evitar la respuesta inmune en peces y causar mortalidades altísimas en los cultivos de salmón del Atlántico en Chile.

REFERENCIAS

- Aderem, A. y Ulevitch, R. (2000). Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. 406, 782-787.
- Akira, S., Uematsu S. y Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 124, 783-801.
- Alvarez-Pellitero P. (2008). Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Vet. Immunol. and Immunopat*. 126, 171-198.
- Boltaña, S., Roher, N., Goetz, F. y McKenzie, S. (2011). PAMPs, PRRs and the genomics of Gram negative bacterial recognition in fish. *Dev. Comp. Immunol*. 35, 12, 1195-1203.
- Collado, V., Porras, R., Cutuli, M. y Gómez-Lucia, E. (2008). El sistema inmune innato I: sus mecanismos. *RCCV*. 2, 1-16.
- Janeway, C. y Medzhitov, R. (2002). Innate Immune Recognition. *Annu. Rev. Immunol*. 20, 197-216.
- Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. 20, 137-151.
- Mezhitov, R. y Janeway, C. (2000). Innate immune recognition: mechanism and pathways. *Immuno. Reviews*. 173, 89-97. 118
- Moreno, C. y Sánchez-Ibarrola, A. (2003). Receptores tipo toll: bases moleculares de la relación entre respuestas innatas y adaptativas del sistema inmunitario. *Rev. Med. Uni*. 3, 29-33.
- Palti Y. (2011) Toll-like receptors in bony fish: From genomics to functions. *Dev. Com. Immunol*.
- Palti, Y., Rodríguez, M., Gahr, S., Purcell, M., Rexroad III, C. y Wiens, G. (2010). Identification, characterization and genetic mapping of TLR1 loci in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*. 28, 918-926.
- Randon-Barragan (2009). Receptores similares a toll en peces: el inicio de la divergencia. *InVet*. 11, 15-30.
- Rebl, A., Goldammer, T. y Seyfert, H. (2010). Toll-like receptors signaling in bony fish. *Veter. Immunol. and Immunopath*. 134, 139-150.
- Rubio-Godoy, M. (2010). Inmunología de los peces óseos. *Revisión. Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1, 47-57. Takano, T., Hwang, S., Kondo, H., Hirono, I., Aoki, T. y Sano, M. (2010). Evidence of Molecular Toll-like receptors mechanism in teleosts. *Fish Pathology*. 45, 1-16.
- Underhill, D. y Ozinsky, A. (2002). Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Current opinion in immunology*. 14, 103-110.
- Wilhelm, V., Miquel, A., Burzio, L., Roseblatt, M., Engel, E., Valenzuela, S., Parada, G. y Valenzuela, P. (2006). A vaccine against the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* based on recombinant proteins. *Vaccine*. 24, 5083-5091.

Agradecimientos: Proyecto FONDAP N°15110027: Interdisciplinary Center for Aquaculture Research (INCAR).

CAMIONES CHEVROLET

CON TECNOLOGIA ISUZU

GARANTIA DE
150.000 KMS.
ó 5 AÑOS



NKR 512 E4

PRECIO DE:

\$13.202.731* + IVA

\$15.711.250* IVA INCL.

INCLUYE BONO DE \$800.000* IVA INCL.

- Potencia 124 HP
- Capacidad de Carga: 2800 kgs
- Torque 354 Nm / 1.600 rpm
- Largo Carrozable (mm): 3.300



NQR 919 E4

PRECIO DE:

\$18.880.000* + IVA

\$22.467.200* IVA INCL.

- Potencia 190 HP
- Capacidad de Carga: 5850 kgs
- Torque 504 Nm / 1.500 rpm
- Largo Carrozable (mm): 5.700



FRR 1119 E4

PRECIO DE:

\$24.563.025* + IVA

\$29.230.000* IVA INCL.

- Potencia 190 HP
- Capacidad de Carga: 7785 kgs
- Torque 510 Nm / 1.600 rpm
- Largo Carrozable (mm): 6.200



FTR 1524 E4

PRECIO DE:

\$29.630.252* + IVA

\$35.260.000* IVA INCL.

- Potencia 240 HP
- Capacidad de Carga: 10000 kgs
- Torque 706 Nm / 1.450 rpm
- Largo Carrozable (mm): 6.500

VALDIVIA: PICARTE 2225 - OSORNO: FUCHSLOCHER 1000
PUERTO MONTT: PILPILCO 800 - CASTRO: GABRIELA MISTRAL 499



600 600 4004
Central de Atención Clientes

www.chevrolet.cl
800 800 115



www.salfasur.cl



facebook.com/salfasur



@salfasur

ISUZU



AUTOMOTRIZ
SALFA SUR
LIMITADA

Fotografías referenciales. Precios válidos desde el 01/07/2013 al 31/07/2013, no incluyen flete. Precios no incluyen carrozado. Consultar por bono adicional de \$100.000 con financiamiento GMAC. Detalles de planes de financiamiento en punto de venta. Planes y condiciones son de exclusiva responsabilidad de GMAC. *Precio corresponde a modelos NKR 512 E4 con bono de \$800.000 IVA INCL. y NQR 919 E4, FRR 1119 E4 y FTR 1524 E4.



Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda.

Micotoxinas

Soluciones tecnológicas de vanguardia

PeCOD™

TECNOLOGÍA VERDE
(OXÍDO DE TITANIO)



Analizadores de precisión para terreno, laboratorio o en línea

- DQO en 5 minutos
- Más preciso y económico

AQUADIAGNOSTIC

AflaTest®

VICAM
A Waters Business

Test para el Análisis de Micotoxinas de la A a la Z. Análisis en terreno o en laboratorio.

Sensibilidad hasta niveles de partes por Trillón (ppt). Durante más de 20 años, VICAM ha sido el proveedor mundial de tecnologías de seguridad alimentaria, soluciones de métodos y kits de prueba para micotoxinas.



AFLA-V®

VICAM
A Waters Business

Resultados precisos, cuantitativos y rápidos.

Tiras reactivas que utilizan la sensibilidad y la selectividad de los anticuerpos monoclonales de VICAM para detectar con precisión y medir las aflatoxinas B1 total, B2, G1 y G2 en niveles tan bajos como 5 ppb y tan altos como 100 ppb.



QUICKING

Test para detección semi-cuantitativa de micotoxinas.

- Aflatoxina B1
- DON
- Fumonisina B1
- T2
- Vomitoxina
- Zearalenona
- Residuos de antibióticos



Microtox y DeltaTox II

Sistemas Microtox® de Testeo de Toxicidad

Toxicidad en muestras de agua y sólidas, ahora en sólo minutos. Mayor sensibilidad y precisión



Representante exclusivo:

Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda. E-mail: rilab@adsl.tie.cl - Fono/Fax: (56-2) 2688 2010



TRES ÚTILES HERRAMIENTAS PARA ADMINISTRAR TU NEGOCIO DE FORMA EFICIENTE

*** OFFICE 365, PRONTOFORMS Y GPS DE ENTEL EMPRESAS PERMITEN OPTIMIZAR EL DESARROLLO DE DIFERENTES TAREAS DE MANERA SENCILLA, RÁPIDA Y DE FORMA INTEGRAL.**

Administrar de manera óptima un negocio puede llegar a ser todo un desafío e incluso convertirse en el punto de quiebre entre seguir o definitivamente, abortar la misión. Es por eso que la tecnología puede transformarse en un gran aliado, especialmente a la hora de simplificar los procesos operacionales, tomar decisiones clave para la compañía u obtener soluciones rápidas y eficientes de forma segura.

Tendiendo en cuenta esta problemática y conociendo las grandes necesidades que surgen en las grandes, mediana y pequeñas empresas es que Entel Empresas implementa tres útiles herramientas: Office 365, ProntoForms y GPS. Estas, son soluciones de simple instalación, pero robustas en simplificar tareas complejas de manera efectiva.

Office 365 es un conjunto de herramientas Microsoft con las cuales se puede trabajar desde cualquier lugar. Permite enviar y recibir mensajes de correo electrónico, información de contacto y citas desde un PC, tablet o dispositivos móviles, entre otras funcionalidades. En definitiva, lo que se logra es que la oficina deje de ser sólo un espacio físico, dando paso a un concepto más amplio que es una tendencia mundial, que es que se puede trabajar desde cualquier lugar, siempre y cuando, se tenga la tecnología para hacerlo. Así, una persona no necesita llegar a un lugar establecido para mandar un mail o tener una video conferencia, sólo necesita un Smartphone o tablet, lo que mantiene la continuidad del negocio y aminora los tiempos de respuesta, entre otras ventajas.

"Además, la idea de implementar esta herramienta es tener una solución integral y no diferentes herramientas que muchas veces no se complementan entre sí y que son complejas de manejar. Esta solución realmente apoya la gestión del negocio del cliente", explica el subgerente de productos Ti y Vas de Entel Empresas, Héctor Garretón.

También, es posible realizar reuniones en línea, incluyendo audio o video, facilitando así el trabajo colaborativo con personas dentro o fuera de la empresa. Documentos importantes del negocio pueden ser almacenados, visualizados y editados simultáneamente, con software ya conocidos como son: Word, Excel, PowerPoint y One Note.

La seguridad y la protección de la información son fundamentales para cualquier compañía y Office 365 garantiza tecnología antivirus, actualización de la última versión disponible en el mercado y completa disponibilidad del servicio. En caso de que el dispositivo se pierda, dañe o sea robado, los datos pueden ser bloqueados. Cuando el aparato se reemplaza por uno nuevo, al conectarlo con esta herramienta, todos los datos del usuario -como correo electrónico, contactos y calendario- vuelven a estar disponibles.



* MINIMIZA ERRORES EN LA RECOLECCIÓN DE DATOS



Para optimizar el trabajo en terreno, Entel Empresas implementó el servicio ProntoForms, una nueva aplicación world class dirigida a aquellas compañías que utilizan formularios y que permite que las personas que trabajan en terreno puedan llenar formularios de ventas, hacer inspecciones, auditorías, encuestas y reportes. Todo, desde un smartphone o tablet.

Este servicio hace posible que la recolección de datos sea exacta y estandarizada, minimizando los errores y la lentitud en el proceso de transcripción. De esta forma, la información se ingresa en línea por lo que queda a disposición en tiempo real.

También, permite contar con reportes simples e intuitivos de los datos recolectados, a los que se puede acceder desde un

portal web de fácil uso. Así, se puede contar con información confiable en cualquier momento y lugar.

“Ponemos esta solución a disposición de nuestros clientes de empresas, para darles una solución versátil a sus requerimientos operacionales, ya que esta tecnología se puede adaptar a cualquier necesidad que la compañía tenga en terreno. Además, pueden revisar en tiempo real toda la información recolectada, pudiendo ordenarla y jerarquizarla según sus requerimientos. Todo esto puede facilitar enormemente sus procesos y ayudar a la toma de decisiones clave de la empresa”, puntualiza el subgerente de productos Ti y Vas de Entel Empresas, Héctor Garretón.

Además, el mismo cliente puede generar sus formularios de uso y adaptarlos a la información que necesita recopilar. Así, puede darle un enfoque preciso a la data y mejorarla continuamente. Se puede hacer todos los formularios necesarios o usar los que vienen predefinidos desde una librería con más de 400 formularios.

Este sistema es de muy fácil implementación y uso. Además, al ser una solución en la nube, no tiene requerimientos especiales de infraestructura y cuenta con todo el respaldo de la red 3G de Entel. A su vez, es una excelente iniciativa para que las compañías disminuyan su impacto sobre el medioambiente, ya que se puede llegar a eliminar hasta en un 100% el uso de papeles en algunos de sus procesos.

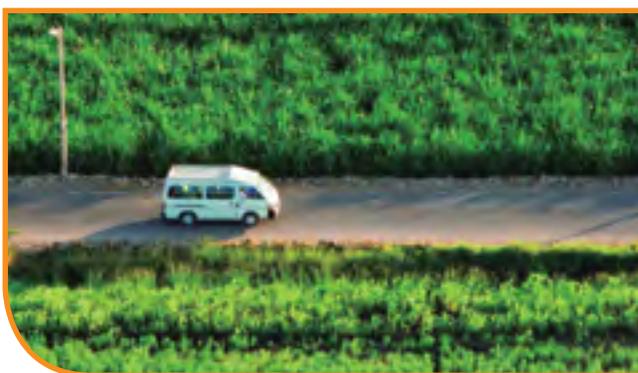
* AHORRA COSTOS Y TIEMPO, CONOCE CADA MOVIMIENTO DE TU FLOTA

Para aquellas empresas que manejan una flota de vehículos, Entel Empresas ofrece el servicio de GPS, que permite conocer en todo momento la ubicación exacta de cada una de las máquinas, además de la velocidad con que circulan y si están detenidas o con el motor apagado, siendo éstas algunas de sus características.

GPS de Entel Empresas consiste en un dispositivo que se ubica en el vehículo y que transmite su ubicación a un servidor central. Esta información aparece disponible en reportes y mapas de alta calidad en internet, donde se puede consultar en línea el estado actual de la flota, utilizando únicamente un teléfono móvil.

Al respecto Gustavo Larraín, Gerente de Marketing y Productos de Entel Empresas explica que “Entel Empresas lleva 11 años ofreciendo el servicio de GPS y tenemos clientes que llevan la misma cantidad de años que nuestra solución en el mercado, lo que demuestra el éxito de nuestro servicio. La recepción por parte de las empresas es excelente porque tener un servicio de GPS es definitivamente un plus”.

Los beneficios son múltiples, puesto que permite una mayor productividad, aminorar los costos, mantener el control de la flota, mejorar la seguridad, disminuir los tiempos de entrega y permite asegurar al cliente un mejor servicio, lo cual



contribuye positivamente a la imagen de la compañía, mejora la productividad y posibilita un control más eficiente de los vehículos.

El sistema desarrollado por Entel Empresas permite ser usado desde cualquier navegador y está 100% integrada a los sistemas de Entel, lo que permite asegurar la calidad de servicio.

Todas estas soluciones buscan ayudar a optimizar y facilitar la administración de una empresa, para que esta sólo sea una excusa de seguir adelante con el negocio.



Empresa líder en el mundo en prestación de Servicios de Alimentación y de Soporte.

Compass Group fue establecida en 1941 y desde entonces ha tenido un crecimiento sostenido, tanto orgánicamente como a través de adquisiciones. Las compañías que se han unido al Grupo en los años 90 han aportado su fortaleza combinando su tradición y profundo conocimiento de sus mercados. Juntos hemos logrado alcanzar el liderazgo de mercado a través de innovaciones.

Visión

Ser un proveedor de servicios de alimentación y soluciones múltiples de calidad mundial reconocido por nuestras mejores personas, nuestro mejor servicio y nuestros mejores resultados.

Misión

Todos en Compass están comprometidos con la entrega consistente de servicios de alta calidad en la manera más eficiente para el beneficio común de nuestros clientes, accionistas y colaboradores.

Valores

*Apertura, confianza e integridad
Pasión por la calidad
Vencer a través del trabajo en equipo
Responsabilidad
Puedo Hacerlo.*

COMPASS GROUP EN EL MUNDO



Nuestras Marcas

Entendemos que las necesidades y cultura organizacional de nuestros Aliados es distinta y varía de acuerdo al sector al que pertenecen. Por eso, en **Compass Group** trabajamos a través de marcas especializadas.

SECTOR	ALIMENTACION Y SERVICIOS DE SOPORTES	RETAIL
INDUSTRIA Y NEGOCIOS		
SALUD		
EDUCACION		
SITIOS REMOTOS		

En Chile



Avenida del Valle 787 5º piso, Ciudad Empresarial - Huechuraba Santiago
Teléfono (56-2) 2591 0700 - www.compass-group.com

I&D en el Diagnóstico de *Renibacterium salmoninarum*

AQUACHILE



AQUAINNOVO



TROUT LODGE

Marcela Espinoza^{1,2}, Agustín Barría³, Alexis Martínez², María Eugenia Cabrejos^{2,3}

¹Universidad de Concepción, Centro de Biotecnología, Concepción, Chile.

²Aquainnovo, Polpaico 037, Barrio Industrial, Puerto Montt, Chile.

³Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile
mariaeugenia.cabrejos@aquainnovo.com www.aquainnovo.com

Relevancia de la Acuicultura para el país

La Acuicultura a gran escala se proyecta como una de las alternativas de mayor contribución para solventar el incremento en la demanda mundial de proteína de origen animal en los próximos años. Esta actividad ha mostrado el mayor crecimiento en los últimos 20 años, a una tasa constante de 6% anual, levantando recursos a nivel mundial equivalentes a US\$110 billones. Asia contribuye con el 91% de la producción mundial, siendo China el principal productor (62%). Chile emerge como el país número 11 en el ranking de países productores de especies acuícolas en términos del volumen de producción en el año 2009, alcanzando la cuarta posición a nivel mundial cuando incorporamos el valor de las producciones. Nuestro país se posiciona como una potencia acuícola, liderando junto a Noruega la producción de salmónidos, cubriendo más del 60% de la producción mundial, que reporta por concepto de exportaciones a nuestro país más de US\$2.200 millones (FAO 2010). Este exitoso desarrollo se debe fundamentalmente a que nuestro país, presenta condiciones naturales, geográficas y climáticas, extraordinariamente adecuadas para el cultivo de estas especies. No obstante, este crecimiento ha traído la intensificación del sistema productivo, lo cual ha producido una aglomeración de centros y traslados de material biológico entre centros (Smith *et al.* 2001). Ante estos eventos, y con el objetivo de solventar las cifras nacionales de exportación, fue necesario importar ovas desde otros países productores de salmónidos, los cuales han sido afectados por enfermedades aún ausentes en Chile (Vike *et al.* 2009). Todas estas prácticas han llevado a un aumento en la aparición de nuevos patógenos y un incremento en la prevalencia de enfermedades en nuestro país. La crisis sanitaria causada por la aparición del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV) confirmado en el año 2007, que generó devastadoras pérdidas en la producción (200.000 Tons de salmón del Atlántico), vino a poner énfasis en todas las Instituciones del sector acuícola, en relación a la revisión y mejora de los procedimientos que soportan toda actividad de la cadena productiva del rubro.

En relación a los ensayos diagnósticos, surgieron estudios de *benchmarking* organizados por las principales empresas productoras, así como publicaciones de nuevas Normas Técnicas de parte de la Unidad de Acuicultura del Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca), las cuales vinieron a levantar requerimientos específicos para los laboratorios que se dedican a esta actividad a modo de ser más rigurosos en el proceso de la ejecución de ensayos para asegurar la calidad de los resultados para los clientes. Fue necesario acreditar previamente los métodos de ensayo, bajo NCh ISO17025, para la detección de todo agente patógeno incluido en los Programas Sanitarios normados.

Es así que nuestra propuesta ha venido a contribuir en forma específica al mejoramiento del ensayo de detección diagnóstica de *R. salmoninarum*. La enfermedad causada por esta bacteria, enfermedad Bacteriana del Riñón o Renibacteriosis (BKD), no aparece en la lista única de enfermedades de la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE), pero sí existe incorporada al Programa Sanitario General de Reproductores a nivel nacional (PSGR). Se maneja una prevalencia de 9,98% en centros de mar de un total de 1.512 reportes informados por los laboratorios autorizados enviados al Servicio en el año 2012 (Sernapesca 2012), siendo BKD una enfermedad de las más recurrentes en los centros productivos de salmónidos. La enfermedad es transmitida de forma horizontal en agua dulce y marina por el contacto entre peces infectados (Mitchum & Sherman 1981) o mediante contaminación fecal (Balfry *et al.* 1996). A su vez, la enfermedad es transmitida de forma vertical, mediante los huevos de padres infectados (Evelyn *et al.* 1986; Pascho *et al.* 1991).

La clasificación de variantes genéticas de la bacteria se ha establecido sobre la base de estudios genómicos en la región transcrita interna (ITS) del gen ribosomal de RNA, entre 16S-23S, han determinado la existencia de tres secuencias de ITS distintas, denominadas sequovares (SV). Estas secuencias difieren en 3 nucleótidos con respecto al sequovar principal (SV1), el cual es altamente conservado. Ha sido posible relacionar cada SV con la ubicación geográfica y el hospedero de cada aislado (Grayson 1999).

En relación a las características de virulencia, *R. salmoninarum* produce una proteína hidrofóbica de superficie celular de 57 kDa, conocida como Antígeno Soluble Mayor (MSA) (Getchell *et al.* 1985), la cual es codificada por los genes *msa1*, *msa2* y *msa3*. Sin embargo, este último gen no se encuentra en todos los aislados de la bacteria y se ha asociado con fenotipos virulentos (Rhodes 2004). MSA parece ser un factor de virulencia importante debido a que suprime la producción de anticuerpos *in vitro* y además parece inducir tolerancia inmunológica *in vivo* (Turaga *et al.* 1987; O'Farrell 1999). MSA es liberada hacia los tejidos circundantes y se ha asociado con la aglutinación de leucocitos (Daly & Stevenson 1990) e inmunomodulación (Brown *et al.* 1996).

Tecnologías diagnósticas y Procedimientos para alcanzar la etapa de transferencia a Servicios

En la actualidad OIE reconoce las siguientes técnicas como referencia para la detección de *R. salmoninarum*: Inmunofluorescencia indirecta (IFAT), Inmunoensayo directo (ELISA) y amplificación de fragmentos de DNA mediante reacción de polimerasa en cadena (PCR) (OIE 2006). Estas técnicas están en concordancia con los resultados del estudio de más de 500 documentos de patentes analizados, que determina que las técnicas subyacentes a los métodos de diagnóstico corresponden a la identificación de antígenos, uso de técnicas enzimáticas o que involucran ácidos nucleicos y uso de anticuerpos, habiendo alcanzado un máximo en el desarrollo de las técnicas alrededor del año 2005 y posicionando a Estados Unidos como el principal país desarrollador de nuevos productos (Ideaxxon 2013). Específicamente, se han realizado diversos esfuerzos para estandarizar y validar nuevos ensayos que pretenden aumentar la sensibilidad y la especificidad a costa de mejorar el uso de los recursos y ganar tiempo de respuesta, con el principal objetivo de sostener un efectivo control a la detección temprana de patógenos, ya sea para monitorear el estado en campo como en reproductores, para evitar su propagación (Adams 2011). Los ensayos de PCR, en cualquiera de sus principales versiones (PCR, RT-PCR, anidado), se posicionan hoy en día como una tecnología madura, tienen años de existencia, hay buen acceso a equipos (termocicladores) y buen desarrollo de kits comerciales que aportan las mezclas de reactivos con las cuales se

A)		qPCR tiempo real		Total
		Positivo	Negativo	
IFAT	Positivo	86	14	100
	Negativo	0	100	100
Total		86	114	200
k=0,86				
B)		RT-qPCR tiempo real		Total
		Positivo	Negativo	
IFAT	Positivo	94	6	100
	Negativo	0	100	100
Total		94	106	200
k=0,94				

Tabla 1. Acuerdos de ensayos entre Técnica de referencia IFAT y ensayos de PCR: a partir de DNA (A: qPCR) y RNA (B: RT-PCR), para la detección de *R. salmoninarum*.

optimiza las condiciones experimentales de ensayo, así como existen profesionales que poseen mayores conocimientos para manejar en forma crítica esta tecnología. No obstante, toma gran importancia los procedimientos de calidad de ensayos que se deben cumplir, así como las metodologías de validación (OIE 2013). Este proceso consiste en contrastar el desempeño que presenta en términos de sensibilidad y especificidad el nuevo ensayo en comparación con una técnica reconocida por OIE como referencia, al analizar el mismo grupo de muestras. Se establece un intervalo de confianza para el cual se estima índices de concordancia basados en procedimientos que están debidamente descritos en los manuales de OIE. Por estos motivos, cualquier nuevo desarrollo diagnóstico incluido en programas oficiales, deberá cumplir no solo con requerimientos técnicos, sino también normativos, para poder ser transferido a servicios por laboratorios debidamente acreditados.

Constante desarrollo de biotecnologías asociadas a mejorar el diagnóstico de *R. salmoninarum*: Resultados

Nuestro objetivo de trabajo consistió en el Desarrollo de Productos, específicamente de dos nuevos ensayos de diagnóstico para detectar la presencia de *R. salmoninarum* mediante ensayos de PCR tiempo real a partir de material genético blanco, tanto DNA como RNA. Cada uno de estos ensayos fue optimizado en un formato de dos reacciones simultáneas (dúplex). Junto a la detección del patógeno se incluye la amplificación simultánea de un gen que se expresa en forma constitutiva, a tasa constante (housekeeping gene). El objetivo de esta última reacción es controlar que existe material genético obtenido a partir de un proceso previo de extracción de tejido, así como de la calidad del mismo.

El diseño de estos dos ensayos pretende satisfacer la necesidad de los clientes a la calidad de los resultados, mientras que la expectativa de los laboratorios se centra en general, contando con un buen desempeño sobre la base de los resultados de validación, en mejorar el uso de los recursos.

En forma específica, se diseñaron partidores y sondas (Taqman) para amplificar un segmento blanco contenido en *msa1*, a partir tanto de muestras de DNA como RNA. Las reacciones de PCR fueron estandarizadas en formato dúplex, incorporando la amplificación del gen *elf1* como control interno (Snow 2006) según la Norma Técnica 3 de (Sernapesca 2009). Posteriormente, los ensayos fueron validados según procedimientos de OIE, tanto a partir de DNA (qPCR) como RNA (RT-qPCR) y comparando el desempeño con una técnica de referencia IFAT. En cada caso, se utilizaron 100 muestras positivas y 100 muestras negativas de riñón medio-posterior de peces *S. salar*. Este tamaño de muestra fue obtenido utilizando la fórmula $N = Q/E \cdot S^2$ donde N es el tamaño de la población, Q es el valor de Kappa esperado (Índice de concordancia). Para este ensayo se utilizó como valor límite 0,6 y un error estándar de 0,07; los valores de Q son obtenidos utilizando una prevalencia del 50% (Cantor 1996).

A la totalidad de las muestras se les realizó los ensayos de IFAT y PCR tiempo real en formato dúplex, en forma independiente

qPCR y RT-qPCR. A los resultados obtenidos se les aplicó análisis Kappa, a partir de los cuales se obtuvieron 186 acuerdos entre ambas técnicas cuando se realiza el ensayo a partir de DNA (Tabla 1, A) con un valor de Kappa igual a 0,86 (86% de concordancia entre ambas técnicas) lo cual es catalogado como “Muy Bueno” (Sim & Wright 2005), con un intervalo de confianza del 95%. En relación a los resultados a partir de RNA, se observan 194 acuerdos entre ambas técnicas (Tabla 1, B) con un valor de Kappa igual a 0,94, considerado “Muy Bueno”, con un intervalo de confianza del 95%. Estos resultados demuestran que ambos desarrollos son eficientes, con un mejor desempeño cuando se realiza el ensayo a partir de RNA. Adicionalmente, ambos desarrollos resultan específicos cuando se evalúa la amplificación usando material genético de 12 diferentes patógenos, detalle que se observa en la Tabla 2. En todos estos ensayos solo se obtiene señal específica de amplificación para *R. salmoninarum*.

Muestra	qPCR	RT-qPCR
	Ct	
<i>Francisella</i>	No Ct	No Ct
<i>Piscirickettsia salmonis</i>	No Ct	No Ct
<i>Francisella piscicida</i>	No Ct	No Ct
<i>Flavobacterium columnare</i>	No Ct	No Ct
<i>Aeromonas salmonicida</i>	No Ct	No Ct
<i>Arthrobacter</i>	No Ct	No Ct
<i>Chryseobacterium</i>	No Ct	No Ct
<i>Vibrio ordalii</i>	No Ct	No Ct
<i>Streptococcus phocae</i>	No Ct	No Ct
<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	No Ct	No Ct
<i>N. perurani</i>	No Ct	No Ct
<i>Acinetobacter iwoffii</i>	No Ct	No Ct
<i>R. salmoninarum</i>	15,17	20,98

Tabla 2. Evaluación de Especificidad de los desarrollos diagnósticos qPCR y RT-qPCR usando diversos patógenos.

Sobre la base de estos resultados, es posible concluir que se han desarrollado dos nuevos ensayos diagnósticos que detectan en forma efectiva la presencia de *R. salmoninarum* poniendo a disposición de clientes nuevos métodos validados.

Referencias

FAO 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department-Global Statistics Collection. www.fao.org/fishery/statistics/en

Smith P, J Larenas, P Vera, J Contreras, C Venegas, Rojas M, Guajardo A (2001). Principales enfermedades de los peces salmonídeos cultivados en Chile. Monografías de Medicina Veterinaria 21, 3-19.

Vike S, Nylund S & Nylund A (2009). ISA virus in Chile: evidence of vertical transmission. Archives of Virology 154, 1-8. DOI 10.1007/s00705-008-0251-2.

Sernapesca 2012. Informe Sanitario de Salmonicultura en Centros Marinos año 2012. Unidad de Salud Animal Subdirección de Acuicultura Servi-

cio Nacional de Pesca y Acuicultura Enero 2013. Capítulo 6, 27.

Mitchum D & Sherman L (1981). Transmission of bacterial kidney disease from wild to stocked hatchery trout. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38, 547-551.

Balfry S, Albright L & Evelin T (1996) Horizontal transfer of Renibacterium salmoninarum among farmed salmonids via the fecal-oral route. Diseases of Aquatic Organisms 25, 63-69.

Evelyn TPT, Ketcheson JE & Prospero-Porta L (1986) Use of erythromycin as a means of preventing vertical transmission of Renibacterium salmoninarum. Dis. Aquat. Org. 2, 7-11.

Pascho RJ, Elliott DG & Streufert JM (1991) Brood stock segregation of chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* by use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the fluorescent antibody technique (FAT) affects the prevalence and levels of Renibacterium salmoninarum infection in progeny. Dis. Aquat. Org. 12, 25-40.

Grayson TH, Cooper LF, Atienzar FA, Knowles MR & Gilpin ML (1999) Molecular Differentiation of Renibacterium salmoninarum Isolates from Worldwide Locations. Applied and Environmental Microbiology, Mar 961-968.

Getchell R, Rohovec J & Fryer J (1985) Comparison of Renibacterium salmoninarum isolates by antigenic analysis. Fish pathology 20, 149-159.

Rhodes LD, Coady AM & Deinhard RK (2004) Identification of a third msa gene and the associated virulence phenotype. Appl. Environ. Microbiol. 70, 6488-6494.

Turaga P, Wiens G & Kaattari S (1987) Bacterial kidney disease: the potential role of soluble protein antigen(s). Journal of fish biology 31, 191-194.

O'Farrell C & Strom M (1999) Differential expression of the virulence associated protein p57 and characterization of its duplicated gene msa in virulent and attenuated strains of Renibacterium salmoninarum. Diseases of aquatic organisms 38, 115-123.

Daly J & Stevenson R (1990) Characterization of the Renibacterium salmoninarum haemagglutinin. J. Gen. Microbiol. 136, 949-953.

Brown L, Iwama G & Evelyn T (1996) The effect of early exposure of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) eggs to the p57 protein of Renibacterium salmoninarum on the development of immunity to the pathogen. Fish Shellfish Immunol. 6, 149-165.

OIE 2006, Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos (2006) Capítulo 2.1.11. Renibacteriosis (Renibacterium salmoninarum) 224-241.

Ideaxxon 2013, Market & IP Assessment Report. Chapter IV, 30-37.

Adams A & Thompson K D (2011) Development of diagnostic for aquaculture: challenges and opportunities. Aquaculture Research 42, 93-102.

OIE 2013, OIE Terrestrial Manual (2013) Principles and Methods of Validation of Diagnostic Assays for Infectious Diseases Chapter 1.1.5. 1-16.

Snow M, McKay P, McVeath A, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C, Nylund A, & Devold M (2006) Development, Application and Validation of a Taqman Real Time RT-PCR Assay for the Detection of Infectious Salmon Anaemia Virus (ISAV) in Atlantic Salmon (*Salmo salar*), New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health and Biologics Controls. 126, 133-145.

Sernapesca 2009, Programa de Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de Animales Acuáticos. Manual de Procedimientos N°3: Procedimientos para validación y control de calidad de los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizados para el diagnóstico de enfermedades infecciosas en animales acuáticos.

Cantor AB (1996) Sample-Size Calculations for Cohen's Kappa. Psychological Methods 1, 150-153.

Sim J S & Wright C (2005) The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements. Physical Therapy. 85, 257-268.

AGRADECIMIENTOS El desarrollo de esta Investigación ha sido financiado por el Proyecto Precompetitivo del área Pesca y Acuicultura de Fondo D09i1030, más los aportes entregados por las Empresas Asociadas: Troutlodge Chile S.A., Empresas Aquachile S.A. y Aquainnovo S.A. Expresamos nuestros agradecimientos a cada una de estas Instituciones.

Rilab

Carlos Rivas Padilla y Cía. Ltda.

Microbiología

Soluciones tecnológicas de vanguardia

RapidCheck® Salmonella / Listeria

Utilizan exclusivamente medios de cultivo con fagos formulados para un óptimo crecimiento de *Salmonella* o *Listeria*, mientras que suprime las reacciones cruzadas y la competencia de otros microorganismos estrechamente relacionados. RapidChek es un nuevo método diseñado para mejorar la especificidad y la sensibilidad del sistema.



El primer sistema de Prueba Definitivo para Coliformes Totales y *E coli*

- Resultado en 24 horas o menos.
- Detecta simultáneamente Coliformes Totales y *E coli*.
- Detecta desde 1 UFC por 100 ml de muestra.
- Detecta *E coli* Mug Positivas y Mug Negativas.
- Resultados claros y fáciles de interpretar.
- Reactivo predosificado y listo para usar.
- Permite realizar pruebas de Presencia / Ausencia o Cuantificación.

colitag



Tómulas para el Transporte de Muestras Microbiológicas

InSite®

Rápida y sencilla prueba de presunción de *Listeria* que ha sido específicamente diseñado para controlar su presencia en muestras ambientales.

QD-Loop®

Dispositivo para una dilución rápida estéril, **todo-en-uno** para la correcta y conveniente dilución del volumen en tareas microbiológicas. Se presenta en formatos de dilución de 1/10, 1/100 ó 1/1000.

Q-Swab®

Más rápido, eficiente y a un menor costo de laboratorio para sus necesidades de monitoreo ambiental. Formulaciones de Buffer de 1 ml para una recuperación óptima de las bacterias sin necesidad de preparar el caldo.



Esponjas Estériles

Esponjas de celulosa libres de bioácidos, la cual suministra muestras totalmente estériles y a prueba de fugas, gracias a su sello de amarre.

Es un dispositivo simple y conveniente para la toma de muestras en grandes superficies. Pueden ser ordenadas secas o pre-humedecidas en una gran variedad de diluyentes.



Representante exclusivo:

Carlos Rivas Padilla y Cía. Ltda. E-mail: rilab@adsl.tie.cl - Fono/Fax: (56-2) 2688 2010

KAUFMANN
PowerSystems

GRUPOS ELECTRÓGENOS Y MOTORES MARINOS

EL IMPULSO QUE LA INDUSTRIA PESQUERA ESTABA ESPERANDO.

- Grupos de 10 a 1100 KVA de potencia de stock (consultar otras potencias).
- Grupos con y sin cabina insonorizada.
- Sistema de sincronismo y paralelismo opcional.
- Proyectos a medida del cliente.
- Motores Marinos de 100 a 500 HP.



Servicio



Repuestos
Amplio stock



Cobertura
36 sucursales en todo Chile



Confiabilidad
Productos hechos a tu medida



Menor costo operacional
Crédito directo



KAUFMANN



Contacto: (+56 2) 2927 3656
powersystems@kaufmann.cl

www.kaufmann.cl  

OPTIMOMIX[®]

BY OPERA

ENSILAJE BIOLÓGICO DE PECES

Una máquina absolutamente fiable completamente en acero inoxidable

Mecánica de altísima calidad y seguridad en un compacto de fácil uso

Protege el entorno operativo de factores contaminantes

Multiuso: aplicable en procesos del sector agroalimentario donde el producto se deba:

Cortar

Recircular

Desmenuzar

Triturar

Reducir

Disolver

Remover

Mezclar



Aísla el producto tratado de posibles contagios

Definitivamente en sintonía con la normativa sobre la Bioseguridad

OPTIMOMIX
es también una bomba autoaspirante:

*Aspiración -4 mca
Expulsión +8mca*

Para Información: en Chile



TEL. +56 65 2 262621 FAX +56 65 2 262622

E-MAIL: Info@latin-alliance.com

www.techin-opera.it

Lodos de pisciculturas de la región de los lagos y potencial uso como fertilizante orgánico: resultados preliminares



Sandra T. Madariaga¹, Juan Schlatter², Gisela Romeny², Sandra Marín³, Francisco Treupil⁴

¹ Centro de Ciencias Básicas, Universidad Austral de Chile-Sede Puerto Montt

² Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Universidad Austral de Chile-Sede Valdivia

^{3,4} Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt



Introducción

Este artículo, presenta resultados del proyecto “TRATAMIENTO DE LODOS RESIDUALES DE PISCICULTURAS DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS Y EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE SU DESEMPEÑO EN SUELOS” financiado por el Fondo de Innovación para la Competitividad FIC-R 2012, del Gobierno Regional de Los Lagos y que cuenta con el apoyo de la Seremi de Medio Ambiente, Seremi de Salud y el Servicio Agrícola Ganadero de la Región de Los Lagos.

El objetivo de esta iniciativa, es generar información de base científica y tecnológica, para que agentes públicos nacionales y regionales, relacionados con la gestión ambiental, sanitaria y de manejo agrícola, puedan tomar decisiones, respecto de la aplicación de lodos de piscicultura de agua dulce en suelo de aptitud agropecuaria. Para lo anterior se ha propuesto (i) analizar las propiedades físico-químicas y biológicas de lodos de piscicultura de flujo abierto y piscicultura de recirculación generados durante el cultivo de alevines, (ii) estudiar la eficiencia y condiciones del proceso de digestión anaeróbica en la estabilización e higienización del lodo crudo y (iii) evaluar su efecto sobre suelos de la Región de Los Lagos a escala experimental.

Los lodos de pisciculturas se caracterizan por ser ricos en fósforo y contener elementos nutritivos (Boro, Azufre, Magnesio entre otros) que los hace potencialmente atractivos como fertilizantes orgánicos. En efecto, diversas investigaciones científicas¹⁻², han

mostrado el efecto positivo de estos residuos sobre el cultivo en suelos de aptitud agropecuaria. Sin embargo, esta opción de reutilización debe asegurar condiciones sanitarias y ambientalmente seguras en el lodo acuícola antes de su aplicación al suelo, luego resulta fundamental cuantificar aquellos componentes críticos derivados del cultivo de salmones (parásitos, metales, antimicrobianos y patógenos) que permitan definir estrategias de manejo.

En la actualidad, y en ausencia de una normativa que regula la aplicación de lodos de piscicultura en suelos, este tipo de residuo sigue siendo depositado en sitios de disposición final. Sólo en el año 2011, aproximadamente un total 7800 m³ de lodos fueron generados en pisciculturas de la Región de Los Lagos³. Si se considera las proyecciones de crecimiento de la industria acuícola dada la creciente demanda de especies salmonídeas, los esfuerzos en materia de valorización o reutilización que permitan disminuir la presión sobre sitios de disposición final, resultan de gran importancia. Por otra parte, la posibilidad de disponer estos lodos como fertilizante en suelos agrícolas, promoverá la coexistencia e interacción de dos sectores económicos y socialmente relevantes en el tejido industrial de la Región de Los Lagos.

Los resultados que aquí se presentan son parciales y corresponden a i) caracterización físico-química y biológica de dos muestras de lodo crudo obtenidas en dos períodos diferentes del cultivo de alevines, ii) el efecto de la digestión anaeróbica sobre el proceso de estabilización e higienización de estas muestras de lodos y iii) el resultado de la aplicación de estos lodos crudos sobre dos tipos de suelos a escala experimental.

Metodología

Se obtuvieron muestras de lodo crudo en dos pisciculturas (flujo abierto y de recirculación) en dos momentos diferentes del proceso de obtención de alevines. Una fracción de las muestras de lodo fue enviada a laboratorios acreditados para el análisis de los siguientes parámetros: metales, antibióticos, coliformes fecales, *Salmonella sp.*, ovas helmíntica viable, pH y materia orgánica entre otros. La otra fracción (40 L.) de cada piscicultura fue sometida a proceso de digestión anaeróbica bajo condiciones mesofílica (35-38 °C) con el propósito estabilizar (reducir el contenido de materia orgánica) e higienizar (reducir el contenido





de patógenos y parásitos: coliformes fecales, *Salmonella sp* y ovas helmíntica viable). Una tercera fracción de muestras de lodo crudo fue aplicada sobre dos tipos de suelo (arena (sector Ensenada) y trumao (Limo, zona Puerto Octay) con el propósito de evaluar la capacidad de filtro de los suelos y el aporte a la fertilidad de los mismos. Los ensayos suelo-lodo se llevaron a cabo a escala experimental simulándose la lluvia a través del riego diario del sistema. Antes de someter las muestras de ambos suelos a los ensayos suelo-lodo, se les caracterizó en función de los mismos parámetros medidos en los lodos. Muestras de percolado (agua de riego que pasa por el sistema lodo-suelo) colectada en forma mensual, fue sometida al análisis de aquellos parámetros críticos para agua de riego y agua potable.

Resultados y discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos a la fecha, se observa que:

- El lodo es un sustrato apto para la aplicación del proceso de digestión anaeróbica como método de estabilización e higienización. Este método es eficiente en la reducción del contenido de materia orgánica en los lodos.
- Las muestras de lodo presentan un valor de pH en el rango de 6.4 y 6.8
- No se evidencia inhibidores del proceso de digestión anaeróbica.
- No se ha detectado presencia de antibióticos (florfenicol, ácido oxolínico, ciprofloxacino, enrofloxacino, flumequina u oxitetraciclina) en las muestras de lodo analizadas.
- De acuerdo a las condiciones de higienización (contenido de Coliformes fecales, *Salmonella sp.* y densidad de ovas helmíntica viable), las muestras de lodo de ambos tipos de piscicultura pueden ser clasificadas como LODO CLASE A.
- Por otra parte, estos lodos presentan concentraciones de metales (Pb, Se, Cd, As, Hg) muy por debajo del máximo admitido para la aplicación de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas en suelos (DS 04/2009)⁴.
- El análisis de los suelos, muestra que el suelo limoso corresponde a trumaos de las serie Puerto Octay y corresponde a un suelo moderadamente ácido, muy rico en materia orgánica y nitrógeno total, con muy bajos niveles de disponibilidad de fósforo, potasio y boro, y bajos de azufre, siendo el resto moderado. La saturación de bases es baja, característico de los suelos del sur, con pluviometría mayor a los 1500 mm al año. Su textura es franco limosa. El suelo arenoso por su parte, corresponde a arenas y gravas volcánicas del sector Ensenada, de carácter andesítico basálticas y relativamente jóvenes. El suelo es levemente ácido, pobre en materia orgánica y nitrógeno total, con bajos niveles de disponibilidad nutritiva.
- El contenido de metales en la arena y el trumao se encuentra muy por debajo la concentración máxima admitida por el DS 04/2009.
- Los lodos corresponden a un sustrato rico en materia orgánica y con altos contenidos de fósforo, así como también altos en calcio y magnesio, ricos en azufre y sodio, y moderados en potasio, también son ricos en boro. Estas propiedades permiten indicar que los lodos son el complemento ideal, desde el punto de vista nutritivo, para los suelos trumao del sur, perfilándose como una alternativa muy interesante como fertilizante orgánico. La principal limitante que se ha identificado hasta ahora es su olor muy pronunciado y repelente, que es muy persistente cuando el lodo queda expuesto al aire, pero una vez incorporado al suelo, el olor tiende a perderse rápidamente. Aun no se cuenta con el resultado de los ensayos suelo-lodo de las muestras digestadas.

- El análisis del agua de percolado de los ensayos suelo-lodo crudo, entrega resultados interesantes:
 - ◆ En el percolado de arena se encuentra una mayor concentración de nutrientes, luego la capacidad de retención y por lo tanto de filtro de la arena es menor. Los percolados de arena presentan algo de color y también de olor, especialmente con dosis más altas de lodo.
 - ◆ El trumao retiene una mayor cantidad de los nutrientes, por lo que el percolado presenta una baja concentración de estos y no presenta olor ni color.
 - ◆ Cuando se comprara las propiedades del percolado con las normas chilenas (NCh 409/1 y 1333) para agua potable y agua de riego, se observa que el pH de los percolados se encuentra dentro de los límites exigidos por la norma chilena.
 - ◆ En relación a los metales, se observa que la concentración de cobre en el percolado del suelo trumao se encuentra en el límite para el agua de riego y bajo el límite de agua potable. El percolado de arena queda sobre el límite para agua de riego y bajo el límite de agua potable. Para Hierro, Magnesio, Manganeso, Sulfato y Zinc en general la concentración en los percolados está bajo los límites, tanto de agua potable como de agua para riego. El Aluminio, solo en el caso de la arena para lodos que provienen de piscicultura flujo abierto y para las dos dosis más altas sobrepasa levemente el límite para agua de riego.

Referencias

Salazar, FJ., Saldaña, RC., 2007. Characterization of manure from fish cage farming in Chile. *Bioresource Technology*. 98, 3322-3327.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias-INIA, Centro Regional de Investigación INIA Tamei Aike (Aysén-Patagonia). Informe Final Proyecto: Uso sustentable de lodos, procedentes de la fase de crianza de salmónidos, sobre suelos agropecuarios de origen volcánico en la Patagonia Occidental (Aysén), RCA 125/2008. 165 pp.

Ximena Rojas. 2012. Situación actual de la industria salmonera nacional en su fase de agua dulce y su potencial producción de lodos, Intesal. Seminario: Aplicación de lodos de Pisciculturas en suelos de origen volcánico, organizado por SalmonChile y el Ministerio de Medio Ambiente.

Decreto Supremo 004/2009. Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas República de Chile, Ministerio Secretaría General de la presidencia de la República.

Conclusiones Preliminares

Aunque los resultados obtenidos a la fecha son promisorios en relación al potencial uso de lodos de piscicultura como fertilizante orgánico, observándose que es posible contar con un sustrato sanitaria y ambientalmente seguro para aplicar en suelo, resulta relevante seguir evaluando las propiedades de este tipo de residuo obtenido en diferentes momentos del proceso productivo en piscicultura, así como también su efecto sobre los suelos.

Con los antecedentes levantados a nivel experimental y mediante la asesoría experta, se evaluará la factibilidad técnica y económica de escalar estos resultados y evaluar alguna iniciativa para realizar pruebas a mayor escala. Sin perjuicio de lo anterior, los resultados propuestos en este proyecto, pretenden entregar a la autoridad competente información base para la toma de decisiones, respecto a la valorización y eventual uso de un residuo industrial, para su aplicación en otra actividad productiva relevante en el territorio regional.

Cabe destacar, que la estrategia de difusión y transferencia tecnológica de este proyecto, contempla actividades de vinculación con agentes públicos y privados, relacionados con la temática en estudio.





Desde **Osorno** *...más cerca de usted...*
 Envases de **Cartón Corrugado**
 para la industria del **Salmón**



La solución
 más conveniente

- **Resistencia**
- **Calidad**
- **Servicio**
- **Cercanía**



www.roblealto.cl

Osorno: Ruta U-51 Km 13,5 - Camino Puerto Octay (Cruce Pichil)
 Fono 64-555 205

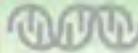
Santiago: Camino Lo Echevers 221 - Quilicura
 Fono: 02-24442400

Estar cerca nuestro mejor servicio

La prevención y control eficientes de las enfermedades animales radica en una legislación apropiada y el mecanismo de detección temprana y de respuesta rápida relativos a las enfermedades animales (OIE, 2013).



Puerto Aysén

ETECMA 
Advanced diagnostic services

Laboratorio Castro, Freire 488, Tel.: +56 65 533663

Laboratorio Puerto Montt, Diego de Almagro norte 1013, N°10, Tel.: +56 65 270850

Of. Temuco: Móvil: +56 9 6598 0214

Of. Puerto Aysén: Pangal 901, Tel.: +56 67 330580, Móvil: +56 9 6667 5300

Of. Puerto Cisnes: Rafael Sotomayor 843, Móvil: +56 9 9514 5806

contacto@etecma.cl | www.etecma.cl



Servicios de Diagnósticos

- Servicios de Histopatología
- Patología Clínica
- Secuenciación Sanger
- Secuenciación de Segunda generación
- Análisis bioinformáticos

Proyectos de investigación, desarrollo e innovación

Desarrollo de ensayos en condiciones controladas

Epidemiología clásica y molecular de enfermedades

Investigación de enfermedades de etiología desconocida

Diego de Almagro Norte N°1013, Sector Cardonal
Puerto Montt - Chile
Contacto Comercial: +56 9 7559 1878
E-mail: contacto@ciba.cl



CIBA
Centro de Investigaciones
Biológicas Aplicadas

www.ciba.cl

Perfil metabólico en Salmónidos

BASES PARA UNA ESTANDARIZACIÓN METODOLÓGICA: PARTE I



César López Riveros

Médico Veterinario, Magister(c) en Acuicultura
cesar_lopez@ucn.cl

INTRODUCCIÓN

Desde sus inicios en Chile, la salmonicultura ha incrementado enormemente su crecimiento desde unas 1.000 toneladas en el año 1985 hacia una producción líder mundial de más de 600.000 toneladas el 2007.

El incremento de la prevalencia e incidencia de enfermedades infecciosas como consecuencia de este rápido crecimiento (Bravo y col., 2005; SalmonChile Intesal, 2008), también ha sido reportado en las especies de cultivo agrícolas y de producción animal, las cuales llevan enfrentando este tipo de problemas por décadas (Tilman y col., 2002).

En el año 1986, cuando comenzaron los cultivos comerciales de salmónidos en Chile, sólo existían tres enfermedades en el cultivo, mientras que en los últimos diez años, este número llega a más de veinte enfermedades (Bustos, 2010).

El control de patógenos en la salmonicultura debe abordarse de forma temprana ya que una acción tardía mantendrá altas tasas de mortalidad, retrasos en la tasa de crecimiento de los peces, reducciones en la eficiencia de conversión del alimento y daños en la calidad del producto final.

Hoy en día, desde un punto de vista de la prevención de enfermedades, la industria nos exige buscar nuevas formas de detectar precozmente los cambios o alteraciones en el metabolismo y salud de los peces (Wagner y Congleton, 2004; Congleton y Wagner, 2006), permitiéndonos intervenir, revertir o aminorar en tiempo real el efecto de patógenos utilizando otras medidas de contención más allá de las terapias químicas, como por ej. a través de prácticas de manejo en los centros de cultivo (Wheatley y col., 1995; Madsen y Dalsgaard, 2008; Summerfelt y col., 2009) o fortaleciendo el sistema inmune con nutrientes funcionales en las dietas de los peces (Rumsey y col., 1992; Sakai, 1999; Burrells y col., 2001 a y b; Leonardi y col., 2003; Li y Gatlin, 2006; Gunther, 2007; Ringo y col., 2011; Tahmasebi-Kohyani y col., 2012).

Laboratorio clínico en Salmónidos: análisis de bioquímica sanguínea

La rama de patología clínica tanto en Medicina Humana como en Medicina Veterinaria de animales mayores y menores, uti-

liza los parámetros sanguíneos de perfil bioquímico como herramienta complementaria de rutina para detectar posibles alteraciones del metabolismo, presencia de infecciones, alteraciones en el funcionamiento de tejidos, órganos y sistemas.

Desde la perspectiva del control y prevención de enfermedades, el laboratorio clínico aplicado a la acuicultura presenta grandes desafíos en cuanto a la estandarización de métodos de obtención de muestras de sangre para su posterior análisis (etapa pre-analítica), así como también de la obtención de rangos de referencia sanguíneos de hematología y bioquímica clínica en peces sanos (etapa analítica), que sirva como línea base para el desarrollo de un método preventivo de evaluación de la condición sanitaria de los peces (Anderson y Barney, 1991; Wagner y Congleton, 2004; Congleton y Wagner, 2006; Sundh y col., 2010; Segner y col. 2012).

Para la obtención de marcadores bioquímicos sanguíneos de referencia a partir de salmónidos sanos, se debe tener presente la influencia de factores como especie, peso, estado de desarrollo, sexo, condiciones de cultivo (temperatura, salinidad, saturación de oxígeno, densidad, dieta), método empleado para la toma de muestra (anestésico usado, sitio de punción, centrifugación, grado de hemólisis) los cuales tendrán incidencia en los resultados de laboratorio. Debido a esto, el manejo de información de estos factores, determinará la validez de los indicadores sanguíneos para la generación de "rangos de referencia" de una población de peces (ver Tabla 1 y 2). El obtener información permanente sobre la fisiología y posibles trastornos metabólicos de los peces (Spannohf y col., 1979) podría permitir instaurar un método de análisis precoz del riesgo potencial de brote de enfermedades en las unidades de cultivo (Peeler y col., 2007), lo que ayudaría a las empresas salmoniculoras a tomar decisiones más informadas que lleven a aplicar medidas tempranas que reduzcan el riesgo ante un posible brote infeccioso o deterioro de los índices productivos.

Autor y año	Peso medio (g)	N	FW/SW*	Anestésico	Sitio de punción	Veloc. centrifugación Unid. Gravedad	Material biológico
Hrubec, 1999	1800	w10	FW	MS-222	Vena caudal	2750 g x 5 min	Plasma
Hrubec, 1999	1800	10	FW	MS-222	Vena caudal	2750 g x 5 min	Suero
Kubilya, 2002	147	30	FW (pond)	MS-222	Sección caudal	3000 rpm x 10 min	Suero
Atamanalp, 2002	150	9	FW	Sin formación	Vena caudal	4000 rpm x 10 min	Plasma
Atamanalp, 2003	140	11	FW (cage)	Sin formación	Vena caudal	4000 rpm x 10 min	Plasma
Atamanalp, 2003	140	11	FW (pond)	Sin formación	Vena caudal	4000 rpm x 10 min	Plasma
Rehulka, 2003	87	10	FW (tank)	Menocaina	Vena caudal	4000 g x 10 min 4°C	Plasma
Rehulka, 2004	223	10	FW	Menocaina	Vena caudal	4100 g x 10 min 4°C	Plasma
Melotti, 2004	50-450	5	FW (V1)	Sin formación	Cardiaca	3000 rpm x 20 min	Plasma
Melotti, 2004	50-540	5	FW (V2)	Sin formación	Cardiaca	3000 rpm x 20 min	Plasma
Bulut, 2004	120	10	FW	Sin formación	Vena caudal	3100xg x 10 min	Suero
Vigiani, 2005	52,5-795	174	FW	Etilenglicol	Aorta dorsal	3600 rpm x 30 min 2°C	Plasma
Rehulka, 2005	349	702	FW	Menocaina	Vena caudal	4100xg x 10 min 4°C	Plasma
wKocaman, 2005	1600-2200	10	FW	MS-222	No mencionada	4000 rpm x 15 min	Plasma
Manera, 2006	240	45	FW	Golpe cabeza	Vena caudal	2010xg x 10 min 4°C	Suero
Lupi, 2006	52-769	15 x 12	SW	Etilenglicol	Aorta dorsal	3000 rpm x 30 min 2°C	Suero
Lupi, 2006	171-377	15 x 9	SW	Etilenglicol	Aorta dorsal	3000 rpm x 30 min 2°C	Suero

* FW/SW: Agua dulce/Agua de mar.

Tabla 1. Metodología Pre-analítica utilizada en estudios de Bioquímica Sanguínea de Trucha arcoíris.

Autor y año	Peso medio (g)	N	FW/SW*	Anestésico	Sitio de punción	Velocidad de Centrifugación	Material biológico
Sandnes, 1988	1400-4200	20	SW	Sin formación	Ductus cuvieri	3000 x g	Suero
Waagbo, 1988	1000	10	SW	Sin formación	Ductus cuvieri	3000 x g	Suero
Johanning, 1989	300	68	FW	MS-222	Vena caudal	3000 x g x 15 min 4°C	Plasma
Knoph, 1996	369±70	240	SW	Metomidato	Vena caudal	1700 x g x 5 min	Plasma
Gajardo, 1997	Alevines	12	FW	Benzocaína	Arteria caudal	1000 x g x 10 min	Plasma
Gajardo, 1997	Juveniles	17	FW	Benzocaína	Arteria caudal	1000 x g x 10 min	Plasma
Gajardo, 1997	Smolt	21	SW	Benzocaína	Arteria caudal	1000 x g x 10 min	Plasma
Gajardo, 1997	Reproductores	30	FW	Benzocaína	Arteria caudal	1000 x g x 10 min	Plasma
Hemre, 1998	148	35	FW (2 dietas)	Metomidato	Vena caudal	3000 x g	Plasma
Krogdahl, 1999	1990	12	SW	Golpe cabeza	Vena caudal	1000 x g x 10 min	Plasma
Hemre, 1999	1202-2265	60	SW	Golpe cabeza	Vena caudal	1250 x g	Plasma
Hemre, 2000	14-30	-	FW	Metomidato	Vena caudal	3000 x g	Plasma
Torstensen, 2000	1500	12	SW	Metomidato	Vena caudal	Sin formación	Plasma

* FW/SW: Agua dulce/Agua de mar.

Tabla 2. Metodología Pre-analítica utilizada en estudios de Bioquímica Sanguínea de Salmón del Atlántico.

Pese al enorme avance que ha tenido hoy la industria de vacunas contra los patógenos acuáticos (Tobar y col., 2011; Adomako y col., 2012; Deshmukhy col., 2012; Shoemaker y col., 2012), a juicio del autor; aún nos queda por avanzar en la implementación de métodos preventivos que permitan monitorear con una adecuada frecuencia la condición sanitaria de los peces. Por ej. la medición de biomarcadores sanguíneos mediante métodos poco invasivos durante los muestreos de rutina en los centros de mar o agua dulce. Estos resultados deben ser entregados de forma rápida, reportando variaciones en indicadores bioquímicos que permitan tomar medidas de contención frente a factores de riesgo mucho antes que estos se hagan evidentes e impacten la salud y bienestar de los peces (Gustafson y col., 2005; Peeler y

col., 2007; Kristoffersen y col., 2009; Aldrin y col., 2010). En la actualidad existe evidencia con significancia estadística que demuestra la importancia de algunos marcadores enzimáticos que se ven incrementados a nivel sanguíneo cuando existen procesos de degeneración celular en tejidos específicos (Yousaf y Powell, 2012). La industria salmonicultra de Noruega hoy enfrenta un impacto cada vez mayor de las enfermedades de origen viral, como es el caso de la Inflamación del Músculo Esquelético y Cardíaco (HSMI), Síndrome de Cardiomiopatía (CMS) y Enfermedad del Páncreas (PD). Pese a la reducida literatura publicada sobre la correlación de indicadores metabólicos con patologías infecciosas en peces, existen estudios recientes que han reportado los efectos de estos virus sobre los niveles séricos de enzimas claves

en los procesos metabólicos celulares; como la creatin fosfoquinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH) y lipasa, enzimas ubicadas al interior de las células cardíacas, musculares y pancreáticas (Ferguson y col., 1986; Roger y col., 1991; McLoughlin y col., 1995; Houghton, 1995; Yousaf y Powell, 2012).

ETAPA PRE-ANALÍTICA: Datos básicos para un método estándar del perfil metabólico.

Peces

Los peces muestreados para determinación de rangos de referencia de perfil metabólico, en primer lugar, deben ser aquellos evaluados como “sanos y libres de enfermedades” lo cual debe ser validado por un Médico Veterinario certificador de la condición sanitaria. En segundo lugar, se debe tener conocimiento de los factores endógenos y exógenos que pueden influir en los resultados de química sanguínea como: especie, cepa genética, sexo, peso, edad o estado de desarrollo (ej. alevín, parr, pre-smolt, smolt, post-smolt, reproductor), tipo de alimentación o dieta, densidad de cultivo, temperatura del agua de los estanques o jaulas, nivel de saturación de oxígeno del agua, mg/L de oxígeno, caudal, horas de luminosidad, presencia o ausencia de tratamientos farmacológicos, entre otros factores (Montero y col., 1999; Rehulka, 2000; Hrubec y col., 2001; Percin y Konyalioglu, 2008; Svobodova y col., 2009; Gustavsson y col., 2010).

Los rangos de referencia de peces sanos que se obtengan de la población evaluada, serán válidos sólo para las condiciones predeterminadas de cultivo donde habiten los peces.

Toma de muestra

El método pre-analítico de elección para la extracción de muestras de sangre para perfil metabólico, debe ser de baja invasividad y que no implique el sacrificio de los peces. Una de las técnicas de obtención de muestras sanguíneas en terreno más indicada para estos fines, es la propuesta por Clark y col., 2011; la cual será descrita más adelante, en el proceso de muestreo.

En cuanto al volumen de muestras a analizar, el N de muestreo debe ser representativo de la población de peces que va ser evaluada, debiendo requerirse al menos 120 ejemplares para la confección de rangos de referencia (Solberg, 2004).

Otro punto importante a definir, es el uso del material biológico a utilizar para el análisis de perfil metabólico. El suero y el plasma son similares en que ambos representan el componente de fluido de la sangre (ver Figura 1), sin embargo, el plasma contiene factores de coagulación que no están presentes en el suero (Hrubec y Smith, 1999).

Protocolo de anestesia

Previo a la obtención de la muestra de sangre, los peces deben ser anestesiados para minimizar artefactos en los resultados y permitir una adecuada toma de muestra con el menor estrés posible (Sneddon, 2012). Los peces del muestreo deben ser de-



Figura. 1. Muestra de plasma sanguíneo en tubo eppendorf.

positados en acuarios o tinajas de muestreo que contengan la misma calidad de agua en la cual son mantenidos, ya sea agua marina o agua dulce, según corresponda. Existen diversos estudios que muestran que el estrés asociado con el manejo de los peces puede reducirse con eficacia mediante el uso de agentes anestésicos. El Metomidato ha reportado efectos de reducir el estrés de manejo en el salmón del Atlántico y salmón Chinook, mientras que el isoeugenol se ha encontrado eficaz en la reducción de la tensión en Salmón del Atlántico y el metasulfonato de triclaína (MS-222) ha inhibido la respuesta al estrés en relación al manejo de la trucha arco iris (Davis y Griffin, 2004; King y col., 2005). Hoy en día no existe un único anestésico que cumpla con todos los requisitos deseados, no obstante, la solución de metasulfonato de triclaína (MS-222) es una de las más empleadas debido a su fácil aplicación en terreno y amplio margen de seguridad como agente anestésico (Carter y col., 2011). La dosis recomendada del MS-222 para extracción de muestras de plasma sanguíneo es de 100 mg/L con una exposición de 2 minutos/pez para inducción rápida en Salmón del Atlántico (Congleton, 2006; Popovic y col., 2012). Una vez aplicado el producto en el agua, debe ser bien mezclado para homogeneizar la solución anestésica. Cuando se observe que los peces han perdido la estabilidad para nadar (pérdida total del equilibrio) y la región abdominal se gira adquiriendo una postura lateral (reducción del tono muscular), quiere decir que se encontrarán en fase leve de anestesia (Sneddon, 2012). Otro comportamiento que demuestra este estado de insensibilización, es una notoria reducción de los movimientos operculares. El pez bajo esta condición, debe ser extraído rápidamente y depositado sobre bandejas de trabajo (sujetadores). Con el fin de asegurar una adecuada obtención de muestra, deben cumplirse los siguientes pre-requisitos para la aplicación de anestesia:

- Asegurar un ayuno de 12 horas.
- Monitoreo del % de saturación de O₂ y del OD (mg/L), asegurando una adecuada aireación.
- Monitoreo del pH de la solución: Si el pH baja a ≤ 5 , es necesario adicionar bicarbonato de sodio como buffer a una

cantidad de 2 ppm por cada ppm de tricaina. Esto también puede abordarse cambiando la solución de tricaina cada 25 peces.

Muestreo de sangre en terreno

1. Punción de la vena caudalis

Una vez depositado el pez sobre la bandeja de sujeción, el muestreador utilizando guantes estériles debe puncionar la vena caudal con una jeringa de 5 ó 10 ml con aguja de 21 ó 23 G. Para ello se debe introducir la aguja en ángulo de 45° a la superficie ventral del pez con el bisel de la aguja mirando hacia arriba, en la zona ubicada detrás de la aleta anal (pedúnculo caudal). Al momento de observar que se ha iniciado el flujo de sangre dentro de la jeringa, no ejercer una presión excesiva con el embolo de la jeringa para evitar la hemólisis de la muestra. Se ha reportado diferencias significativas en los resultados de sangre cuando se procesan muestras de plasma hemolizadas versus no hemolizadas (Hrubec y Smith, 1999). Una vez que se ha extraído un volumen de 4 ml de sangre fresca, se debe retirar la aguja de la jeringa antes de colocar la sangre en los tubos vacutainer® con anticoagulante heparina-litio (ver figura 2).

Una vez depositada la muestra por las paredes del tubo, ésta debe agitarse muy suavemente para mezclar la sangre con el anticoagulante. Se debe evitar la agitación brusca del tubo ya que esto aumenta el grado de hemólisis (Hunn y Greer, 1991). Idealmente repetir la agitación suave unas 10 veces para asegurar una distribución homogénea del anticoagulante. Todos los tubos (vacutainer® y eppendorf) que sean utilizados para el muestreo de sangre, deben estar previamente rotulados.

2. Centrifugación en terreno para separación de plasma y elementos figurados

Una vez mezclada la sangre con la heparina-litio, con una micropipeta de 200-1000 μL se debe extraer una alícuota de 1,5 ml de sangre heparinizada y depositarla en tubos eppendorf de 2 ml de capacidad. Cada muestra de sangre obtenida por pez (>100 g), permite rellenar dos tubos eppendorf; los cuales deben ser centrifugados in situ durante el examen de terreno (ver figura 3). El equipo

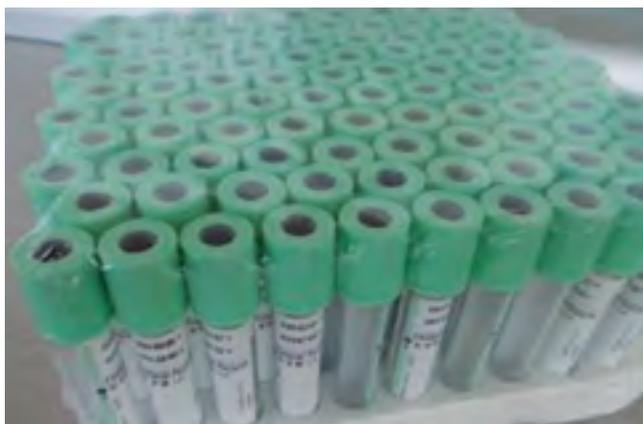


Figura 2. Tubos de heparina se utilizan en la extracción de sangre y la anticoagulación para perfil metabólico.

de elección para ser usado en terreno, por su fácil manipulación es una mini-centrifuga portátil que alcance una velocidad máxima de unos 15.000 rpm. La velocidad estándar recomendada de centrifugación para obtención de plasma es de 7.000 x g por 5 minutos a temperatura ambiente de acuerdo al método descrito por Clark y col., 2011.

Una vez finalizada la centrifugación, se debe separar el plasma del precipitado rojo (eritrocitos y glóbulos blancos). El plasma de ambos tubos, debe ser transferido a un nuevo tubo, tomando la precaución de no tocar la interfase (capa que separa las fases clara y precipitada) para que no se produzca una contaminación de la muestra.



Figura 3. Mini-centrifugas con capacidad desde 12 tubos son recomendadas para uso en terreno.

3. Transporte y conservación de muestras de plasma.

Los tubos de plasma resultantes de la centrifugación deben trasladarse a una nevera cargada con hielo para mantenerlos en cadena de frío (0°C) hasta su llegada al laboratorio donde deben conservarse a -20° C hasta su análisis en el equipo autoanalizador.

ETAPA ANALÍTICA: Procesamiento de las muestras

El plasma obtenido de las muestras de sangre de los peces, debe ser procesado en un auto-analizador clínico que permita la lectura de los parámetros bioquímicos deseados.

Actualmente existen en el mercado variadas marcas y modelos de equipos clínicos de medición de perfil bioquímico (ver figura 4), sin embargo, una limitante para el uso en salmónidos es que las unidades están diseñadas para ser usadas en humanos y mamíferos. Estos equipos están calibrados para producir reacciones químicas a una temperatura estándar de 37°C, muy superior a las temperaturas sanguíneas de los peces de agua fría. Esto nos lleva a concluir que a la fecha la información publicada sobre parámetros plasmáticos o séricos en peces de agua fría, ha sido en base a temperaturas de reacción que escapan a la fisiología normal, reportándose en algunos casos picos de valores en ciertas enzimas que sobrepasan las curvas de linealidad de reacción con las que trabajan los equipos clínicos (Congleton y LaVoie, 2001). En cuanto a las recomendaciones de uso de estos equipos, éstos deben ser calibrados en cada nuevo período que se han procesado muestras de plasma. De modo de asegurar una alta precisión de los análisis, el equipo requiere diariamente de una estandarización completa de los métodos químicos a través del uso de sueros con rangos de parámetros conocidos (suero fisiológico y suero patológico respectivamente).

Los indicadores plasmáticos normalmente analizados para bioquímica del plasma en peces son:



Figura 4. Bandeja de reacción y bandeja de reactivos para muestras de plasma en equipo autoanalizador clínico.

Enzimas: aspartato amino transferasa, alanino amino transferasa, fosfatasa alcalina, creatinquinasa, lactato deshidrogenasa, amilasa pancreática, lipasa pancreática.

Metabolitos: bilirrubina total, urea, creatinina.

Nutrientes: proteínas totales, albúmina, glucosa, colesterol total, triglicéridos.

Minerales: calcio, fósforo, magnesio, sodio, cloro, entre otros. (ver Tabla 3).

Abreviatura	Parámetro bioquímico	Unidad de medida
PT	Proteínas totales	g/dl
ALB	Albumina	g/dl
COL	Colesterol	mg/dl
TG	Triglicéridos	mg/dl
URE	Urea cinética	mg/dl
CREA	Creatinina cinética	mg/dl
GPT/ALT	Alanino amino transferasa	U/l
GOT/AST	Aspartato amino transferasa	U/l
ALP/SAP	Fosfatasa alcalina	U/l
CK	Creatin fosfoquinasa	U/l
GLU	Glucosa	mg/dl
LDH	Lactato deshidrogenasa	U/l
BT	Bilirrubina Total	mg/dl
AMI	Amilasa pancreática	U/l
CA As	Calcio	mg/dl
FOS	Fósforo	mg/dl
MG	Magnesio	mg/dl

Tabla 3. Unidades de medida de Biomarcadores sanguíneos.

Si queremos obtener datos fidedignos de perfil metabólico en salmónidos u otros peces de cultivo, primero debemos controlar los puntos críticos pre-analíticos, ya que los últimos trabajos realizados en esta especialidad evidencian que el mayor porcentaje de errores hoy se concentra durante la toma de muestra o etapa pre-analítica (Plebani, 2009).

Generación de Rangos de Referencia de acuerdo a un método estándar.

Son múltiples los estudios que reportan el potencial que posee el uso de parámetros sanguíneos de perfil metabólico para eva-

luar la condición productivo-sanitaria de los peces (Blaxhall, 1972; Sandnes y col., 1988; Houston, 1997; Hrubec y Smith, 1999; Kavadias y col., 2003; Kocaman y col., 2005; Lupi y col., 2006; Clauss y col., 2008; Kopp y col., 2011).

Si bien hoy en día, la industria salmonicultora cuenta con avanzados servicios de diagnóstico de patologías infecciosas; en cuanto a los servicios de muestreo y análisis de sangre para laboratorio clínico, como la determinación de hemograma y perfil bioquímico sanguíneo en los peces, hasta el momento no se cuenta con una base de datos confiable de los rangos de referencia sanguínea para cada especie de salmónido según su etapa de desarrollo y bajo condiciones de cultivo específicas.

El conocimiento de rangos de referencia sanguínea disponible para la salmonicultura nacional, se reduce sólo a literatura científica de los años 80 y 90 donde se describen rangos de perfil bioquímico para Trucha arcoíris (Hille, 1982), Salmón del Atlántico (Sandnes et al., 1988), familia Salmonidae (Stoskopf, 1993) y algunos estudios nacionales de perfil metabólico (Castillo, 1989; Ordoñez, 1991; Universidad de Los Lagos y Gajardo, 1995; Herrera, 2004; LPCV Universidad Austral de Chile, 2004; Biovac, 2010). A la fecha, la escasez de información representativa respecto a la fisiología sanguínea de salmónidos bajo condiciones de cultivo, imposibilita que este método tenga un real valor predictivo y de complemento al diagnóstico de enfermedades de peces como ocurre en otras producciones animales.

A raíz de esto, hoy en día a nivel nacional se están desarrollando proyectos de investigación aplicada con el fin de generar nuevos conocimientos para lograr una estandarización del método pre-analítico y procesamiento de las muestras sanguíneas en salmónidos de cultivo.

Todo esto, con el objetivo de entregar datos confiables que permitan construir rangos de referencia para cada especie, de acuerdo a su etapa de desarrollo y condición específica de cultivo.

En Resumen, mediante la estandarización de los métodos de medición, la bioquímica sanguínea en peces podría adquirir un mayor valor y demanda como examen de rutina en la acuicultura. Para lograr esto, el examen de perfil metabólico deber ser de baja invasividad y que asegure la toma de muestras seriadas en terreno; entregando un conocimiento objetivo sobre la condición sanitaria, nutricional y metabólica de los peces de forma oportuna y confiable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Para información de referencias del artículo consultar al autor a través de correo electrónico.



SANITARY DIVISION

BY

TECH
O P E R A



UPB Y UPB (SP) ES EL RESULTADO DE AÑOS DE INVESTIGACIÓN Y EXPERIENCIA DE TECNICA POMPE EN EL DESARROLLO DE SU PROYECTO TAD, REALIZADO EN EL ÁMBITO DEL TRASIEGO DE LOS PRODUCTOS ALIMENTARIOS DELICADOS.

ESTRUCTURA COMPACTA QUE TRATA DE COMBINAR LA EFICACIA Y DELICADEZA EN UN SISTEMA DE FLUJO VANGUARDISTA Y ESTUDIADO CON GRAN PRECISIÓN PARA LAS EXIGENCIAS MÁS DIFERENTES DE TRASIEGO DE LOS PRODUCTOS ALIMENTARIOS DELICADOS, PREVIO Y/O DENTRO DE LOS SISTEMAS DE PROCESO.

UTILIZANDO EL AGUA U OTRO PRODUCTO LÍQUIDO COMPATIBLE COMO VEHÍCULO, ES POSIBLE DE TRANSPORTAR CLASIFICANDO A LA VEZ LOS PRODUCTOS MÁS DIFERENTES EN LA INDUSTRIA AGRO-ALIMENTARIA, CONSERVERA Y DE LA ACUICULTURA. ESTE ÚLTIMO, ES UN SECTOR DONDE EL RESULTADO ES PROBABLEMENTE MÁS IMPACTANTE DEBIDO A LA PECULIARIDAD, DISPARDIDAD Y MULTITUD DE SITUACIONES, ARGUMENTOS Y BIOMASAS TRATADAS.

UPB



TECNOLOGÍA SANITARIA PARA LA ACUICULTURA Y MITILICULTURA

UNIDADES DE BOMBEO DE CONSTRUCCIÓN ALIMENTARIA SANIFICABLES CON LAVADOS QUÍMICOS HASTA 128° C.



info@latin-alliance.com

www.techin-opera.it

Para Chile: Diego De Almagro Norte 1518 - Puerto Montt

Tel. +56 65 2 262621 Fax +56 65 2 262622

Entirely made in Italy

ESTUDIO DE LAS RELACIONES FILOGENÉTICAS de aislados de *Listeria monocytogenes*, obtenidos de la industria acuícola



Pablo Santibáñez^{1*}, J.P. Pontigo¹, L. Rivera¹, P. Proschle², J. Toro², E. De la Fuente.

¹Departamento de Innovación y Desarrollo, Aquagestión S.A.

²División Inocuidad Alimentaria, Aquagestión S.A.

*e-mail address: pablo.santibanez@aquagestion.cl

RESUMEN

Actualmente, la industria acuícola y otras no relacionadas al sector, diariamente combaten contra la bacteria de las plantas limpias, *Listeria monocytogenes*, agente causal de un cuadro infeccioso en humanos conocido como Listeriosis. Esta bacteria genera pérdidas millonarias en la producción del país por concepto de contaminación de productos listos para el consumo humano. La gran problemática e incógnita a resolver por la industria, es el determinar con precisión el origen de la contaminación por este patógeno, así como determinar sus posibles vectores de transmisión, factores asociados a la prevalencia y resistencia a la descontaminación y desinfección.

En este trabajo, exponemos los resultados obtenidos de la genotipificación de 13 aislados de *L. monocytogenes* obtenidos de la industria nacional, donde logramos con éxito establecer las relaciones filogénicas entre las cepas estudiadas. Este estudio provee las bases para investigaciones aplicadas al área de desarrollo y nos entrega las herramientas moleculares necesarias para ir a la caza de *Listeria monocytogenes* en la industria acuícola, las que permitirán obtener una radiografía detallada de la situación de este patógeno en el sector.

dad de formar biofilms sobre superficies de trabajo y equipos, contaminando los alimentos que allí se procesan. Estas características en conjunto, hacen inviable una solución final que nos permita erradicar *L. monocytogenes* de la industria.

En el sector acuícola, este patógeno ha sido aislado de muchos productos marinos, incluidos crustáceos, moluscos y peces, tanto frescos como congelados o procesados. La presencia de *L. monocytogenes* se ha detectado en un 25% de muestras analizadas de pescado ahumado, a cantidades tan altas como 10⁴ ufc/g. La razón para la preocupación del sector, se debe a que durante el proceso de marinado y ahumado del pescado, *L. monocytogenes* no es inactivada, permaneciendo viable y lista para dividirse durante el periodo de refrigeración (Guyer *et al.* 1991). Además, puede presentarse de manera persistente en las plantas de proceso, como fuente de contaminación para otros alimentos procesados, generando un riesgo potencial para la salud de los consumidores y cuantiosas pérdidas económicas para las empresas involucradas en los brotes, además de una grave pérdida de credibilidad como marca ante la sociedad.

INTRODUCCIÓN

La listeriosis es una enfermedad de baja frecuencia, pero con una tasa de letalidad del 20-30%. El agente responsable es *Listeria monocytogenes*, bacilo, Gram positivo, oportunista, facultativo intracelular, microaerófilo, móvil a 25°C, ampliamente diseminado en el medioambiente, y cuya principal ruta de contagio al ser humano, es a través de la ingesta de alimentos contaminados, en especial, aquellos en formato "ready to eat" y aquellos con tiempos prolongados de refrigeración.

Las Listerias sobreviven mucho tiempo en los alimentos, suelo arable, excretas, cultivos de huertas y agua, debido a que se pueden multiplicar dentro de un amplio rango de pH, entre 4.4 y 9.5 y entre una temperatura de -1 a 45°C, soportando concentraciones de sal tan altas como un 20%. Además, en la industria alimentaria el patógeno sobrevive a los procesos de limpieza e higienización debido a su capaci-

Caso	Empresa	Origen Muestra	Tipo Muestra	Ciudad Origen	Procedencia
1025_10	A	Esjonja	Muestra peces, 4to lance	Aysén	Centro
1199_5	A	Esjonja	Maquina eviscerado	Chiloé	Planta Primaria
1058_4	B	Producto	Producto Salmón Atlántico	Puerto Montt	Planta Proceso
1296_5	B	Producto	Producto Salmón Atlántico	Puerto Montt	Planta Proceso
1425_35	B	Producto	Producto Salmón Atlántico	Puerto Montt	Planta Proceso
1647_4	B	Producto	Productos Trucha	Puerto Montt	Planta Proceso
1747_12	B	Producto	Productos	Puerto Montt	Planta Proceso
2289_5	C	Queso	Queso Gauda	Osorno	Planta Proceso
2381_1	D	Queso	Queso ahumado	Chiloé	Planta Proceso
3296_2	E	Esjonja	Carro cocedor	Chiloé	Planta antes inicio proceso
3296_9	E	Esjonja	Clasificador congelado	Chiloé	Planta antes inicio proceso
6279_1	F	Mantequilla	Mantequilla	Osorno	Planta
6283_1	F	Mantequilla	Mantequilla	Osorno	Planta

Tabla 1. Aislados de *Listeria monocytogenes* secuenciados en este estudio.

Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo dilucidar las relaciones filogenéticas entre diferentes cepas de *L. monocytogenes* pertenecientes a la empresa Aquagestión S.A. aisladas de diferentes industrias. Para llevar a cabo el tipificado molecular de este patógeno, existen numerosas metodologías y procedimientos, cada una con sus ventajas y desventajas. Nosotros, iniciamos este estudio utilizando como estrategia de tipificado molecular, análisis de secuencias multi locus, MLST (Multi Locus Sequence Typing), análisis de repeticiones directas en tándem, conocidas como VNTRs (MLVA analysis) y secuenciación parcial del gen 16S.

MÉTODOS

Una selección de 13 aislados de *Listeria monocytogenes* crecidos en agar alógeno cromogénico (Tabla 1), confirmados por inmunoensayo (API Listeria strips, BioMerieux) y secuenciados parcialmente para el gen ribosomal 16S, fueron genotipificados usando como blancos genéticos los polimorfismos de secuencia, previamente descritos para 7 genes de este patógeno, MLST typing (Salcedo *et al*, 2003) (Fig.1). Siendo verificados por PCR tiempo real con sonda y los serovares determinados por medio de un PCR multiplex (Doumith *et al*, 2004) (Fig. 2 y Tabla 2). Posterior a la verificación y certificación de las cepas, se realizó la PCR a los genes polimórficos seleccionados y los productos generados, fueron enviados a secuenciar (Macrogen, Korea).

El análisis de secuencias, alineamientos múltiples, construcción de árboles filogenéticos se realizó principalmente utilizando el Software Vector NTI 11 (Invitrogen). Como herramientas de apoyo se usó MEGA 5.2 para la construcción y visualización de árboles filogenéticos, Chromas 2.4.1, para la revisión de cromatogramas de secuencias y aplicaciones libres disponibles en el servidor del Instituto Europeo de Bioinformática (<http://www.ebi.ac.uk/>).

Para el análisis de las repeticiones directas en tándem, se realizó un PCR convencional para cada loci-VNTR seleccionado en estudio, y los fragmentos de ADN obtenidos fueron resueltos, primero por electroforesis en gel y luego en un sistema de electroforesis capilar líquida de alta resolución, Multina (Shimadzu). (Tabla 3).

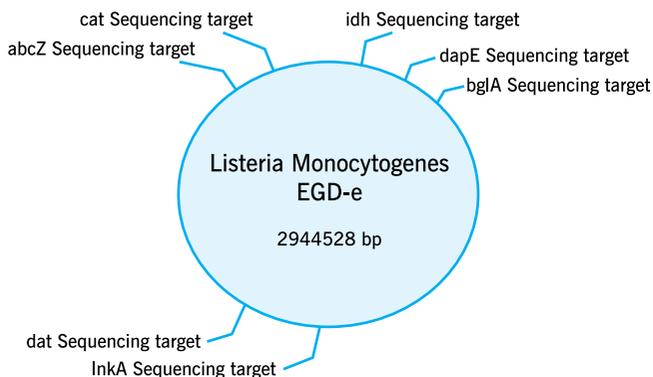


Figura 1. Genoma de *Listeria monocytogenes*. Se observan los genes constitutivos (*housekeeping genes*) que fueron secuenciados en este estudio. *abcZ*, (*ABC transporter*), *cat* (*catalase*), *idh* (*lactate deshidrogenase*), *dapE* (*succinyl-diaminopimelate desuccinylase*), *bglA* (*β glucosidase*), *dat* (*D-aminoacid aminotransferase*), *inkA* (*Histidine kinase*).

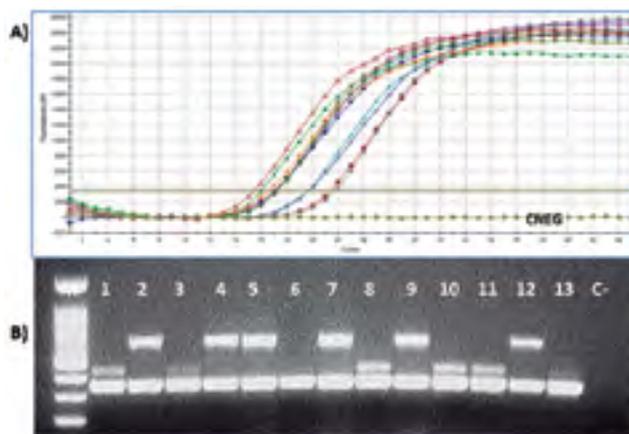


Figura 2. Reacción en cadena de la polimerasa para *L. monocytogenes*. A) PCR tiempo real para la detección de *Listeria*. PCR para los diferentes aislados de *Listeria* seleccionados, utilizando sonda específica para la detección de *L. monocytogenes*. B) Determinación de los Linajes y grupos filogenéticos de *Listeria*. Electroforesis en gel para los amplicones generados por PCR multiplex para los diferentes aislados de *L. monocytogenes*. Los carriles del 1-13: *L. monocytogenes* 1025-10; 1058-4, 1199-5, 1296-5, 1425-35, 1647-4, 1747-12, 2289-5, 3296-2, 3296-9, 6279, 6283; respectivamente (serovares resumidos en Tabla 2). Además del control negativo (C-) de la reacción. El carril M fue el estándar de 100 pb utilizado.

RESULTADOS

Para el análisis de secuencias multi locus (MLST), cada uno de los 7 genes secuenciados por aislado de *Listeria*, fue contrastado con una base de datos, con el objetivo de establecer a que variante alélica corresponde cada gen evaluado. A su vez, la combinación de todos los alelos estudiados por cepa, se relaciona a un genotipo claramente establecido, definido como ST (Sequence Type) (Tabla 2). Los genotipos, asociados a sus casos respectivos, fueron relacionados en árboles filogenéticos, para la interpretación de resultados y extracción de conclusiones (Fig. 3).

CASO	Genes / Alelos							Genotipo	Serovares
	abcZ	bglA	cat	dap	dat	idh	InkA	ST	
1025_10	11	1	48	3	2	1	31	426	1/2b, 3b, 7
1199_5	11	5	48	3	2	1	31	426	1/2b, 3b, 7
1647_4	11	1	48	3	2	1	31	426	1/2b, 3b, 7
2289_5	3	9	9	3	3	1	5	6	1/2b, 3b, 7
6283_	3	1	1	1	3	1	3	1	4b
3296_2	2	1	11	3	3	1	7	5	1/2b, 3b, 7
3296_9	2	1	11	3	3	1	7	5	1/2b, 3b, 7
6279	23	5	10	30	6	6	1	124	1/2a, 3a
1058_4	5	6	2	9	5	3	1	8	1/2a, 3a
1296_5	7	6	8	8	6	37	1	121	1/2a, 3a
1425_35	7	6	8	8	6	37	1	121	1/2a, 3a
1747_12	7	6	8	8	6	37	1	121	1/2a, 3a
2381_1	7	15	15	8	6	14	9	101	1/2a, 3a

Tabla 2. Resumen de los alelos y genotipos obtenidos del análisis de secuencias.

Un 53.85% del total de cepas genotipificadas, pertenecen al Linaje I de *Listeria monocytogenes*, grupo filogenético I.1, Serovar 1/2a-3a, genotipos ST variables (Tabla 2), con predominancia del

genotipo ST426. El 46.15% restante, corresponden a aislados del Linaje II de *L. monocytogenes*, grupo filogenético II.2.Serovar 1/2b-3b-7, genotipos ST variables, con predominancia del genotipo ST121, datos correlacionados con la agrupación expuesta en el árbol filogenético (Fig. 3 y 4).

El análisis de secuencias determinó la presencia de 8 genotipos ST o perfiles alélicos, los cuales se distribuyeron en 2 clúster de cepas bien definidos, que se corresponden al Linaje I y II de *L. monocytogenes*. Como se observa en el árbol filogenético desprendido del análisis (Fig. 3.B). El clúster 1, se puede subdividir en 2 subgrupos claramente definidos, en el cual destaca el subgrupo 1, con los aislados

Caso	VNTR LMV1		VNTR LMV2		VNTR LMV6		VNTR LMV7		VNTR LMV9	
	Tamaño	ALELO	Tamaño	ALELO	Tamaño	ALELO	Tamaño	ALELO	Tamaño	ALELO
1747_12	307 pb	1	120 pb	No deter.	193 pb	4	394 pb	1	454 pb	1
1296_5	309 pb	1	121 pb	No deter.	194 pb	4	394 pb	1	418 pb	1
2381_1	317 pb	1	118 pb	No deter.	194 pb	4	391 pb	1	454 pb	1
1647_4	315 pb	1	125 pb	No deter.	209 pb	5	375 pb	1	-	NULL
1025_10	314 pb	1	124 pb	No deter.	209 pb	5	377 pb	1	419 pb	1
3296_9	315 pb	1	124 pb	No deter.	209 pb	5	392 pb	1	454 pb	1
1058_4	317 pb	1	-	No deter.	195 pb	4	433 pb	3	448 pb	1
6279	314 pb	1	119 pb	No deter.	194 pb	4	399 pb	1	417 pb	1
2289_5	295 pb	1	-	No deter.	262 pb	8	374 pb	1	418 pb	1
1425_35	310 pb	1	117 pb	No deter.	195 pb	4	396 pb	1	445 pb	1
3296_2	314 pb	1	127 pb	No deter.	209 pb	5	393 pb	1	446 pb	1
1199_5	312 pb	1	125 pb	No deter.	211 pb	5	376 pb	1	446 pb	1
6283	306 pb	1	125 pb	No deter.	197 pb	4	367 pb	1	416 pb	1

Tabla 3. Resumen de los alelos obtenidos mediante análisis de VNTRs (MLVA), para los aislados de *L.monocytogenes*.

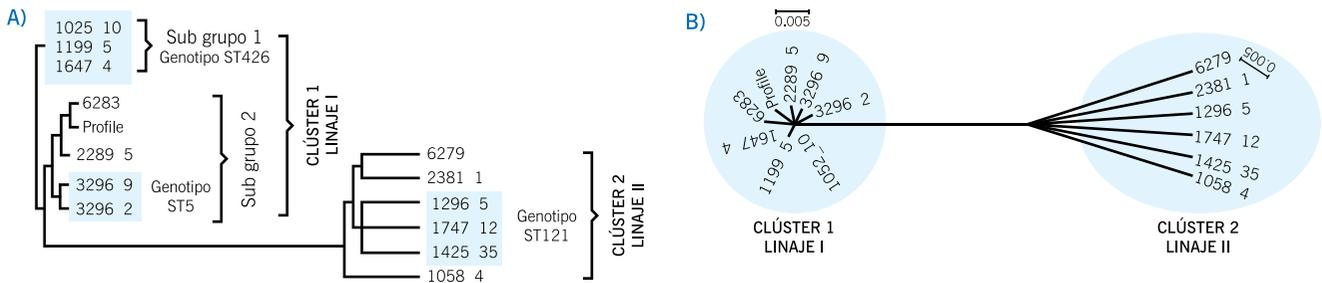


Figura 3. A) Árbol filogenético de los diferentes aislados de *L. monocytogenes*. Se realizó un análisis filogenético de Neighbor-joining de las secuencias de los genes housekeeping, utilizando el modelo de evolución de Kimura (Kimura correction). Para ello se utilizaron los programas vector NTI advance, MEGA 5.2 y clustalW2. B) Árbol filogenético radiado de los aislados de *L. monocytogenes*.

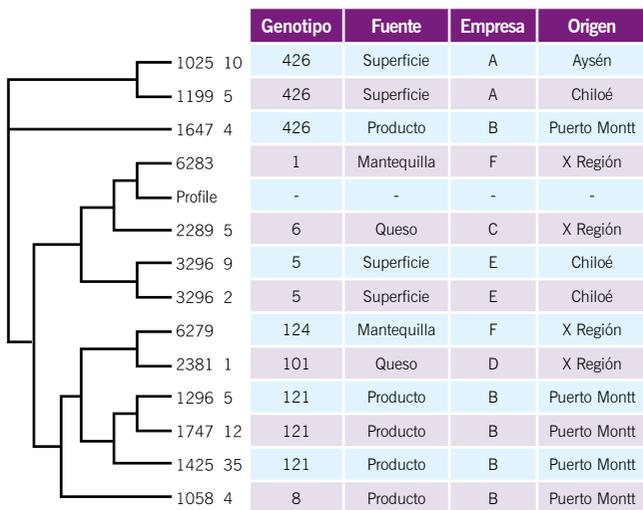


Figura 4. Cladograma de *L. monocytogenes*. Derivado del árbol filogenético, esta interpretación de los resultados permite la visualización de la topología genética de las cepas. Se especifica el genotipo del aislado, fuente del muestreo, la procedencia y el lugar geográfico.

1025_10, 1199_5 y 1647_4 que presentan el mismo genotipo ST426 y los aislados del subgrupo 2, 3292_2 y 3292_9 con genotipo ST5. En ambos casos hablamos de cepas pertenecientes a un grupo monofilético, correspondiendo a los mismos clones en cada subgrupo. En el clúster 2, para los aislados 1747_12, 1425_35 y 1296_5, observamos que son el mismo clon con genotipo ST121.

El análisis de secuencia demostró un 5.7% de polimorfismo a nivel de secuencia nucleotídica en las 3288 pares de bases analizadas y el % GC observado en todos los alelos fue de 36.5% a 43.3%, consistente con el 39% del genoma de *Listeria monocytogenes*-EGDe.

DISCUSIÓN

La genética de *Listeria monocytogenes* es diversa y heterogénea. La estructura filogenética fue investigada para proveer una visión de las relaciones de parentesco entre aislados obtenidos de Aquagestión S.A.

Hay numerosas alternativas para el tipificado molecular de *L. monocytogenes*, como el ribotyping, electroforesis en gel de campo pulsante, análisis de número de repeticiones en tándem

(MLVA), Tipificado de secuencia multi locus, usando genes de virulencia o genes constitutivos (*housekeeping genes*), entre muchos más. En este estudio, nos inclinamos por el uso de genes *housekeeping* para el tipificado molecular, ya que estos se consideran más imparciales desde el punto de vista de la estructura poblacional, es decir, sus polimorfismos son más cercanos a la neutralidad y muy rara vez se han asociado a transmisión genética horizontal. En cambio, los genes de virulencia, si bien proveen de mejor discriminación que los genes constitutivos, estos pueden mostrar atenuación por mutaciones a lo largo de la mantención de las cepas en placas, reflejando la adaptación ecológica o presión selectiva sobre las cepas. El índice de diversidad (*Simpson diversity index*) para MLST typing es de 0.891.

En este estudio, evaluamos otras dos metodologías para la discriminación de aislados de *Listeria monocytogenes*. La secuenciación parcial del gen 16S ribosomal, no permitió una discriminación entre los aislados de *L. monocytogenes* estudiados (datos no mostrados). Por otro lado, el análisis de VNTRs, si bien, mostró cierto grado de polimorfismo para los loci estudiados, no generó la suficiente diversidad alélica para la construcción de un árbol filogenético, sumado, a que la estandarización de esta metodología es más compleja e incluye un 5% de error en la estimación del tamaño de los fragmentos, debido a la capacidad resolutoria del equipo utilizado. Esto se suma, a que las bases de datos disponibles usando estudios de VNTRs son

limitadas, restricción importante al momento de estudiar los perfiles genéticos obtenidos.

Algunos genotipos pueden estar ampliamente distribuidos a través de la industria. En nuestro estudio, damos cuenta de que los genotipos ST426 y ST121 representan cerca del 50% de los aislados tipificados. De manera interesante, destacamos algunas observaciones desprendidas durante esta investigación:

1. Para la planta A (Figura 5), nosotros tipificamos dos cepas aisladas de superficie, una proveniente de un centro en región de Aysén y la otra a una planta de proceso en Chiloé. El resultado de los análisis determinó que las dos cepas, a pesar de la distancia geográfica y a que provienen de distintas etapas productivas de la empresa A, resultaron tener el mismo genotipo ST426. Esto sugiere en primera instancia, que existe una ruta de contaminación cruzada o un vector asociado a la transmisión de *L. monocytogenes* al interior del proceso de manufactura de la planta citada. Otra planta, aparentemente no relacionada en Puerto Montt, presentó el genotipo ST426. Este hallazgo, puede deberse a vectores de contaminación no identificados entre las plantas de proceso, o a que este genotipo tiene una prevalencia más alta en la región.

2. Para la planta B, se seleccionaron cepas en un espacio de tiempo de 1 mes, coincidiendo los genotipos al inicio y al final del tiempo de muestreo. Esto es evidencia, de que la planta B tiene una contaminación persistente, que no ha podido ser controlada en la ventana de tiempo evaluada, fenómeno probablemente relacionado a la formación de biofilms al interior de la planta.

3. Además, todos estos genotipos aislados de la planta B, están relacionados a una misma clase de alimento proveniente de Salmón del Atlántico, como se observa en el Clúster II del árbol filogenético (Fig. 3), a excepción de una cepa que proviene de producto final de Trucha, perteneciente al Linaje I de *L. monocytogenes*.

4. Determinamos que el 50% de los aislados estudiados, son representados por dos genotipos, el ST121 y ST426, mientras que el resto de genotipos, se distribuyeron cercanos a estas cepas.

5. En el caso de la empresa F, logramos determinar la presencia de dos genotipos en la misma planta, los cuales no están relacionados. Esto es evidencia, de la presencia de más de una cepa de *Listeria* al interior de esta planta de proceso.

6. Es interesante que para la planta F obtuvimos el genotipo ST1 de *L. monocytogenes*, el cual se ha relacionado con brotes epidémicos reportados en Francia 1989 y Suecia 1995.

La principal fuente de contaminación de los alimentos, se debe a contaminación cruzada en el ambiente de trabajo al interior



Figura 5. Distribución geográfica de los principales aislados de *L. Monocytogenes*. En rojo se destacan las zonas correspondiente a las diferentes localización de las empresas.

de las plantas de proceso, fenómeno amplificado por la naturaleza psicrotrófica de *L. monocytogenes* y su capacidad de adherirse a varias superficies, incluido el acero inoxidable, donde es capaz de comenzar la formación de biofilm en un tiempo menor a 1 hora post adhesión a la superficie. Es importante recordar, que este patógeno es un saprófito medioambiental, el cual no necesita infectar animales para subsistir y propagarse.

Hay estudios de tipificado molecular, que han demostrado la presencia del mismo genotipo de *L. monocytogenes* incluso 10 años después del primer aislamiento en una planta, lo que da cuenta, de que en el transcurso del periodo señalado, nunca hubo una erradicación de este patógeno en el proceso de elaboración de alimentos. Otro estudio realizado en plantas de proceso y ahumado de pescado (Wulf *et al*, 2005) indicó que las cepas de *L. monocytogenes* aisladas de este tipo de industria, están estrechamente relacionadas a nivel genético, pudiendo estar especialmente adaptadas a colonizar equipamiento relacionado a esta industria o ser resistentes a la desinfección. En este mismo sentido, otro estudio determinó que ciertos genotipos son más frecuentes en muestras provenientes de productos de la industria acuícola y estos difieren de los aislados provenientes de otros alimentos, revelando un aparente tropismo de ciertos clones de *L. monocytogenes* por esta clase de alimentos, lo que tal

vez refleja, presiones selectivas del medio o evolutivas para favorecer ciertos genotipos en la industria acuícola. (Murphy *et al*, 2007).

CONCLUSIONES

Hemos realizado con éxito la genotipificación de *L. monocytogenes*, estableciendo así diferentes genotipos de este patógeno, provenientes del sector acuícola y otras industrias no relacionadas, como la láctea.

La aplicabilidad de esta metodología está en la posibilidad de identificar claramente posibles fuentes de contaminación y las rutas por las cuales este organismo se disemina dentro de la industria.

Datos epidemiológicos, de gran valor al momento de estudiar los brotes de *L. monocytogenes*, así como el comportamiento de estos.

Futuros estudios son requeridos para determinar si este espectro de genotipos identificados se encuentran en otro tipo de alimentos o plantas, si poseen resistencia a la desinfección e higienización o son el resultado de presiones selectivas al interior de las plantas de proceso.

BIBLIOGRAFÍA

Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P (2004) Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. J Clin Microbiol 42: 3819–3822.

Gitte Wulff,¹ Lone Gram,¹ Peter Ahrens,² and Birte Fønnesbech Vogel^{1*} (2006). One Group of Genetically Similar *Listeria monocytogenes* Strains Frequently Dominates and Persists in Several Fish Slaughter- and Smokehouses. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, June 2006, p. 4313–4322 Vol. 72, No. 6.

GUYER AND T. JEMMI* (1991). Behavior of *Listeria monocytogenes* during Fabrication and Storage of Experimentally Contaminated Smoked Salmon. Microbiology Section, Federal Veterinary Office, CH-3097 Liebefeld-Bern, Switzerland. APPLIED AND EN-

VIRONMENTAL MICROBIOLOGY, May 1991, p. 1523-1527 Vol. 57, No. 5.

Mary Murphy a,b, Deborah Corcoran c, James F. Buckley a, Micheál O'Mahony d, Paul Whyte b, Séamus Fanning b (2007). Development and application of Multiple-Locus Variable Number of tandem repeat Analysis (MLVA) to subtype a collection of *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology 115 (2007) 187–194.

Salcedo C, Arreaza L, Alcalá B, de la Fuente L, Vazquez JA (2003). Development of a multilocus sequence typing method for analysis of *Listeria monocytogenes* clones. J Clin Microbiol 41: 757–762.

Capacitación Inocuidad Alimentaria Medio Ambiente Salud

Aquagestión
Una empresa CFR

Inocuidad Alimentaria
Una empresa CFR

Rilab

Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda.

Higiene

Soluciones tecnológicas de vanguardia

Colorímetro SMART3 waterproof



- 75 parámetros Programados más 25 programables.
- Puerto USB / Protección IP 67.
- Datalogging para 500 puntos.
- Filtros de 428, 525, 568, 635 nm.
- Cargador USB, batería de litio.
 - Memoria para 500 tests.
 - Rango: 0-125%T Calibración.
 - Resolución: 1% - Precisión: 2%
 - CE Mark: Yes
 - Weight: 16 ounces.
- Acepta viales de 25 y 16 mm. redondos y cuvetas de 10 mm.
- Lenguajes: Español y otros 5.

Turbidímetro 2020we waterproof



- Cumple norma chilena NCh 1333.
- Unidades de medida 2020 we.
- NTU, NTRU, AU, ASBC, EBC.
- Rango 0-4000 NTU / FNU.
- 0.00-10.99. Precisión desde $\pm 2\%$
- Límite de Detec. 0.05 NTU / FNU.
- Rango de selección automática.
- Reprod. 0.02 NTU / FNU ó 1%.
 - Lámpara de Tungsteno Método (EPA) 180.1
 - Conexión USB, bat. de Ion Litio
 - Datalogging 500 puntos.
- Maletín de transporte waterproof
- Lenguajes: Español y otros 5.

Kit de Emergencia

Prueba de Cloro agua potable



- De bajo costo y fácil de usar
- Perfecto para pruebas de clorados en suministros de agua potable en zonas de desastre
- Pruebas para Cloro Libre Disponible (0 a 5 ppm)
- 10 Tabletas para pruebas-DPD

DPD Chlorine



Método DPD Visual

Rango de medición:
0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1,0
1,5 - 2,0 - 3,0 ppm Cl

ColorQ /Cloro

El único multi-test portátil que muestra las medidas del fotómetro y los factores del test directamente en una pantalla digital.

- Sensibilidad 0,01
- 7 o más parámetros
- Fácil control mediante botones
- Resistente al agua



Kit de Cloro 1200 colorímetro

Colorímetros de lectura directa, de sólo un ensayo, incorpora avances de diseño que mejoran la fiabilidad, la precisión y simplifica el proceso de calibración, todo en un práctico estuche portátil.

Paquete completo, económico! El Kit de Cloro 1200 colorímetro viene con pastillas suficientes para 100 tests o reactivos líquidos para 140 pruebas, seis viales de muestra con tapa rosca, manual de instrucciones y un robusto maletín de transporte.

Diseñado para ser resistente al agua.



Representante exclusivo:

Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda. E-mail: rilab@adsl.tie.cl - Fono/Fax: (56-2) 2688 2010



Nuestro centro son las personas

Juntos construimos una mejor
calidad de vida y ambientes
laborales más seguros

www.ist.cl

ist

especialistas en prevención



D&C
Depósitos & Contenedores S.A.

Terminal Puerto Montt

Depósito de 40.000 m² y oficinas administrativas en la ciudad de Puerto Montt agilizan la operatoria y nos permite ofrecer los siguientes servicios:

- Frigorífico con la mayor capacidad de almacenamiento de producto congelado en la Región con un total de 3.000 Ton.
- Operamos bajo la normativa ISO 9001:2008, estando certificados por organismos nacionales e internacionales.
- Traslado de carga en contenedores refrigerados desde y hacia nuestros depósitos y/o puertos.
- Arriendo y Energizado de contenedores refrigerados por día, poseemos una capacidad de 4000 Ton. en Reefers.
- Administración de Inventario de carga refrigerada.
- Servicios especiales a la carga dentro del depósito.
- Servicio técnico a contenedores Reefers.

www.dycsa.cl **800 380 000**



Depósitos & Contenedores S.A.



En la ciudad de Puerto Montt se encuentra ubicado D&C S.A., empresa con más de 37 años de vida dedicada a la logística, distribución, almacenamiento, control y administración de los inventarios de productos congelados en sus frigoríficos.

Estas capacidades le permiten a D&C S.A. el manejo de las cargas durante todo su ciclo, desde la producción en plantas de proceso, pasando por el almacenamiento en frigoríficos y llegando hasta el momento del despacho hacia mercados externos y/o entrega directa en los puertos.

La empresa ha crecido bajo el concepto de solución eficiente para sus clientes, enfocada en brindar un servicio de alta calidad, atención oportuna, flexibilidad y tarifas convenientes, entendiendo que es parte de la cadena de valor de sus clientes.



Contamos con un depósito de 40.000 m², la mayor capacidad de almacenamiento de productos en cámara en la región, con un total de 3.000 toneladas. Nuestras oficinas administrativas en la ciudad de Puerto Montt agilizan los procedimientos y nos permite ofrecer un servicio de calidad en las áreas de:

Logística

1. Arriendo y energizado de contenedores refrigerados por día.
2. Administración de inventario de carga refrigerada.
3. Etiquetado de cajas de clientes.
4. Servicios especiales a la carga dentro del depósito.
5. Servicio técnico a contenedores.

Transporte

1. Flota de 20 camiones año 2010.
2. Flota de 20 chasis portacontenedores con sus respectivos generadores para el traslado de carga refrigerada.
3. Sistema GPS y celulares para la permanente localización y comunicación.
4. Departamento de asistencia técnica para responder en caso de alguna emergencia las 24 hrs del día.

Atención y capacidad

1. Tecnología de punta para administración de stock.
2. Acceso on-line de revisión de inventario para el cliente personal capacitado en administración de inventario, control de stocks, preparación de pedidos, picking, consolidación y desconsolidación de contenedores.
3. Terminales especializados.
4. CFS (Container Freight Station) más grandes de la zona con una capacidad para 200 unidades Reefer.
5. Monitoreo continuo de los equipos y reparación propia.

Para alcanzar los desafíos requeridos por sus clientes, D&C S.A. ha trabajado fuertemente, tanto en mejoras de sus instalaciones y sistemas de información como en la continua capacitación del capital humano, apostando a la calidad de los procesos internos para lograr la satisfacción de sus clientes.

Condiciones Laborales: D&C S.A. comprende que el capital humano es clave en el desarrollo de cualquier empresa, por lo mismo cuenta con nuevas instalaciones tanto para el personal directo, como contratistas, capacitación constante para el 100% del personal tanto en prevención, seguridad y salud ocupacional. Cuenta con un staff profesional encargado de la normalización y cumplimiento de la normativa legal vigente en áreas del desarrollo y condiciones sustentables con miras a la certificación PASSO y OHSAS 18.000.

Departamento de Calidad: Son los ojos del cliente dentro de la empresa, dependiendo directamente de la gerencia y al servicio del cliente para atender cualquier inquietud, reclamo o solicitud, además de velar por el cumplimiento de la normativa legal vigente regulada tanto por Sernapesca como el Servicio de Salud y otros, manejando registros, informes semanales, controles periódicos, resolución y mejoramiento continuo de los procesos internos.

Certificación de Calidad: Otorgada por entes fiscalizadores nacionales e internacionales como la Prestigiosa Empresa Certificadora SGS, consolidando a la empresa como un Frigorífico con altos estándares de calidad comprobados; hoy cuenta con la certificación de su Sistema de Gestión de Calidad respaldado por la Norma ISO 9001:2008, para los servicios de almacenamiento, administración de Inventario, arriendo de frío, transporte de carga refrigerada y no refrigerada. Esto es un paso en el marco de la excelencia y por eso la organización persigue para el primer trimestre del año 2014 lograr nuevas Certificaciones que vayan de la mano con las nuevas exigencias que impone el mercado y en pos de la estandarización y la calidad de todos sus servicios.



Respuesta de las comunidades bentónicas al desarrollo de la actividad mitilicultora



Loreto Pino¹, Manuel Díaz¹, Sandra Marín^{1,2}, Rosa Núñez¹ y José Luis Iriarte^{1,3}

¹Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt, P.O.Box 1327, Puerto Montt, Chile

²CIEA Austral Universidad Austral de Chile

³Centro COPAS Sur Austral



Introducción

La mayor parte de los centros de cultivo de mitílidos se encuentran emplazados en lugares de baja profundidad y baja velocidad de corrientes lo que propicia la biodepositación (Crawford *et al.*, 2003; Weise *et al.*, 2009) tanto en los sitios bajo las líneas de cultivo como en los sitios cercanos a los centros (Callier *et al.*, 2007, 2008). La acumulación de biodepositos producto del desprendimiento de organismos podría cambiar las propiedades químicas de los sedimentos, las características comunitarias e incrementar el enriquecimiento orgánico (Chamberlain *et al.*, 2001; Callier *et al.*, 2007). El efecto del enriquecimiento orgánico sobre las comunidades bentónicas producto de la mitilicultura no siempre sigue el modelo general establecido por Pearson & Rosenberg (1978) (Grant *et al.*, 1995; Crawford *et al.*, 2003) que establece que a medida que aumenta la materia orgánica, aumenta la densidad de especies oportunistas, disminuye la biomasa, decrece el tamaño corporal y cambia la dominancia relativa de los grupos tróficos. Es así que establecer el efecto de la actividad mitilicultora sobre el sistema bentónico no es una tarea fácil, aun cuando se integra variables biológicas, físico – químicas, velocidad y dirección de las corrientes, profundidad, nivel de producción y manejo de un determinado centro. En este contexto, este estudio analiza las características del entorno - presencia de otras actividades antrópicas – y las prácticas de cultivo, como posibles variables

explicativas del desempeño ambiental de la mitilicultura además de los indicadores bióticos. En este estudio se consideran los indicadores Diversidad de Shannon-Wiener y AMBI que clasifica a las comunidades en un gradiente de perturbación (Tabla 1) (Borja *et al.*, 2000). La WWF ha indicado como límites de aceptabilidad para estos indicadores 3 y 3.3, respectivamente. El valor de 3.3 para el AMBI fue sugerido por Borja *et al.* (2000) como el comienzo de la degradación del medio debido a que se asocia a (i) una proporción de especies oportunistas más elevada de lo normal en condiciones no alteradas, (ii) potencial redox normalmente por debajo de cero, (iii) saturación de oxígeno en la columna de agua <80% (límite establecido en Europa para la acuicultura), (iv) concentraciones de contaminantes que empiezan a estar por encima de los valores que se considera que producen daños en el medio ambiente y la salud de los ecosistemas.

Materiales y Métodos

Se evaluaron dos centros de cultivo de distintas características, ubicados en el “Mar interior” de la región de Los Lagos, entre los 41.5° y 41.9° de latitud sur. Centro 1 (C1), clasificado como “artesanal” y Centro 2 (C2), clasificado como “industrial”. En ambos centros se realizó una filmación submarina con la finalidad de obtener imágenes del tipo de sustrato existente. Se describió el entorno, cuantificando otras actividades antrópicas y las prácticas realizadas en cada centro para la mantención de los sistemas de cultivo y la medición de corrientes euliana, con correntómetro tipo ADCP anclado. Se realizaron 5 muestreos bimensuales de seguimiento, comenzando en el periodo de mayor biomasa (M0 a M4) en 3 estaciones ubicadas al interior de cada centro. Se obtuvieron en cada estación por triplicado muestras de sedimento a través de una draga Van Veen (0,1m² de mordida), se realizó un análisis granulométrico (sólo durante M0, M1, M2, M4), se identificó taxonómicamente la macrofauna bentónica ($\geq 0,5\text{mm}$), se calculó su abundancia, la diversidad de Shannon Wiener (\log_2) y se obtuvo el índice biótico marino AMBI (Tabla 1).

Resultados

C1: clasificado como “artesanal”, con un sistema de cultivo tipo “long line”, está emplazado al interior de una bahía de aproximadamente 3 km de ancho y 2 km de largo, de orientación abierta hacia el Este, con profundidades máximas inferiores a 20 m. No presenta islas en las cercanías que puedan restringir

AMBI	Grupo ecológico dominante	Estado comunidades	Nivel de perturbación
0.0 < AMBI < 0.2	I	Normal	No perturbado
0.2 < AMBI < 1.2	II	Empobrecidas	
1.2 < AMBI < 3.3	III	Desbalanceadas	Levemente perturbado
3.3 < AMBI < 4.3	IV-V	Transición a contaminadas	Moderadamente perturbado
4.3 < AMBI < 5.0		Contaminadas	
5.0 < AMBI < 5.5	V	Transición a altamente contaminadas	Altamente perturbado
5.5 < AMBI < 6.0		Altamente contaminada	
6.0 < AMBI < 7.0		Azoicos	

Tabla 1. Resumen taller de expertos (Noviembre 2013) para asignación de especies bentónicas del sur de Chile y su incorporación al software AMBI.

la circulación, tampoco hay descargas de ríos, por lo que su efecto sobre la hidrodinámica sería irrelevante. C1 no presenta una rutina de mantenimiento constante, es cercano a otras actividades antrópicas, como centros de cultivo de salmónidos, otros cultivos de mitílidos y también caseríos. C1 disminuyó fuertemente sus operaciones y producción por la falta de semilla que aqueja actualmente a la industria desde el primer al último muestreo (M0 a M4).

Los datos de velocidad de corriente mostraron un importante transporte residual, con velocidades cercanas a los 10 cm/s. Las velocidades de mayor magnitud se observaron en sicigias, con flujos residuales hacia el Sur-Este, en cuadratura se observó menores magnitudes en la velocidad de la corriente, con una leve tendencia de los flujos residuales hacia el Noroeste. Las capas hasta los 8 metros de profundidad presentaron velocidades menores a las capas de 10 m.

Las imágenes del tipo de sustrato de las filmaciones submarinas muestran una gran abundancia de valvas vacías, erizos y estrellas de mar (Foto 1). El análisis granulométrico reveló un aumento en el tamaño medio del grano a través del tiempo, con el predominio de arena muy fina, arena fina y fango en M0, aumentando en M1 y M2 el predominio de la arena muy fina y arena fina y bajos porcentajes de fango. Durante el último muestreo M4 predominó la arena fina y arena media.

El AMBI promedio fluctuó entre 2.6 ± 1.1 en M0 y 3.0 ± 0.6 en M4 (Figura 1), indicando una comunidad desbalanceada y un estatus de leve perturbación (Tabla 1). Sin embargo se observó una gran variabilidad, especialmente en los muestreos M0 y M4 donde el AMBI alcanzó valores de 3.9 y 3.7 respectivamente. Estos valores reflejan un estatus de la comunidad en transición a contaminada y un nivel de perturbación moderado (Tabla 1). La comunidad estuvo dominada principalmente por especies depositóvoras superficiales, depositóvoras sub superficiales (M0, M1, M2 y M4) y suspensívoras (M2).

La diversidad promedio fluctuó desde 2.9 ± 0.4 en M0 a 3.2 ± 0.6 en M4 (Figura 1).

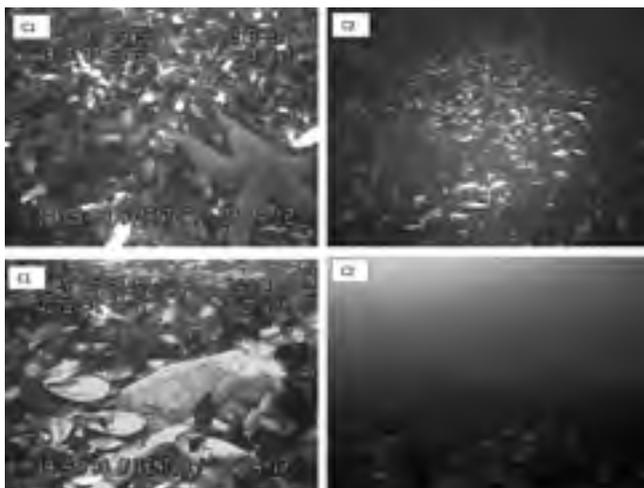


Figura 1. Fotografías submarinas obtenidas en C1 y C2.

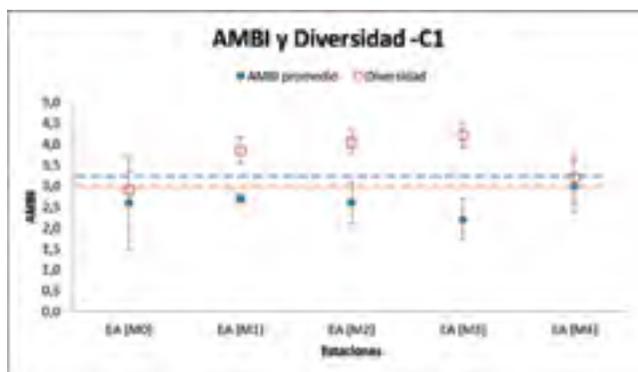


Figura 2. AMBI y Diversidad en C1 a través de los muestreos de seguimiento (M0 a M4). Línea discontinua celeste indica límite AMBI (≥ 3.3 mayor nivel de perturbación) y Línea discontinua roja indica límite Diversidad (≥ 3 comunidad bentónica saludable).

C2: cultivo clasificado como "industrial", con un sistema de tipo de "líneas sin fin", se encuentra ubicado en el extremo sur de una isla y en la desembocadura de un canal, pero no cercano a desembocaduras de ríos. Se localiza aproximadamente a 100 m de distancia de un centro de salmónidos, a 1000 m de otros centros de mitílidos, y lejano a caseríos, presenta una profundidad media de 40 m. En C2 la producción disminuyó levemente pese a la falta de semilla. La rutina de mantenimiento de C2 es constante, el tipo de sistema de cultivo permite rescatar cuelgas desde el fondo antes de la degradación de los mitílidos.

Los datos de velocidad de corriente mostraron un importante transporte residual, con velocidades cercanas a los 10 cm/s. Durante marea de cuadratura los flujos residuales tendieron a dirigirse hacia el Noreste, y en sicigias hacia el Suroeste. En la segunda mitad del periodo de registro, en mareas de sicigias se observó una capa superficial (0 - 5 m) con leve tendencia hacia el Suroeste y otra profunda (5 - 30 m) con una dirección marcada hacia el Noreste. Las imágenes del tipo de sustrato de las filmaciones submarinas muestran que también existen valvas en el sustrato pero no se observó animales carnívoros (Foto 1). El análisis granulométrico evidenció que a través del tiempo el tamaño medio del grano disminuyó, con el predominio de la arena fina y arena media en M0, M1 y M2, para finalmente en M4 predominar la arena fina y arena muy fina.

El AMBI promedio fluctuó desde 3.3 ± 0.1 en M0 a 2.4 ± 0.6 en M4 (Figura 4), indicando un mejoramiento. Es decir una comunidad en transición a contaminada y de moderada perturbación pasa a una comunidad desbalanceada y levemente perturbada. El AMBI promedio más alto se registró en M2, con un valor de 3.4 ± 0.3 . La comunidad estuvo dominada principalmente por especies, depositóvoras sub superficiales (M0, M1 y M2), suspensívoras (M3) y depositóvoras superficiales (M4). La diversidad de C2 fluctuó desde 3.3 ± 0 en M0 a 3.6 ± 0.2 en M4 (Figura 2).

Discusión

Estudios previos realizados en la zona por Gaes (2009) y Cáceres & Valle-Levinson (2010) muestran velocidades

residuales muy similares a las observadas durante este estudio. En ambos casos, los autores indican a la marea como el principal forzante. En C1 la evidente depositación de valvas en el sustrato sugiere que aunque existe una importante dinámica (velocidades cercanas a los 10 cm/s), este tipo de desecho se deposita en el lugar de origen. Esto puede ser explicado considerando la obstrucción de la masa de agua que ocurre debido a los sistemas de cultivo, que provocaron que en las capas hasta los 8 metros de profundidad se observaran velocidades menores que en capas a los 10 m.

Esto en conjunto con la baja profundidad del centro dificultan el transporte de valvas a otros sectores. A través del análisis granulométrico del sedimento se observó un cambio de las fracciones sedimentarias en ambos centros. En C1 hubo un aumento del tamaño medio del grano, desde arena muy fina a arena media y en C2 hubo una disminución del tamaño medio del grano, desde arena media a arena muy fina. Es posible que la disminución de la producción en C1 haya facilitado la recuperación del sedimento.

En ambos centros el promedio de los indicadores bióticos, diversidad y AMBI, durante el periodo muestreado sugieren un comportamiento dentro de los límites establecidos (3 y 3.3, respectivamente). Sin embargo, una mayor diversidad se observó en C1 respecto de C2, aun cuando el AMBI no mostró un mejoramiento importante. Esta diferencia respecto de los indicadores puede explicarse considerando que en C1 había mayor disponibilidad de valvas y alimento para otros organismos carnívoros y carroñeros favoreciendo la riqueza y diversidad. Una gran acumulación de valvas vacías proveen un hábitat para especies normalmente

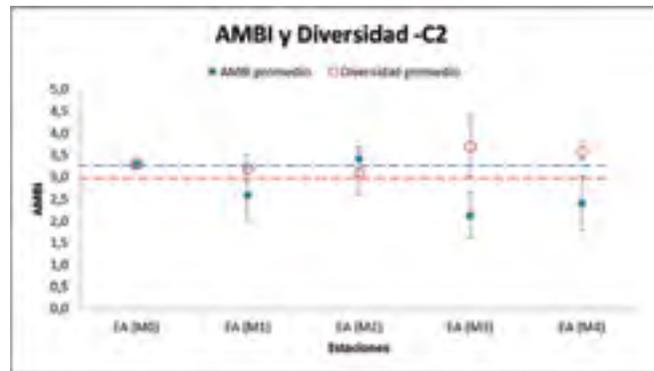


Figura 3. AMBI y Diversidad en C2 a través de los muestreos de seguimiento (M0 a M4). Línea discontinua celeste indica límite AMBI (≥ 3.3 mayor nivel de perturbación) y Línea discontinua roja indica límite Diversidad (≥ 3 comunidad bentónica saludable).

asociadas a comunidades de fondos duros, que incrementan la diversidad béntica local y parámetros asociados (McKindsey *et al.*, 2011). Los bivalvos y su fauna asociada, que caen desde los sistemas de cultivo aumentan la cantidad de comida disponible para predadores y carroñeros (McKindsey *et al.*, 2011) como equinodermos y crustáceos decápodos observados en las filmaciones. En C2 se observó que aún con valores de AMBI que indican una comunidad moderadamente perturbada y en transición a contaminada durante los primeros muestreos (M0 y M2), la tendencia es a disminuir en el tiempo, dando paso a una leve perturbación y a comunidades bentónicas desbalanceadas con altos valores de diversidad y comunidades bentónicas dominadas por especies indicadoras de un mejor estado ambiental. Esto podría explicarse considerando que el sitio tiene una mayor profundidad y rutinas de manejo que impiden una acumulación de impacto.

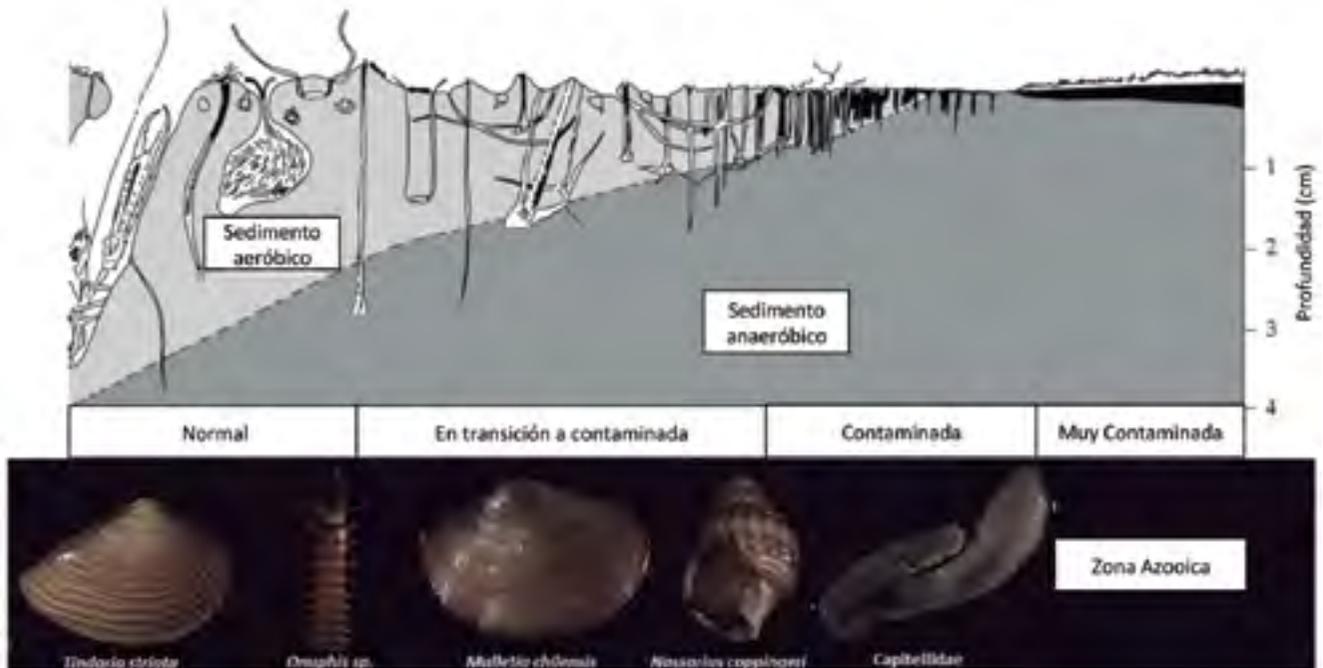


Diagrama 1. Modificado desde Pearson y Rosenberg (1976). Cambios en la composición de la fauna bentónica y estructura del sedimento en respuesta al enriquecimiento orgánico. La profundidad del sedimento aeróbico disminuye a medida que aumenta la acumulación de materia orgánica, las especies sensibles al enriquecimiento orgánico (ej. *Tindaria striata*) van siendo reemplazadas por aquellas tolerantes (ej. *Malletia chilensis*) y luego por aquellas oportunistas (ej. Especies de la familia *Capitellidae*).

Aunque las valvas en el sedimento puedan ejercer un efecto positivo sobre los indicadores bióticos, se desconoce el límite de acumulación de depósitos por sobre el cual el sistema deja de mostrar indicadores aceptables. Es posible que el AMBI no haya mostrado un mejoramiento significativo en C1, luego de una disminución en la producción, debido a la persistencia de especies tolerantes y oportunistas que compensan el efecto de la diversidad generada por las valvas y alimento disponible. Por esto es recomendable monitorear las condiciones ambientales y evaluar la capacidad de carga ecológica del sector con el objetivo de disminuir los posibles impactos negativos que se puedan generar cuando la acumulación de valvas es demasiada (e.j. anoxia). La importancia de recoger las cuelgas de cultivo antes de que los mitílidos y fauna acompañante muera y se degrade, aminoraría el efecto que podría ocurrir sobre los sedimentos. Kaiser *et al.* (1998) concluyó que los cambios medioambientales como consecuencia del cultivo de mitílidos pueden ser minimizados por el uso apropiado en el manejo de la técnica de cultivo.

Grant *et al.*, (1995) concluyó que el impacto sobre la estructura de las comunidades bentónicas es más notorio a través de la observación de depósitos de moluscos sobre la capa de sedimento. Crawford *et al.* (2003) quienes realizaron un estudio en centros de cultivo tipo “long-line” de ostras del Pacífico en Tas-

mania, sugirieron que no era necesario contar con monitoreos sucesivos para evaluar ambientalmente a la actividad, y que la sola obtención de fotografías submarinas cada uno o dos años podría ser una medida suficiente para el control de la actividad. Las observaciones realizadas indican que es recomendable incorporar rutinas de mantenimiento e incorporar el registro visual como parte del monitoreo ambiental, análisis que podría revelar el impacto de la actividad sobre el sedimento y que entregaría información clave del comportamiento de las comunidades bentónicas submareales.

Agradecimientos

Este trabajo es parte del Proyecto “Propuesta de monitoreo ambiental para la industria mitilicultora” financiado por el “Fondo de Innovación para la Competitividad Regional 2011 (FIC-R 2011).

Se agrade especialmente a las empresas que facilitaron sus centros de cultivo e información, al equipo de muestreo y análisis del proyecto, y al laboratorio de Investigaciones Pesqueras de la Universidad Austral de Chile dirigido por el Dr. Carlos Molinet.

Bibliografía

- Borja, A., Franco, J., Pérez, V., 2000.** A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin* 40, 1100–1114.
- Cáceres, M., Valle-Levinson, A. 2010.** Variabilidad transversal del flujo y salinidad en Paso Nao. *Ciencia y Tecnología del Mar* 33(3), 45-58.
- Callier, M.D., McKindsey, C.W., Desrosiers, G. 2007.** Multi – scale spatial variations in benthic sediment geochemistry and macrofaunal communities under a suspended mussel culture. *Marine Ecology Progress Series* 348, 103 – 115.
- Callier, M., McKindsey, C. & Desrosiers, G. 2008.** Evaluation of indicators used to detect mussel farm influence on the benthos: Two case studies in the Magdalen Island, Eastren Canada. *Aquaculture* 278, 77 – 88.
- Chamberlain, J., Fernandes, T.F., Read, P., Nickell, T.D., Davies, I.M. 2001.** Impacts of bio-deposits from suspended mussel (*Mytilus edulis* L.) culture on the surrounding surficial sediments. *ICES Journal of Marine Science* 58, 411–416.
- Crawford, C.M., Macleod, C.K.A., Motchell, I.M. 2003.** Effects of shellfish farming on the benthic environment. *Aquaculture* 223: 117 - 140.
- Gaes, D., 2009.** Estudio de la variabilidad en la composición de materia orgánica y nutrientes en sedimentos bajo un centro de cultivo de salmonideos, Instituto de Acuicultura. Universidad Austral de Chile, Puerto Montt, p. 52.
- Grant, J., Hatcher, A., Scott, D.B., Pocklington, P., Schafer, C.T., Winters, G.V. 1995.** A multidisciplinary approach to evaluating impacts of shellfish aquaculture on benthic communities. *Estuaries* 18, 124 – 144.
- Kaiser, M.J., Laing, I., Utting, S.D., Burnell, G.M. 1998.** Environmental impacts of bivalve mariculture. *Journal of Shellfish Research* 17, 59-66.
- McKindsey, C.W., Archambault, P., Callier, M.D., Olivier, F. 2011.** Influence of suspended and off-bottom mussel culture on the sea bottom and benthic habitats: a review. *Canadian Journal of Zoology* 89, 622–646.
- Pearson, T., & Rosenberg, R., 1978.** Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography Marine Biology Annual Review*. 16, 229 - 311.
- Weise, A.M., Cromey, C.J., Callier, M.D., Archambault, P., Chamberlain, J., McKindsey, C.W. 2009.** Shellfish-DEPOMOD: Modelling the biodeposition from suspended shellfish aquaculture and assessing benthic effects. *Aquaculture* 288, 239 - 253.
- World Wildlife Fund. Salmon Aquaculture Dialogue (SAD). Final Standards for Responsible Salmon Aquaculture. Junio 2012.**

JUICIO EXPERTO:

Una aproximación para la validación de indicadores bióticos de impacto en el sistema bentónico



Sandra L. Marín, Rosa Núñez, Estrella Hernández y Loreto Pino
Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile.



INTRODUCCIÓN

La metodología de trabajo “Best Professional Judgment” (BPJ por sus siglas en Inglés), de aquí en adelante juicio de expertos, se ha considerado en la evaluación de distintas interrogantes en variados ámbitos. Consiste en solicitar la opinión de varios expertos en una materia específica y al hacerlo, estos deben emitir una opinión, utilizar su criterio, conocimiento y experiencia (Bay *et al.*, 2007; Teixeira *et al.*, 2010; Keeley *et al.*, 2012). Esta metodología se aplicó en dos ocasiones a través de talleres con expertos en macrofauna y ecología bentónica y con resultados interesantes que motivan el trabajo en equipo y/o en red. Es así que en este artículo se exponen los resultados de los dos talleres en el marco de las actividades programadas en el proyecto FIC-R 2012 “Diseño de un modelo de gestión institucional para la implementación del AMBI - *Azti Marine Biotic Index* - en la industria acuícola nacional”.

El AMBI es un indicador biótico (Borja *et al.*, 2000) utilizado ampliamente en Europa para evaluar la calidad de los fondos blandos marinos (Borja *et al.*, 2003; Muxika *et al.*, 2005). Se basa en la fauna bentónica, la cual responde a los cambios en las variables físico-químicas del sedimento de manera gradual, observándose esta respuesta en la composición específica de las comunidades y en la abundancia relativa de las especies. La gradualidad del reemplazo de especies en respuesta a las alteraciones permite clasificar el impacto en distintos niveles. En este contexto, el AMBI caracteriza el impacto en el bentos en función de la representatividad de especies de la macrofauna bentónica asignadas a 5 grupos ecológicos que representan un conjunto de especies con diferentes grados de tolerancia al impacto.

Los dos talleres realizados trataron los fundamentos teóricos y aplicación del AMBI en la acuicultura, pero cada uno se enfocó en un tópico específico del AMBI. El primer taller se ejecutó el 24 y 25 de Noviembre del 2011 y tuvo por objetivo que los expertos pudiesen validar un listado de especies de macrofauna de fondos blandos marinos y asignar el grupo ecológico a las especies de este listado. Esto es relevante para aplicar AMBI debido a que mientras mayor es el porcentaje de taxa no asignados a grupos ecológicos menos robusto es el resultado del indicador (Borja *et al.*, 2005). En este artículo se presenta el porcentaje del total de especies que fueron efectivamente aceptados e

incorporadas por AZTI Tecnalia en el listado de especies AMBI luego del trabajo de asignación que hicieron los expertos durante el taller.

El segundo taller se realizó el día de 26 de junio del 2013 y su objetivo fue asociar el conocimiento y experiencia en taxonomía y ecología bentónica de los expertos con indicadores bióticos, y en particular el AMBI. Para esto los expertos realizaron un ejercicio previo al taller y sus resultados fueron analizados usando la metodología de juicio de expertos y presentados durante el taller. En este artículo se presentan los resultados con el objeto de mostrar la asociación que existe entre el juicio de expertos (conocimiento y experiencia) e indicadores cuantitativos en la categorización de fondos blandos según su nivel de impacto.

METODOLOGÍA

Taller Noviembre 2011: Un total de 29 personas participaron en el taller, de los cuales 11 pertenecían a consultoras ambientales, 10 a universidades e instituciones de investigación y 3 a empresas productoras de salmónidos. Las personas se agruparon según su interés y experiencia en un grupo taxonómico particular (moluscos, poliquetos, crustáceos, otros) a cargo de un académico experto en el grupo taxonómico. Su primera actividad fue validar la lista de especies y presentar posteriormente los hallazgos y sugerencias del grupo respecto de esta actividad. Luego analizaron el listado de especies de cada grupo taxonómico, asignaron el grupo ecológico y fundamentaron tal asignación. Al finalizar el taller cada grupo presentó su análisis y resultado final.

Taller Junio 2013: 19 personas que trabajan en macrofauna bentónica (taxónomos, ecólogos bentónicos) fueron invitados y 12 participaron del taller (Foto 1 y Foto 2). De ellos, 10 son investigadores de universidades e instituciones de investigación y 2 profesionales de agentes privados. A los expertos se les envió un documento que contenía un listado de especies/taxa presentes en 12 sitios de fondo blando y la abundancia de cada especie. Se les solicitó que en base a su experiencia clasificaran cada uno de los sitios como 1, 2, 3 o 4 según las siguientes definiciones:

1. **No afectado:** comunidad típica de un sitio no afectado o muy poco afectado por actividades humanas.



2. **Desviación marginal de la condición de "No afectado"**: una comunidad que muestra una desviación marginal de la condición no alterada, esto significa que muestra algún indicio de estrés, con cierta perturbación o desbalance en las comunidades.
3. **Afectado**: la comunidad muestra evidencia de estrés físico, químico, o antropogénico, con un desbalance importante.
4. **Fuertemente afectado**: la magnitud del estrés es alta y las comunidades están muy alteradas.
Adicionalmente se solicitó indicara los criterios que utilizó para clasificar los sitios estableciendo el ranking de importancia de éstos asignándole a cada criterio un valor según la siguiente escala: (1) Muy importante, (2) Importante pero secundario, (3) Marginalmente importante y (4) Útil, pero solo para interpretar otros factores.

Una vez recibidas las respuestas se ordenó la información en una tabla y se calculó el promedio de la asignación dada por los 12 expertos a cada sitio. Luego se calculó el AMBI para cada sitio con la misma información que se le entregó a los expertos ($AMBI = (((0\%GEI) + (1,5\%GEII) + (3\%GEIII) + (4,5\%GEIV) + (6\%GEV) \cdot 100)))$ (GE: grupo ecológico). El AMBI se correlacionó (Correlación de Spearman) con el valor promedio asignado por los expertos. EL AMBI fue estimado usando el software gratuito que puede descargarse desde la página web <http://ambi.azti.es>. Con la información sobre los criterios que usaron los expertos para clasificar los sitios se generó una lista desde la cual se priorizó los criterios en función del promedio del ranking que los expertos le dieron al criterio y la frecuencia con la que se usó. La división de la frecuencia por el promedio se usó como el indicador de la importancia que le daban los expertos a ese criterio.

RESULTADOS

Taller Noviembre del 2011: La lista original que se entregó a los expertos contenía un total de 476 taxa que disminuyó a 444 después de la validación por los expertos. Un 53,6% de los 444 taxa no aparecían con asignación de grupo ecológico en el listado AMBI y representó la fracción del listado que los expertos deberían asignar. El resumen del trabajo de los expertos fue: 77 taxa quedaron sin asignación a grupo ecológico, y de las 350 taxa asignadas a un grupo ecológico, 126 fueron asignaciones

aceptadas desde el listado AMBI, 35 fueron cambios sugeridos por los expertos a la asignación del listado AMBI, y 189 fueron nuevas asignaciones establecidas por el grupo de expertos. Este listado con los fundamentos para asignar especies a grupos ecológicos fue enviado a AZTI Tecnalia para su análisis e inclusión en el listado de especies que utiliza el software para calcular el AMBI. De un 40,7% de taxa que al comienzo estaban incorporadas en listado AMBI se aumentó a un 79,3% (Tabla 1) después del trabajo de los expertos y del análisis de AZTI Tecnalia.

Taller Junio del 2013: Los participantes del taller vinieron desde las regiones de Coquimbo, Metropolitana, Valparaíso, Los Ríos, Los Lagos y Magallanes. La clasificación que hicieron los expertos de los 12 sitios muestra que existe un alto grado de coincidencia entre ellos para reconocer los sitios fuertemente afectados (categoría 4). El 91,7% de ellos estuvieron de acuerdo en clasificarlos como 4. El acuerdo para la clasificación del resto de los sitios en las categorías 1, 2 y 3 fluctuó entre 41,7 y 83,3% siendo las categorías 1 (No afectado) y 2 (desviación marginal de la condición No afectado) aquellas que presentaron el menor acuerdo entre los expertos. Estas mismas categorías presentaron el mayor error respecto de la clasificación que deberían haber asignado los expertos.

La correlación entre valor de AMBI y el valor promedio de asignación de los expertos a cada sitio fue significativa ($p = 0,0009$) y un coeficiente de correlación de 0,85 (Fig. 1). Este resultado indica que existe una asociación significativa entre la clasificación que hacen los expertos y el valor estimado del AMBI. La categoría 4 que asignaron los expertos es equivalente a un AMBI aproximado de 6 lo que indica que el sitio se caracteriza por presentar una comunidad extremadamente contaminada y altamente perturbada. En el caso de los promedios calculados desde la clasificación de los expertos que fluctuaron entre 2 y 3 corresponden a una clasificación según AMBI que indica una comunidad desbalanceada y levemente perturbada.

Las clasificaciones promedio que realizaron los expertos para los sitios no afectados (1) y para aquellos con una desviación marginal de la condición no afectado (2) muestra una mayor dispersión entre ellos. Para la clasificación 1 los promedios de la clasificación de los expertos fluctuaron entre 1,3 y 2,1 y entre 1,4 y 1,8 para los sitios a ser clasificados como 2 (Fig. 1).

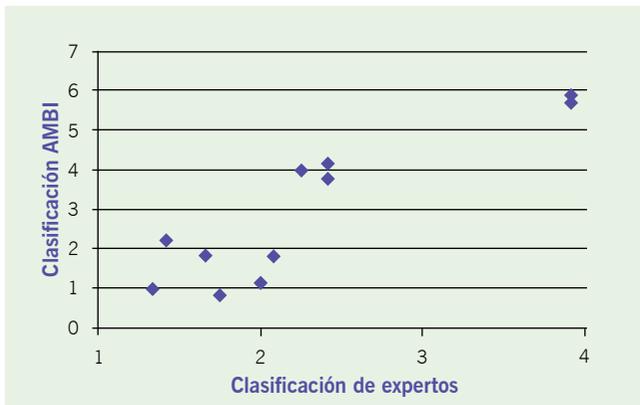


Figura 1. Valores de AMBI y el valor promedio de asignación de los expertos para cada uno de los 12 sitios analizados.

Sin embargo, a pesar del amplio rango estimado desde los expertos, en ambos casos el AMBI mantiene la misma clasificación. Esto significa que la categoría 1 que tuvo valores promedios desde los expertos entre 1,3 y 2,1 es clasificada por el AMBI como una comunidad empobrecida y no perturbada. En el caso de la clasificación de la categoría 2, el AMBI mantiene para todo el rango de promedios estimados desde los expertos la condición de una comunidad desbalanceada y levemente perturbada.

Los criterios que los expertos utilizaron para clasificar los 12 sitios en función de la composición específica de la comunidad de macrofauna y su abundancia incluyen: La presencia de especies indicadoras, abundancia, riqueza de especies, diversidad, dominancia, estrategia trófica, uniformidad, equidad, presencia de especies raras, forma de reproducción, tamaño corporal, locomoción, resultados de indicadores como AMBI, ITI (Infaunal Trophic Index), Análisis Simper, e indicadores multivariados. El criterio AMBI fue considerado como especies indicadoras y el ITI como estrategia trófica. De acuerdo al análisis de prioridad que se realizó se identificó que los 4 criterios que obtuvieron el mayor puntaje fueron las especies indicadoras/AMBI, abundancia, riqueza de especies, dominancia/diversidad. El puntaje de estos 4 criterios fue de 9,3 a 5,3, siendo el mayor puntaje el correspondiente a especies indicadoras/AMBI y el menor a dominancia/diversidad. Los criterios que continuaron a estos tuvieron una puntuación mucho menor (desde 2,8 a 0,3).

DISCUSIÓN

Las comunidades macrobentónicas son consideradas buenos indicadores de la salud de los ecosistemas debido a su estrecha relación con el sedimento, el cual a su vez está estrechamente asociado a la columna de agua (Dauer *et al.*, 2000). Varios índices bióticos han sido desarrollados para integrar y objetivizar la información sobre estas comunidades de manera que puedan ser usados para evaluar la calidad ecológica del bentos marino. Sin embargo, no siempre es fácil entender como estos indicadores objetivizan el conocimiento con el cual se desarrollan. Los resultados de este estudio indican que el análisis que hizo cada experto en base a su conocimiento acumulado y experiencia los llevó a resultados muy similares entre sí, y con respecto al resultado del AMBI. Esto sugiere que el indicador puede objetivizar el

conocimiento que tienen los expertos sobre el significado de la composición y abundancia relativa que muestra la macrofauna entre sitios. Similares resultados han sido reportados con expertos de Europa y América del Norte (Texeira *et al.*, 2010; Muxika *et al.*, 2007).

Estos resultados también muestran que hay mayor coincidencia entre expertos en la clasificación de comunidades más impactadas (Texeira *et al.*, 2010). A diferencia del estudio de Texeira *et al.* (2010), en este estudio hubo menos coincidencia en la clasificación de los dos sitios menos impactados, a la vez que los valores de asignación mostraron mayor variabilidad. Sin embargo, cabe destacar que aunque hubo variabilidad para estas dos categorías, se observó que el indicador recoge esta variabilidad, ya que mantuvo la misma asignación de estado ecológico para un rango amplio de valores en ambas categorías. Los resultados también muestran que existe un alto nivel de acuerdo entre los expertos respecto de las variables que utilizan para hacer su análisis y clasificar los sitios, en consecuencia es esperable que llegaran a un nivel alto de acuerdo respecto de la clasificación de los sitios.

El conocimiento que maneja cada uno de los expertos es un recurso muy valioso, sin embargo cuando los expertos trabajan en conjunto, el efecto es aún mayor. Los resultados del taller realizado para asignar el grupo ecológico a las especies/taxa, demuestran que es posible lograr grandes avances en poco tiempo al generar el espacio a los expertos para trabajar en torno a un objetivo común.

De igual forma, resulta evidente la necesidad de generar espacios de vinculación entre expertos de macrofauna bentónica como ha sido señalado por Dauvin *et al.* (2010). Específicamente con el propósito de estandarizar procesos, fomentar la generación de capacidades en estas temáticas, asesorar a la autoridad competente y levantar información en distintas zonas geográficas del país.



Grupo	Subgrupo	Taxa por grupo	Cambios aceptados por AZTI Tecnalia	Taxa del listado Chileno asignadas en listado AZTI Tecnalia	Taxa del listado Chileno NO asignadas en listado AZTI	% taxa asignado después del Taller de Expertos"
Artropodos	Amfípodos	17	1	6	11	35,29
	Decápodos	14	7	10	4	71,43
	Ostracodos	8	0	0	0	0,00
	Otros	23	5	12	11	52,17
Equinodermos		14	1	11	3	78,57
Varios:	Brachiopoda, Cnidaria, Nematoda, Nemertea, Platelminthes, Porífera, Priapulida, Protozoa, Sipuncúlida	11	2	4	7	36,36
Moluscos	Polyplacophora, Scaphopoda, Limidae, Lottidae; Lucinidae, Lyosiidae	19	16	19	0	100,00
	Gastrópodos	55	38	55	46	100,00
	Bivalvos	66	44	64	2	96,97
Poliquetos		217	88	171	46	78,80
Total		444	202	352	130	79,28

Tabla 1. Resumen taller de expertos (Noviembre 2013) para asignación de especies bentónicas del sur de Chile y su incorporación al software AMBI.

dispersa. Existe consenso en que la macrofauna bentónica es un buen indicador de impacto del sistema bentónico, más allá del indicador que se utilice. Es por esto que es imperativo avanzar en el conocimiento sobre la diversidad de la macrofauna y su respuesta a las presiones del medio. En este contexto la constitución de redes de expertos puede ser una buena estrategia para avanzar en estas materias y así colaborar de manera significativa con la sustentabilidad ambiental de las actividades sociales y productivas que usan el borde costero en el territorio nacional.

BIBLIOGRAFÍA

- Bay, S., Berry, W., Chapman, P., Fairey, R., Gries, T., Long, D.M., y Weisberg, S.B. 2007. Evaluating consistency of best professional judgment in the application of a multiples lines of evidence sediment quality triad. *Integrated Environmental Assessment Management* 3: 491-497
- Borja, A., Franco, J. y Pérez, V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1100-1114.
- Borja, A., Muxika, I., y Franco, J. 2003. The application of a marine biotic index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coast. *Marine Pollution Bulletin* 46: 835-845.
- Borja, A., y Muxika, I. 2005. Guidelines for the use of AMBI (AZTI's Marine Biotic Index) in the assessment of the benthic ecological quality. *Marine Pollution Bulletin* 50: 787-789.
- Dauvin, J.C., Bellan, G., y Bellan-Santini, D. 2010. Benthic indicators: From subjectivity to objectivity – Where is the line?. *Marine Pollution Bulletin* 60: 947-953.
- Dauer, D.M., Ranasinghe, J.A. y Weisberg, S.B. 2000. Relationships between benthic community condition, water quality, sediment quality, nutrient loads, and land use pattern in Chesapeake Bay. *Estuaries* 23: 80-96.
- Keeley, N.B., Macleod, C.K., y Forrest, B.M. 2012. Combining

best professional judgment and quantile regression splines to improve characterization of macrofaunal responses to enrichment. *Ecological Indicators* 12: 154-166.

Muxika, I., Borja, A., y Bonne, W. 2005. The suitability of the marine biotic index (AMBI) to a new impact sources along European coasts. *Indicator* 5: 19-31.

Muxika, I., Borja, A. y Bald, J. 2007. Using historical data, expert judgment and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 55: 16-29.

Teixeira, H., Borja, A., Weisberg, S., Ranasinghe, J.A., Cadien, D.B., Dauer, D.M., Dauvin, J.C., Degraer, S., Diaz, R.J., Grémare, A., Karakasis, I., Llansó, R.J., Lovell, L.L., Marques, J.C., Montagne, D.E., Occhipinti-Ambrogi, A., Rosenberg, R., Sardá, R., Schaffner, L.C., Velarde, R.G. 2010. Assessing coastal benthic macrofauna community condition using best professional judgment – Developing consensus across North America and Europe. *Marine Pollution Bulletin* 60: 589-600.

AGRADECIMIENTOS

Gobierno Regional de Los Lagos como organismo financiador del proyecto a través de la provisión Fondo de innovación y competitividad regional (FIC-R 2012). A Subsecretaría de Pesca y Acuicultura y la Fundación AZTI Tecnalia, en calidad de co-ejecutores del proyecto FIC R 2012.

A los asistentes Taller Noviembre 2011: Alejandra Rodríguez, Alejandro Bravo, Claudia Baldovino, Claudia Cheiquelaf, Consuelo Cea, Cynthia Vásquez, Elizabeth Castro, Eulogio Soto, Fabián Ragnarsson, Gerardo Gómez, Germán Leiva, Geysis Urrutia, Heraldo Contreras, Jorge Pérez, Kurt Paschke, Leonardo Palacios, Lilian Díaz, Loreto Pino, Luis Albornoz, Marcela Riveros, Martín Thiel, Paula González, Richard Miranda, Robert Stead, Sandra Silva.

A los asistentes Taller Junio 2013: Américo Montiel, Ángel Borja, Eulogio Soto, Flor Uribe, Geysis Urrutia, Heraldo Contreras, Iñigo Muxika, Jorge Pérez, Kurt Paschke, Loreto Pino, Luis Daza, Nicolás Rozbaczyllo, Paula Ortiz, Paulina Isler, Robert Stead, Sandra Silva, Sergio A. González y Wolfgang Stotz.

TECHIN HEREDA DE TECNICAPOMPE UNA EXPERIENCIA DE MÁS DE 40 AÑOS EN LA CONSTRUCCIÓN DE BOMBAS Y MÁQUINAS ESPECÍFICAMENTE PROYECTADAS PARA EL TRANSPORTE DE PRODUCTOS DELICADOS, EN LAS CUALES EL VALOR ESTÁ EN LA INTEGRIDAD FÍSICA Y ORGANOLEPTICA, LLEGANDO HASTA EL BOMBEO DE PRODUCTOS VIVOS COMO: PECES, MOLUSCOS, CRUSTÁCEOS.

TECHIN NO SE LIMITA A LA SUMINISTRACIÓN DE BOMBAS Y MÁQUINAS, GRACIAS A LA EXPERIENCIA DE SU EQUIPO DE PROFESIONALES ALTAMENTE CUALIFICADO, INSTAURA CON EL CLIENTE UNA SÓLIDA PARTNERSHIP OFRECIENDO TAMBIÉN SOLUCIONES COMPLETAS INTEGRADAS Y ESPECÍFICAS EN EL TRANSPORTE DE PRODUCTOS "DELICADOS".

EL CONTACTO CON EL CLIENTE Y LA COMPRESIÓN DE SUS EXIGENCIAS SON FACILITADAS POR LA PRESENCIA DE FILIALES EN ESPAÑA Y CHILE, QUE COLABORAN CON NUESTRA CASA MATRIZ EN ITALIA.

SISTEMAS DE BOMBEO PARA RECIRCULACIÓN DE AGUAS PARA PISCICULTURAS, EMISARIOS SUBMARINOS, RILES.



TECHIN EN CHILE PROPORCIONA SOLUCIONES INTEGRALES PARA EL SECTOR INDUSTRIAL ACUÍCOLA (PECES, ALGAS, MOLUSCOS Y CRUSTÁCEOS). ESTAS SOLUCIONES SE BASAN EN LA INTEGRACIÓN DE INNOVADORAS TECNOLOGÍAS EN EQUIPOS Y SISTEMAS DE BOMBEO, ENTRE LAS QUE SE PUEDEN DESTACAR:

- TRASIEGOS DE CHORITOS
- TRASIEGOS DE ALGAS
- TRASIEGO DE PECES VIVOS
- TRASIEGO DE CRUSTÁCEOS
- RECIRCULACIÓN ENSILAJE BIOLÓGICO DE PECES
- SERVICIOS DE MANTENCIÓN MECÁNICA Y ELÉCTRICA
- SERVICIOS DE INGENIERÍA Y DESARROLLO

TECNICAPOMPE[®]

SANITARY PUMP DIVISION

BY

TECH
O P E R A

NUESTRO OBJETIVO ES SUMINISTRAR EQUIPOS SANITARIOS DE LA MÁS ALTA CALIDAD, BRINDAR ASESORIAS PRE Y POST VENTA, LOGRANDO COMO RESULTADO LA MÁXIMA SATISFACCIÓN DE NUESTROS CLIENTES.

COMERCIALIZADORA
Latin Alliance
LIMITADA

Para Chile: Diego De Almagro Norte 1518 - Puerto Montt
Tel. +56 65 2 262621 Fax +56 65 2 262622

info@latin-alliance.com

www.techin-opera.it

Entirely made in Italy

SpaFish[®] Austral

by Dinotec Chile Ltda.

PRÓXIMAMENTE

Centro de Investigación de
Desarrollo para la
Calidad del Agua

Dirección:

Avda. Cuarto Centenario 1822
Oficina 403
Las Condes, Santiago

Fonos:

(02) 7935 390
(09) 8233 8156

E-mails:

servicios@dinotec.cl
ventas@dinotec.cl

SERVICIOS

- Automatización para el control de calidad de aguas.

- Medición, dosificación y control de pH

- Tecnología en floculación

- CONTROL Y ELIMINACIÓN DE MINERALES: FIERRO, COBRE, ALUMINIO, ZINC Y MATERIA ORGÁNICA DEL AGUA.

- Tecnología en UV

- Tecnología en ozono



Cursos de Navegación – Instrumentos – Equipamiento – Venta de embarcaciones

Evite que le roben sus salmones...

Vigílelos con cámaras térmicas de alta resolución y radar.



Raymarine®

Se enchufa a la pantalla multifunción la antena de radar y la cámara de vigilancia y detecta cualquier embarcación que ingresa, teniendo información de su posición y movimiento.

www.nauticentro.cl / mauricio@nauticentro.cl
+56 2 2201.49.66 / +56 2 2224.68.15 / +56 2 2201.56.35 fax
Tomás Moro 135, Las Condes. Santiago. Chile



Con certificación HACCP que garantiza la inocuidad del producto

Producción de Hielo en Escamas de 280 toneladas por día

Silo refrigerado a -10°C . con capacidad de 90 toneladas

Producción de Hielo Líquido de 250 metros cúbicos por día, a distintas temperaturas y concentraciones de salinidad y hielo

Estanques de almacenamiento para 110 metros cúbicos

Atención las 24 Horas del día, con amplios patios de carga

Pedidos o consultas comunicarse a :

065-280882 - 065-288082 - 065-280884

Mail: icemarket@icemarket.cl



www.icemarket.cl

AVANCES TECNOLÓGICOS

para el Cultivo Sustentable de peces en Balsas-Jaulas



Germán E. Merino¹, Asbjorn Bergheim² and Alexia Helgason³

¹ Departamento de Acuicultura, Universidad Católica del Norte, Casilla 117, Coquimbo, Chile

² IRIS – International Research Institute of Stavanger, 4068 Stavanger, Norway

³ Gerente de Mercadeo y Comunicaciones, AgriMarine Holdings 1218-1030 West Georgia Street, Vancouver, British Columbia, V6E2Y3.

Introducción

El cultivo de peces marinos requiere de un ambiente de cultivo adecuado para obtener las deseadas tasas de supervivencia y crecimiento y a su vez resguardar sustentablemente el ambiente natural que está siendo intervenido. Los peces, como todo bio-reactor, durante su bioproceso requieren de insumos (alimento, oxígeno) y generan externalidades (amoníaco, dióxido de carbono, sólidos suspendidos). Los sistemas de acuicultura emplazados en tierra desarrollan ambientes sustentables de cultivo considerando las necesidades biológicas de los peces en el diseño de ingeniería así como en el tratamiento de las externalidades del proceso que son evacuadas generalmente a través de las aguas efluentes del sistema.

El cultivo de peces en estanques o en balsas jaulas posee los mismos requerimientos en insumos y generan las mismas externalidades. Los insumos en balsas jaulas (o bioreactor desde una perspectiva de ingeniería) son variables externas que influyen directamente en la productividad del cultivo y que normalmente son difíciles de controlar, tales como la temperatura, el oxígeno disuelto, la salinidad, vectores de enfermedades, etc. Adicionalmente, las externalidades biológicas del cultivo constituyen nutrientes que promueven procesos de eutroficación de las zonas en que se emplazan las balsas jaulas, dando paso al incremento de floraciones algales y de la demanda bioquímica de oxígeno, entre otros efectos ambientales. En este artículo se considerarán algunos aspectos tecnológicos que permiten tener un mejor control de los requerimientos/externalidades ambientales del cultivo de peces en balsas jaulas con objeto de mejorar el crecimiento,

disminuir la transmisión de enfermedades y minimizar el impacto sobre el medio ambiente. Las nuevas tecnologías de producción comercial de peces en balsas jaulas constituyen una alternativa para avanzar hacia una acuicultura sustentable en los aspectos económicos, sociales y ambientales.



Oxigenación en balsas jaulas en Noruega

(Aplicación de oxígeno puro en balsas jaulas sometidas a tratamiento de parásitos. Cortesía: OxSeaVision Ltd.) En la última década, son varias las instalaciones de cultivo de salmones y truchas en Noruega que han incorporado instrumentos para el continuo control de oxígeno disuelto (OD) en las balsas jaulas. Ha existido un importante progreso tecnológico que ha permitido incorporar el control continuo y combinado de temperatura, oxígeno y la inspección en tiempo real de la biomasa a través de cámaras submarinas. Hoy en día los sistemas de producción utilizan balsas de 150 m circunferencia con jaulas de 30 a 40 m de profundidad que confinan hasta 1000 toneladas de salmón por balsa jaula.

Bajo condiciones de aguas naturales conteniendo altos niveles de OD, por ejemplo sobre 90% de saturación, se requerirá de una velocidad de corriente de unos pocos cm s^{-1} para asegurar un adecuado nivel de OD ($> 6 \text{ mg L}^{-1}$) en balsas jaulas con densidades de cultivo de 25 kg m^{-3} durante el verano en las costas de Noruega (temperatura del agua entre 13 y 18 °C). Sin embargo, la realidad es otra, y se han observado breves periodos con bajos niveles de OD que bordean entre 3 y 4 mg L^{-1} al interior de balsas jaulas de salmón durante el periodo de altas temperaturas entre Julio y Septiembre, y que son generalmente considerados como concentraciones de OD letales para el salmón.

Fluctuaciones diarias de OD pueden asociarse principalmente a la actividad fotosintética de las microalgas, y que son usualmente observadas en los centros de cultivo localizados en los fiordos y a lo largo de la costa durante el verano y tempranamente en el otoño, con picos al atardecer y con mínimos en la noche hasta antes del amanecer. Consecuentemente, hay un riesgo inherente a sufrir una condición crítica de OD durante la noche y en la mañana durante la primera alimentación.

Durante la alimentación a altas temperaturas la saturación del OD comúnmente se reduce entre un 30 y 50% dentro de las balsas jaulas (Figura 1, cage 10). El empleo de inyección de oxígeno puro en las balsas jaulas durante estos periodos críticos de OD es una alternativa viable para evitar exponer los peces a niveles subcríticos de OD (Figura 1, cage 9). La aplicación de oxígeno puro en el largo plazo durante periodos cálidos ha resultado ser económicamente factible debido a las altas tasas de

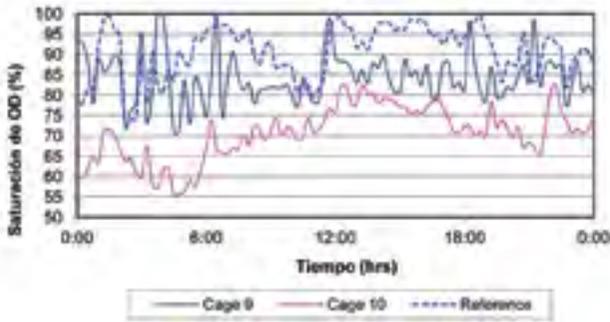


Figura 1. Fluctuación diaria de OD fuera (reference) y dentro de balsas jaulas (Cage 9 and 10) de engorda de salmón Atlántico el 28 de Septiembre del 2003. EWOS Innovation, SW Norway. Cage 9: con incorporación de oxígeno (OxSeaVision Ltd., Norway). Cage 10: sin incorporación de oxígeno. La temperatura fue de 15 °C y la velocidad de corriente entre 0 y 12 cm/s registrados a 3 m de profundidad.



un sistema flotante en mar o en agua dulce.

El AgriMarine System™ plantea temas de sustentabilidad en la acuicultura, crea un ambiente óptimo para el cultivo de peces y ofrece un sistema con ventajas para el medio ambiente con miras a desarrollar una acuicultura sustentable.

El AgriMarine System™ (tanque de 3.000 m³) se diseñó para estabilizar la temperatura al interior del tanque, usando su sistema de bombeo que trae agua más profundas como afluente - helada en el verano y tibia en el invierno. El agua también se suplementa con oxígeno para satisfacer los requerimientos metabólicos de los peces en cultivo.

El sistema de bombeo mantiene el agua en la balsa-tanque en constante circulación. El agua se cambia cada hora, lo cual resulta en peces de carne más firme. Los sistemas de control analizan la calidad del agua y regulan los sistemas de oxígeno y de alimentación. El sistema de recuperación de residuos saca este material afuera de la balsa-tanque, el cual se puede utilizar como fertilizante de tierra.

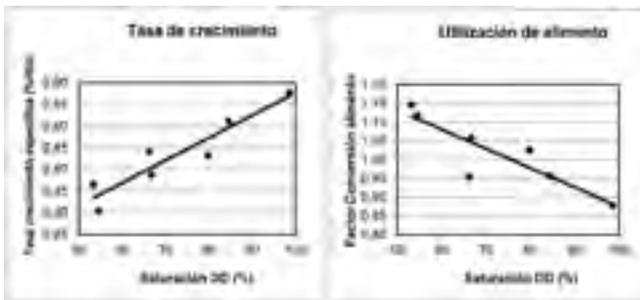


Figura 2. Tasa de crecimiento y Factor de conversión de alimento de adultos de Salmón Atlántico sometidos a cuatro niveles de concentración de oxígeno disuelto: 54%, 65%, 80-85% y 97% de saturación. Temperatura: 8-9 °C. Instalaciones de pruebas pertenecientes a EWOS Innovation, Norway (Report Rogaland Research, 2002, No. 307).

crecimiento y mejores tasas de conversión de alimento (Figura 2) (Aquacultural Engineering, vol. 34, 2006).

Sistemas balsa-jaula con tratamiento de aguas

Hace doce años, los fundadores de AgriMarine comenzaron a investigar nuevas tecnologías para la cría del salmón de una forma más ecológica y sustentable. Después de ensayar una serie de alternativas, se diseñó un sistema de tanque flotante, de muro sólido de contención cerrado, el cual incluye sistemas de bombeo de baja presión, de oxígeno y de recuperación de residuos. El AgriMarine System™ fue diseñado para combinar los beneficios ambientales de un sistema acuícola de recirculación tradicional (SAR) con las eficiencias operativas de





El AgriMarine System™ permite ejercer un control sobre el ambiente de cultivo de los peces. Primero, los contenedores cerrados de esta balsa-tanque brindan la separación entre los peces de cultivo y los peces salvajes. Esta separación procura que los residuos sólidos no contaminen el fondo del mar, que los residuos disueltos puedan ser tratados y adicionalmente provee una barrera contra los escapes de peces. El muro opaco absorbe el sonido y detrae los depredadores. El sistema alimentador ayuda a que no haya desperdicio de alimentos. La contención cerrada permite reducir la propagación de los virus y ofrece una barrera contra los piojos de mar y la proliferación de plancton.

Con relación a la eficiencia operativa, el AgriMarine System™ genera un ambiente de cultivo que resguarda la salud de los peces y así reduce o elimina los costos de tratamiento y el uso de medicamentos anti-bióticos. Otros beneficios incluyen: reducir las mortalidades; mejorar la calidad de carne; proporcionar un ciclo de crecimiento más rápido y reducir los costos de barbecho; ayuda a eliminar el desperdicio de alimentos por la marea; elimina los costos de limpieza de las jaulas de acuicultura y la necesidad de su mantenimiento. Finalmente, los costos asociados con este sistema son compensados por la reducción de las ineficiencias asociadas con los desperdicios de alimento y la mortalidad en los sistemas tradicionales de balsas jaulas y por reducir escenarios con enfermedades.

El AgriMarine System™ se ha probado en China y en Canadá con especies cultivadas de salmón Pacífico (*Oncorhynchus tshawytschay*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y Coho (*Oncorhynchus kisutch*) y también con corvina amarilla grande y el atún rojo (atún de aleta azul). Esta tecnología podría ser utilizada para la salmonicultura Chilena en lago, para mejorar el rendimiento de las salmoneras, incrementar el tamaño de smolts y para implementar la bio-seguridad de los sistemas de recirculación terrestres en balsas jaulas.

Cultivo sustentable de peces marinos en balsas jaulas

Una de las innovaciones entre las tecnologías presentadas en este documento fue incorporan el control ambiental en las balsas jaulas, no solo del punto de vista del monitoreo de las variables, sino que la incorporación de un requerimiento esencial para el cultivo de peces en ambientes con cambios diurnales del oxígeno disuelto disponible. Normalmente el control y mantención estable de las concentraciones de oxígeno disuelto era una condición que estaba limitada solo a tecnologías en estanques, pero ya es posible su aplicación en balsas jaulas y que se ha incorporado exitosamente tanto en Noruega como en Chile apoyado con sensores de oxígeno disuelto que automatizan la inyección de oxígeno solo cuando los niveles naturales no permiten satisfacer los requerimientos de la biomasa en cultivo.

Otro de los aspectos que se incorporan es el control de los desechos metabólicos, que en balsas jaulas tradicionales no es posible de realizar. Sin embargo al utilizar una jaula hermética permite disponer de balsas jaulas con efluentes, al igual que un sistema de estanques de cultivo, que pueden ser hidráulicamente trasladados a operaciones unitarias de tratamiento flotantes o localizadas en la costa.

Las aplicaciones de estas tecnologías no solo se restringen al salmón, sino que se extienden a otras especies de peces marinos de interés para la diversificación de la acuicultura chilena en la zona centro norte del país.





Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda.

Soluciones tecnológicas de vanguardia

Higiene

PH metros-conductivímetros, medidores de oxígeno disuelto con sondas de 3 a 30 mts., termómetros HACCP a prueba de agua y polvo para uso en terreno y laboratorio, garantía, servicio técnico, facilidades.



Termómetro infrarrojo HACCP
 • Sonda de penetración
 • Mayor área de muestra
 • Entregando temperatura promedio de esta



Medidores de pH 5+ y 6+ Acorn



Medidores de pH 300 y 310



Medidores de pH 600 y 610



Medidor de DO 600



Medidor de pH/DO 300



Medidor DO 6+



Medidores de pH 700



EcoTestr pH2



35 SriesTestr Multiparámetro



Sondas DO y Kit Accesorios



Representante exclusivo:

Carlos Rivas Padilla y Cia. Ltda. E-mail: rilab@adsl.tie.cl - Fono/Fax: (56-2) 2688 2010



Universidad Católica del Norte
ver más allá

DIRECCIÓN GENERAL DE POSTGRADO

DOCTORADOS UCN

Antofagasta

Ciencias Mención Geología
Ciencias Mención Matemática

San Pedro de Atacama

Antropología

Coquimbo

Acuicultura

El Programa de Doctorado en Acuicultura es un programa cooperativo entre las Universidades Católica del Norte (UCN), Universidad de Chile (UCH) y Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV) conducente al grado académico de Doctor en Acuicultura.

Tiene como misión formar científicos de excelencia dedicados a la Acuicultura y disciplinas relacionadas, que generen y transmitan conocimiento e innovación para el desarrollo de la acuicultura en el ámbito privado y público, desarrollando estudios multidisciplinares de vanguardia con honestidad, compromiso y responsabilidad social.

Biología y Ecología Aplicada

El Programa de Doctorado en Biología y Ecología Aplicada es impartido en forma conjunta por la Universidad de La Serena (ULS) y la Universidad Católica del Norte (UCN), con la participación del Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA) y del Instituto de Investigaciones Agropecuarias Intihuasi (INIA Intihuasi).

Este programa pretende formar Doctores con una visión interdisciplinaria y holística, que sean capaces no sólo de investigar y desarrollar modelos teóricos, sino también de proponer soluciones creativas y viables a los problemas que se derivan del uso y transformación de los recursos renovables. Es decir, se pretende formar científicos "ambientales" con una fuerte orientación hacia la búsqueda de soluciones prácticas para el bien de la sociedad y del medioambiente.

 postgrado@ucn.cl



www.ucn.cl/postgrado



+56 055 2 355 685
 +56 055 2 355 760

Terebrasabella heterouncinata: UN PROBLEMA RELEVANTE PARA LA ABALONICULTURA NACIONAL



Ricardo García y Federico M. Winkler

Depto. Biología Marina. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte Larrondo 1281. Coquimbo.

Email: fwinkler@ucn.cl

Los gusanos perforadores de la concha son un problema mayor en los cultivos de distintas especies de moluscos. Ellos han sido relacionados con serios daños en la producción de ostras y otros bivalvos en el mundo, dado que afectan el crecimiento y supervivencia de los especímenes sobre los que se desarrollan, y pueden causar problemas sanitarios en los productos obtenidos de ellos. En Chile se han registrado varias especies que afectan a los cultivos de abalones, y destacan dos que han sido importadas junto con los abalones: *Polydora uncinata*, que se ha relacionado con daño en la concha del abalón del Pacífico (*Haliotis discus hannai*), y *Terebrasabella heterouncinata*, que afecta al abalón rojo de California (*Haliotis rufescens*).

T. heterouncinata (Figura 1) es un gusano sabélido originario de Sudáfrica, donde infecta las conchas de varias especies de moluscos, incluyendo el abalón sudafricano (*Haliotis midae*) (Fitzhugh & Rouse 1999). Es una especie invasora que fue introducida en California desde Sudáfrica (Moore *et al.* 2006) y de ahí a Chile a través de la importación de reproductores. Se ha registrado en Puerto Montt (Moreno *et al.* 2006) y en cultivos en tierra en el norte del país (Godoy & Muñoz 2003), causando serios perjuicios al afectar el crecimiento de los abalones, manifestando una gran capacidad para diseminarse en los centros de cultivo.

La infestación por *T. heterouncinata*, o sabelidosis del abalón, causa una alteración en el desarrollo de la concha, caracterizada por un cambio en el ángulo de crecimiento de ésta, produciendo



Figura 1. Ejemplares adultos de *Terebrasabella heterouncinata* (Gentileza R. Rojas).

la oclusión de los poros respiratorios (Figura 2B) y modificando la textura de la concha, la que adquiere un aspecto más grueso, poroso, haciéndose más frágil debido a la formación de chimeneas o túbulos dentro de los que habita el gusano. Como consecuencia, disminuye el crecimiento y los abalones no maduran sexualmente. Las alteraciones de la concha parecen producir condiciones favorables, además, para la instalación de polidoras, las que causan ampollas y generan una condición aún más frágil de la concha.



Figura 2A. Concha normal de abalón rojo (*Haliotis rufescens*).

T. heterouncinata es un gusano de cuerpo pequeño (1,5 mm de largo y 0,20 mm de ancho), esbelto y con la mitad posterior ligeramente expandida en forma de bolsa o saco. Los adultos viven en chimeneas o tubos formados en la concha del abalón hospedador. Poseen una corona branquial que expanden hacia el medio para alimentarse filtrando su alimento, principalmente materia orgánica en suspensión (algas, heces del abalón), fitoplancton y bacterias de vida libre. Las evidencias muestran que las condiciones de cultivo en la producción de abalones favorecen la actividad reproductiva del gusano, mostrando mayor fecundidad, puestas más grandes y ejemplares de mayor tamaño que en la naturaleza (Simon *et al.* 2005a). Una forma de verificar la infestación es por la visualización bajo lupa de la presencia de esta corona branquial, la que es fácilmente observable al colocar el abalón en agua de mar (Figura 3). Igualmente, es posible ver, en la cara interna de la concha, próximos al borde de crecimiento, los tubos en los que habita. La confirmación de la infección, generalmente se hace rompiendo la concha del abalón para recuperar los gusanos y observarlos bajo lupa.



Figura 2B. Abalón rojo afectado por infección severa de *T. heterouncinata*. Se observa un cambio en el ángulo de crecimiento y oclusión de poros respiratorios.

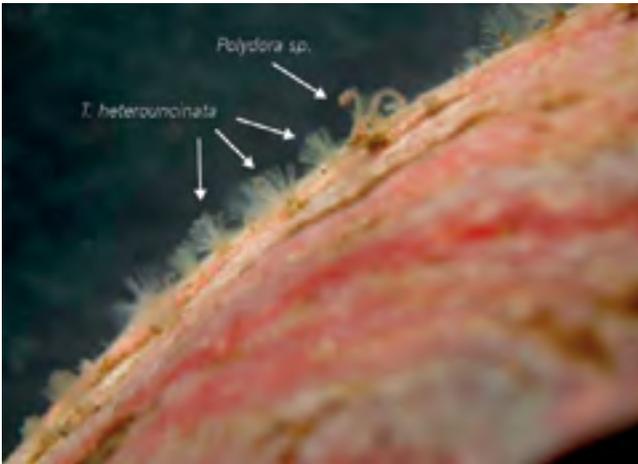


Figura 3. Detalle de la corona branquial de *Terebrasabella heterouncinata* infectando concha de abalón rojo (*Haliotis rufescens*) (Gentileza R. Rojas).

Este sabélido es una especie hermafrodita simultánea y se reproduce casi continuamente a lo largo del año, pudiendo sobrevivir por más de cuatro años en los cultivos de abalón (Simon *et al.* 2005b). Estudios realizados en Sudáfrica han mostrado que la edad no tiene un efecto importante sobre la talla de los gusanos adultos, su fecundidad o la tasa de postura de huevos (Simon *et al.* 2005b). Cada ejemplar coloca sus huevos dentro del tubo (Figura 4, A), los que se incuban hasta el estado larval en el interior de las chimeneas (Figura 4, B). Cuando la larva alcanza el quinto estadio de desarrollo repta abandonando la chimenea parental y se desplaza hacia el borde de crecimiento de la concha, donde se establece. Esta es la fase de diseminación del gusano, y en los sistemas de cultivo, la conducta de agregación que manifiestan los abalones facilita que las larvas del sabélido puedan pasar de un abalón a otro, y establecerse en un nuevo hospedador (Figura 4, C). Así, al no existir una fase planctónica de desarrollo (Kuris & Culver 1999), la diseminación del gusano en los cultivos se produce básicamente por contacto directo entre hospedadores.

Luego de situado en el borde de crecimiento de la concha, es el abalón el que forma la chimenea en torno al gusano recién asentado, depositando nácar alrededor de la larva. A los dos días del establecimiento aparecen dos lóbulos dorsales en el prostomio

de la larva del sabélido y a los siete días, a 18°C, adquiere su forma juvenil (Culver *et al.* 1997), mostrando una corona branquial funcional (Figura 4, D).

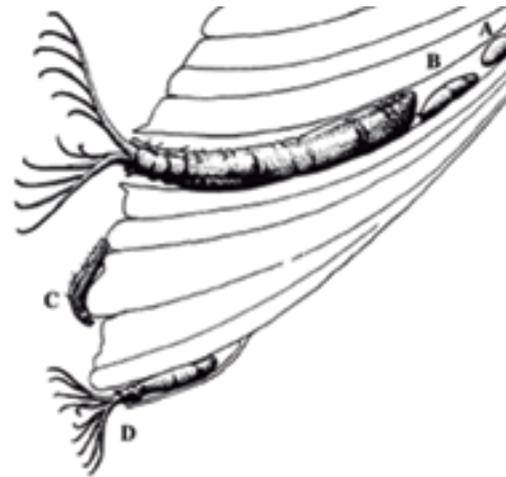


Figura 4. Ciclo reproductivo de *T. heterouncinata*. A) Huevo; B) Larva temprana; C) Larva reptante; D) Juvenil asentado (Modificada de Culver *et al.* 1997)

Si bien no hay cifras oficiales, el daño ocasionado por las infestaciones de *T. heterouncinata* a la industria acuícola de California parece haber incidido en la quiebra de varios centros de cultivo (Cohen 2002). Resultados de programas de vigilancia sanitaria activos y pasivos de animales acuáticos en cultivo en Chile, administrados por el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), indican que las infecciones por poliquetos han causado pérdidas importantes, por ejemplo, en el cultivo del abalón japonés en la zona norte de nuestro país (Enríquez & Villagrán 2008). Sin embargo, no existe una estimación del daño económico causado por *T. heterouncinata* a la producción nacional de abalones. Por otra parte, la presencia de este gusano en los cultivos es un factor que puede interferir con las oportunidades de negocio para la industria, ya que limitaría las posibilidades de exportación de ejemplares vivos al aplicarse las directrices de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en esta materia.

Experimentos de laboratorio en California han demostrado que *T. heterouncinata* es capaz de infestar diversas especies de gasterópodos nativos de la zona intermareal, incluyendo distintas especies de lapas, abalones, tróquidos, turbínidos y crepídulids (Kuris & Culver 1999; Culver & Kuris 2000; Moore *et al.* 2007). Así, el escape de este epibionte desde los sistemas de cultivo a la naturaleza puede transformarse en un problema que afecte a especies nativas. Las evidencias muestran que el gusano puede mantenerse vivo en las conchas de sus hospedadores muertos, por lo que en la disposición de los restos de animales infectados se debe evitar que ellos sean arrojados al mar.

El control de este gusano ha sido particularmente complejo, ya que no se han encontrado tratamientos efectivos para erradicarlo. Entre los métodos probados para combatirlo se incluyen el uso de calor, control biológico, agentes químicos

y métodos físicos, como tratamientos térmicos y baños con agua dulce. El agua dulce, bajo determinadas condiciones, puede matar las larvas expuestas fuera de las chimeneas, pero no afecta a los adultos, sus puestas, ni las larvas dentro de los tubos. El único método que ha brindado resultados efectivos para controlar las infestaciones por este epibionte es la cobertura de la concha con cera caliente de abeja, la que cubre las chimeneas y ahogaría a los gusanos (Oakes *et al.* 1995). Este es un método laborioso, que no se puede aplicar con facilidad a un gran número de individuos en forma simultánea, y que no produce un 100% de efectividad, por lo que sólo se justifica para tratar animales de gran valor, como lo reproductores.

En nuestro laboratorio, por su parte, se ha probado el uso de baños con un antihelmíntico de uso común en veterinaria y salud humana, mebendazole, detectándose reducciones en torno de un 10% en la cantidad de gusanos adultos vivos. Sin embargo, el tratamiento requiere de altas dosis y una larga exposición (aproximadamente 48 horas) de los abalones infectados al fármaco, causando mortalidades de éstos en torno del 10%. Así, los primeros ensayos sugieren que las mortalidades causadas en los abalones serían un factor en contra del uso de este fármaco

para tratar la sabelidosis, ya que los tratamientos reiterados causarían serias pérdidas en estos moluscos.

En consecuencia, evitar el ingreso de abalones positivos a centros de cultivo mediante certificación es una de las medidas fundamentales para el control. Una vez instaurada la infección, la implementación de programas de bioseguridad que permitan el control y erradicación a mediano y largo plazo son a menudo exitosos. Entre las medidas generales para controlar las infecciones se encuentran la segregación de lotes positivos, evitar la contaminación cruzada entre lotes positivos y negativos, y eliminación de stocks positivos (Godoy 2010).

Uno de los aspectos poco estudiados de este problema es el relativo a la posible existencia de variabilidad genética en las poblaciones de abalones para la resistencia a la infestación por *T. heterouncinata*. Al observar lotes de abalones en los que está presente el epibionte, es posible apreciar variación entre individuos en la presencia y magnitud del ataque de ellos sobre los abalones, pero hasta el presente no hay información sobre la factibilidad de mejorar la resistencia de los abalones mediante la aplicación de cría selectiva.

LITERATURA CITADA

Cohen, A. N. & Webb, S. K. (2002). Biological Invasions in Aquatic Ecosystems: Impacts on Restoration and Potential for Control, Proceedings of a Workshop, April 25, 1998, Sacramento, California. San Francisco Estuary Institute, Oakland, California.

Culver, C. S. & Kuris, A. M. (2000). The apparent eradication of a locally established introduced marine pest. *Biological Invasions* 2: 245–253.

Enríquez R. & Villagrán R. (2008). La experiencia del desarrollo del cultivo de abalón (*Haliotis spp.*) en Chile: oportunidades y desafíos. *Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics* 27: 103-112.

Fitzhugh, K. & Rouse, G. W. (1999). A remarkable new genus and species of fan worm (Polychaeta: Sabellidae: Sabellinae) associated with marine gastropods. *Invertebrate Biology* 118: 357–390.

Godoy, M. (2010). "Patología en Acuicultura, un Blog de Marcos Godoy". <http://www.marcosgodoy.com/foro/?p=1362> (Consultado: junio 14 de 2013).

Godoy M. & Muñoz G. (2003). Major diseases encountered in Japanese abalone (*Haliotis discus hannai*) and red abalone (*Haliotis rufescens*) reared in Chile. Book of program and abstracts, 5th International Abalone Symposium, pp 39-40.

Kuris, A. M. & Culver, C. S. (1999). An introduced sabellid polychaete pest infesting cultured abalones and its potential spread to other California gastropods. *Invertebrate Biology*

118: 391–403.

Moore J., Juhasz, C., Robbins, T. & Grosholz, E. (2006). Sabellid polychaete infestations of farmed California abalone. Book of abstracts, 6th International Abalone Symposium pp 41.

Moore, J. D., Juhasz, C. I., Robbins, T. T. & Grosholz, E. D. (2007). The introduced sabellid polychaete *Terebrasabella heterouncinata* in California: Transmission, methods of control and survey for presence in native gastropods populations. *Journal of Shellfish Research* 26: 869–876.

Moreno, R., Neill, P. & Rozbaczylo, N. (2006). Native and non-indigenous boring polychaetes in Chile: a threat to native and commercial mollusc species. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 263–278.

Oakes, F.R., Fields, R.C., Arthur, P.F. & Trevelyan, G.A. (1995). The use of wax to control the shell parasites of red abalone, *Haliotis rufescens*. *Journal of Shellfish Research* 14: 273-274.

Simon, C.A., Kaiser, H. & Britz, P.J. (2005a). The life history responses of the abalone pest, *Terebrasabella heterouncinata*, under natural and aquaculture conditions. *Marine Biology* 147: 135–144.

Simon, C.A., Kaiser, H. & Britz, P.J. (2005b). The effect of age on the reproductive output of the abalone pest *Terebrasabella heterouncinata* (Polychaeta: Sabellidae: Sabellinae). *African Journal Marine Science* 27: 513-516.

POSTGRADO**MAGÍSTER EN GESTIÓN DE RECURSOS ACUÁTICOS**

Busca formar postgraduados e investigadores que contribuyan al desarrollo sustentable de las actividades que hacen uso del ambiente y los recursos acuáticos en América Latina y el Caribe.

Contacto

Esqueiel González
esqueiel.gonzalez@ucv.cl
www.gestionrecursosacuaticos.ucv.cl

MAGÍSTER EN OCEANOGRAFÍA

Dictado en conjunto con la Universidad de Valparaíso, tiene como objetivo formar especialistas de alto nivel en las áreas de oceanografía física, química, biológica y geológicas, facultados para aplicar sus competencias en proyectos de investigación científica y cooperación técnica, además de asesorar organismos tanto públicos como privados.

Contacto

Sergio Salinas
ssalinas@ucv.cl
www.magisteroceanografia.cl

DOCTORADO EN ACUICULTURA

Dictado en forma conjunta con la Universidad de Chile y la Universidad Católica del Norte, tiene como objetivo formar doctores con excelente formación básica en áreas de las ciencias biológicas y de la acuicultura, los que contribuirán significativamente a la investigación científico-tecnológica y a la docencia.

Contacto

Gabriel Yari
gyari@ucv.cl
www.doctoradoacuicultura.cl

PREGRADO**OCEANOGRAFÍA**

Carrera que busca formar profesionales capacitados para adquirir, procesar, analizar e interpretar muestras y datos del ambiente marino, manejando de forma adecuada las tecnologías de información y comunicación. Con formación en las áreas de la oceanografía física, química, geológica y biológica, el oceanógrafo es capaz de solucionar problemas del ambiente marino y del manejo sustentable de la zona costera.

Contacto

Juan Díaz
jdiaz@ucv.cl
www.oceanografia.cl



PONTIFICIA UNIVERSIDAD
**CATOLICA
DE VALPARAISO**
85 años
1928-2013

**ESCUELA DE CIENCIAS DEL MAR**

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Desde 1955 presente en el desarrollo del sector pesquero, oceanográfico y acuicultor nacional



Avenida Altamirano 1480, Valparaíso – Fono (32) 227 4241 – direcm@ucv.cl – www.cienciasdelmar-pucv.cl

HACIA UNA ACUICULTURA SUSTENTABLE

¿Cómo evaluar la salud de un ecosistema?



Eduardo Quiroga¹, Paula Ortiz², Brian Reid³, Dieter Gerdes⁴

¹Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile.

²Programa de Magíster en Oceanografía, Escuela de Ciencias del Mar, P. Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), Valparaíso, Chile.

³Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP), Ignacio Serrano 509, Coyhaique, Chile.

⁴Instituto Alfred Wegener de Investigaciones Polares y Marinas, Columbusstrasse, D-27568 Bremerhaven, Alemania.



La salmonicultura es una de las principales actividades productivas que se lleva a cabo en las prístinas aguas de la Patagonia Chilena. Esta actividad se inició en la década de los ochenta y actualmente la producción acuícola ha crecido de manera exponencial siendo el segundo productor mundial de salmón después de Noruega. Sin embargo, este crecimiento no ha estado exento de consecuencias, siendo el brote de anemia infecciosa del salmón (ISA) durante el 2007 una de las mayores crisis sanitarias que ha enfrentado la industria en los últimos años. En general, existen leyes y reglamentos que regulan la acuicultura, incluyendo el reglamento acuícola medioambiental (RAMA) y las normas secundarias. Además, se ha establecido un sistema de gestión integrada de zonas costeras, que no ha sido aplicado ampliamente. La regulación ambiental actualmente no se encuentra basada en evaluaciones empíricas de los impactos ambientales y existe escasa información científica sobre los efectos de la acuicultura sobre los fondos marinos (Mulsow *et al.*, 2006). Es más, la regulación ambiental para la acuicultura no se ha desarrollado con la sofisticación adecuada para evaluar y gestionar los impactos ambientales de manera eficaz como se ha abordado en otras partes del mundo. Por otra parte, la acuicultura y en particular la salmonicultura han sido el centro de diversas críticas debido a la eutrofización de los fondos marinos, lo cual sin embargo no ha sido evaluado en las escalas ecológicas apropiadas, siendo necesario considerar un enfoque ecosistémico como una estrategia para promover el desarrollo sostenible de esta actividad a largo plazo (Soto *et al.*, 2008, Quiroga *et al.*, 2013).

En el año 2000, la Directiva Europea de Calidad de Agua (WFD-2000/60/EC) estableció el concepto de Estatus Ecológico (EcoQ) para evaluar la calidad biológica de las aguas costeras. La incorporación de este concepto en organizaciones internacionales tales como OSPAR-HELCOM e ICES han abierto el desarrollo de nuevas metodologías para evaluar el impacto ambiental sobre los hábitat marinos costeros. Uno de los índices más utilizados para evaluar el estatus ecológico de un ecosistema ha sido el Índice Biótico Marino AZTI (AMBI), desarrollado por Borja *et al.*

(2000). Este índice utiliza la información sobre las abundancias de las especies del macrobentos a las cuales se les asigna una puntuación en función de su sensibilidad a la presión ambiental. Esta respuesta se sustenta en el modelo de Pearson & Rosenberg (1978) que predice un aumento en la abundancia de las especies oportunistas y una disminución de las especies sensibles, posterior al enriquecimiento orgánico.

En este contexto, en el marco del proyecto FONDECYT (N°11075105) y CORFO INNOVA-Aysén (N°08-CBA-2064), se evaluó el estatus ecológico de dos fiordos de la región de Aysén con diferentes características ambientales y de intervención por parte de la industria acuícola. El fiordo Aysén es un sistema semi-cerrado donde se lleva a cabo una intensiva actividad de salmonicultura. En tanto, el fiordo Baker es un sistema con una fuerte influencia glacial del Río Baker, sujeto a cambios estacionales de los deshielos y recibe un importante aporte de agua dulce y materia orgánica, pero no ha experimentado acuicultura. En general, las comunidades macrobentónicas en esta región muestran una alta riqueza de especies, dominadas principalmente por pequeños invertebrados tales como poliquetos (Paraonidae, Capitellidae y Cirratulidae) y crustáceos anfípodos, los cuales a su vez se caracterizan por presentar un pequeño tamaño corporal y altas tasas de renovación (Quiroga *et al.*, 2012). Estos resultados difieren en gran medida de aquellos presentados por Soto

Calidad ambiental y ecológica	Fiordo Aysén					Fiordo Baker				
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	
Grupo ecológico dominante I (%)	28.9	9.1	5.7	3.7	12.4	13.3	57.4	29.4	13.8	
Grupo ecológico dominante II (%)	12.3	10.4	12.4	11.8	13.3	32.3	8.9	19.4	29.1	
Grupo ecológico dominante III (%)	33.8	31.2	22.2	16.2	17.1	18.8	19.8	23.9	37.3	
Grupo ecológico dominante IV (%)	2.2	15.0	16.2	9.0	9.4	25.1	4.9	6.8	7.5	
Grupo ecológico dominante V (%)	22.8	34.4	43.4	59.2	47.8	10.6	8.9	20.5	12.3	
AMBI	2.7	3.8	4.0	3.9	3.9	2.8	1.5	2.4	2.1	
Grado de contaminación (GC)	LC	MC	MC	MC	MC	LC	LC	LC	LC	
Coefficiente biótico (CB)	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
Estado de la comunidad bentónica (ECB)	D	ET	ET	ET	ET	ET	D	D	D	
Riqueza (S)	24,0	35,0	35,0	33,0	39,0	46,0	53,0	50,0	36,0	
Diversidad (Shannon)	3.4	3.6	3.1	2.6	3.0	4.0	2.3	3.2	3.8	
Taxa no asignadas (%)	1.6	3.1	2.1	1.6	5.4	8.6	0.2	0.7	4.5	
M-AMBI (0-1)	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7	1.0	0.9	0.9	0.8	
Estatus ecológico (EE)	Bueno	Bueno	Bueno	Bueno	Bueno	Muy Bueno	Muy Bueno	Muy Bueno	Bueno	

Localidad: E1 = Bahía Achantilada, E2 = Caleta Bluff, E3 = Río Cuervo, E4 = Punta Tortuga, E5 = Caleta Pérez, E6 = Cinco Hermanas, E7 = Río Baker, E8 = Bajo Pisagua, E9 = Punta Raúl.
Grado de contaminación (GC): LC = Ligeramente contaminado, MD = Moderadamente contaminado.
Estado de la comunidad bentónica (ECB): D = Desequilibrada, ET = Estado de transición hacia contaminada.

Tabla 1. Significado de la calidad ambiental y ecológica del AMBI y M-AMBI en los sitios de estudio.

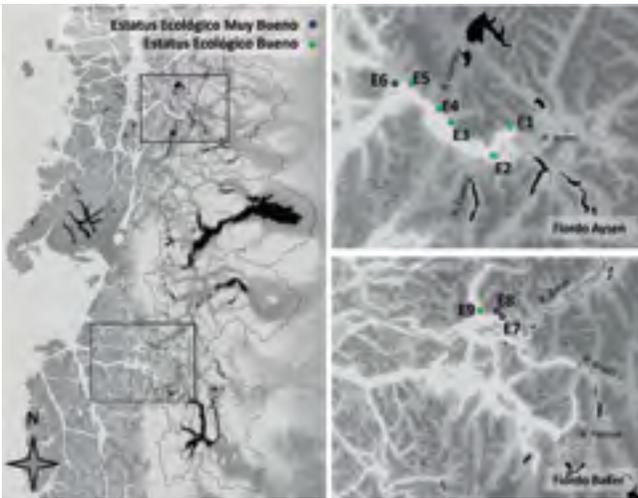


Fig. 1. Estatus ecológico del Fiordo Aysén y Fiordo Baker (XI Región).

& Norambuena (2004), quienes describen comunidades macrobentónicas con bajos valores de diversidad específica. Los resultados de este estudio, nos permiten clasificar el estatus ecológico del fiordo Aysén como bueno (M-AMBI = 0.7 - 0.8), siendo la estación ubicada en el sector del Monumento Natural Islas Cinco Hermanas clasificado como muy bueno (M-AMBI = 1.0). En contraste, el Fiordo Baker fue clasificado como muy bueno (M-AMBI = 0.8 - 0.9), pero con un estado de la comunidad bentónica no balanceado, probablemente debido al aporte de material particulado en suspensión y materia orgánica fina (MOPF) proveniente del Río Baker (Tabla 1, Fig. 2). Estas diferencias son consistentes con lo esperado e ilustran además el potencial efecto del aporte de materia orgánica de los ríos en la región sobre las condiciones locales del sedimento (Quiroga et al., 2013). En base a lo anterior, y a pesar de no existir una evaluación directa sobre el estatus ecológico de los fondos asociados a balsas jaulas en el Fiordo Aysén, es bien conocido que el enriquecimiento orgánico tiene un impacto negativo sobre la macroinfauna (Mulsow et al., 2006) y sobre la capacidad de resiliencia de los ecosistemas bentónicos, siendo posible detectar cambios en el estatus ecológico del bentos a través del tiempo cuando el aporte de materia orgánica excede la capacidad de carga local (Quiroga et al., 2013). De esta manera, mediante el uso de esta metodología se espera detectar cambios en el estatus ecológico del fiordo, independiente de los impactos locales producidos en las balsas jaulas. Los resultados obtenidos en el presente estudio, nos permiten establecer que los índices AMBI y M-AMBI constituyen un método apropiado para ser utilizado en la región de Aysén, pero requieren de una evaluación más robusta, principalmente que considere una mayor cobertura espacial debido a la alta heterogeneidad de hábitat de la región. Además, esta metodología puede integrarse con herramientas de análisis espacial basado en el Sistema de Información Geográfica (SIG), lo cual constituye un aspecto esencial de la planificación de la acuicultura, según lo propuesto por la FAO (Soto et al., 2008). Finalmente, la evaluación del desempeño ambiental de la acuicultura y en particular de la salmonicultura debe considerar un enfoque ecosistémico y no local como se realiza hoy en día, por lo que este método de evaluación puede constituir una útil herramienta para la gestión ambiental del sector acuícola.

Referencias

- Borja, A., Franco, J., Pérez, V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin* 40 (12), 1100–1114.
- Mulsow, S., Krieger, Y., Kennedy, R., 2006. Sediment profile imaging (SPI) and microelectrode technologies in impact assessment studies: example from two fjords in Southern Chile used for fish farming. *Journal of Marine Systems* 62, 152–163.
- Pearson, T., Rosenberg, R., 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography Marine Biology Annual Review* 16, 229–311.
- Quiroga, E., Ortiz, P., Reid, B., Villagrán, S., Gerdes, D., Quiñones, R., 2012. Organic enrichment and structure of macrobenthic communities in the glacial Baker Fjord, Northern Patagonia, Chile. *J. Mar. Biol. Ass. UK* 92, 73–83.
- Quiroga, E., Ortiz, P., Reid, B., Gerdes, D. 2013. Classification of the ecological quality of the Aysen and Baker Fjords (Patagonia, Chile) using biotic indices. *Marine Pollution Bulletin* 68(1-2), 117-126.
- Soto, D., Norambuena, F. 2004. Evaluation of salmon farming effects on marine systems in the inner seas of southern Chile: a large-scale mensurative experiment. *J. App. Ichth.* 20, 493–501.
- Soto, D., Aguilar-Manjarrez, J., Brugère, C., Angel, D., Bailey, C., Black, K., Edwards, P., Costa-Pierce, B., Chopin, T., Deudero, S., Freeman, S., Hambrey, J., Hishamunda, N., Knowler, D., Silvert, W., Marba, N., Mathe, S., Norambuena, R., Simard, F., Tett, P., Troell, M., Wainberg, A., 2008. Applying an ecosystem based approach to aquaculture: principles, scales and some management measures. In: Soto, D., Aguilar-Manjarrez, J., Hishamunda, N. (Eds.), *Building an Ecosystem Approach to Aquaculture*. FAO/Universitat de les Illes Balears Expert Workshop. 7–11 May 2007, Palma de Mallorca, Spain. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings, No. 14. FAO, Rome, pp. 15–35.

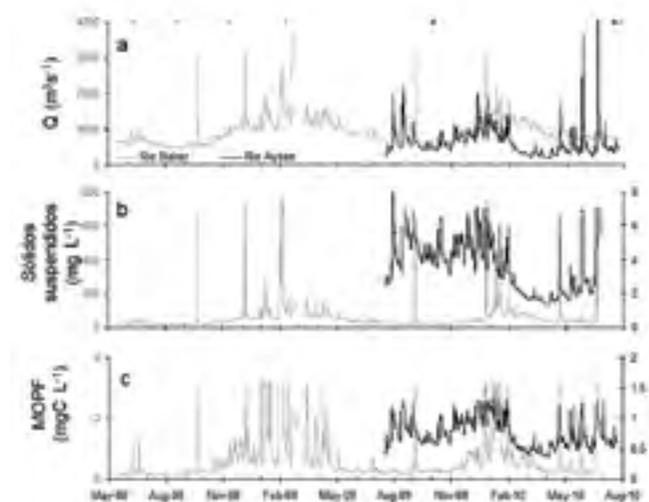


Fig. 2. (a) Aporte de agua dulce, (b) sólidos suspendidos y (c) materia orgánica particulada fina (MOPF) proveniente del río Aysén y Baker (XI región). Río Aysén (línea negra), Río Baker (línea gris).



FONDEOS DE CENTROS DE CULTIVOS DE SALMONES O CHORITOS.

REMOLQUE CAMBIO DE MALLAS.

BAÑOS DE PECES.

RECUPERACIÓN DE CENTROS.

LEVANTAMIENTO DE MUERTOS.

CONSTRUCCIÓN DE PLATAFORMAS DE ENSÍLAJES Y ARTEFACTOS NAVALES.

CAMBIO DE JAULAS INSITU.

REPARACIÓN Y ARENADOS DE MÓDULOS PARA ENVIAR A GALVANIZAR.

CONSTRUCCIÓN DE ARTEFACTOS NAVALES
MONTAJE INDUSTRIAL Y OBRAS CIVILES



Serrania con grúa Pk 10500 y Guinche de 15 toneladas Barco Celenia II
Grua atlaz de 4500 kilos · Guinche de 40 toneladas



equipos de oxígeno para baños de peces

DISTRIBUCIÓN DE PINTURAS INDUSTRIALES AL SERVICIO DE LA CONSTRUCCIÓN EN MANTENCIÓN Y REPARACIÓN INDUSTRIAL



Celular: 7138 4520 ■ Camino a Pargua Km. 1029 ■ Puerto Montt
asn.servicios@gmail.com ■ asn.ingenieriayservicios@gmail.com

Frontel
GRUPO SAESA

Call Center Gerencia Comercial **600 401 2030**
gerenciacomercial@saesa.cl



La Solución que tu Empresa Necesita

- Venta de materiales y equipos eléctricos.
- Grupos electrógenos (respaldo y corte de punta).
 - Mantenimiento predictivo, preventivo y correctivo.
- Proyectos y estudios eléctricos de Ingeniería y obras.
 - Instalaciones interiores para sistemas industriales.
- Productos y servicios para municipalidades (proyectos, iluminación, ornamentación, recambio luminarias)

Generación | Distribución | Transmisión | Comercialización





MÁS QUE LA LUZ DEL SUR, UNA VERDADERA SOLUCIÓN ENERGÉTICA

Junto con entregar energía a más de 750 mil familias, comercio e industrias desde Bulnes en la Región del Bío Bío a Villa O'Higgins en la Región de Aysén, el Grupo Saesa ha creado una nueva línea de negocio, con el fin de otorgar soluciones eficientes a los distintos requerimientos energéticos de sus clientes.

La misión de esta compañía es entregar la energía vital para el bienestar de sus clientes y para el desarrollo del sur de Chile, realizando su trabajo comprometidos con la comunidad, cuidando el medioambiente, y promoviendo el desarrollo y seguridad de sus trabajadores.

Para cumplir a cabalidad esta misión es que la empresa eléctrica ha desarrollado a través de su gerencia comercial las siguientes alternativas para entregar un servicio completo a la comunidad habitacional e industrial del sur del país:

Mantenimiento predictivo, preventivo y correctivo:

- Líneas aéreas de media tensión.
- Transformadores.
- Con líneas energizadas.
- Termografías y servicio de telemetría para lectura remota de mediciones.

Municipalidades

- Recambio de luminarias.
- Iluminación ornamental.
- Mantenimiento de alumbrado público.
- Proyectos de iluminación.

Arriendo de grupos electrógenos

- Servicio de generación de energía.
- Proyectos llave en mano.
- Diferentes potencias.
- Grupos con sincronismo y transferencia automática.

Arriendo y venta de transformadores

- Diferentes potencias
- Aéreos, Pad Mounted subterráneos y en bóveda.

Obras eléctricas industriales e interiores

- Media y baja tensión.
- Montajes eléctricos de celdas.
- Canalizaciones subterráneas.
- Proyectos de construcción de obras interiores.

Venta de materiales y equipos eléctricos

- Cobertura desde la Región del Bío Bío hasta la Región de Aysén.
- Stock permanente.
- Materiales bajo norma y homologación Grupo Saesa.
- Precios competitivos y financiamiento.

Proyectos inmobiliarios

- Diseño y construcción de instalaciones de baja tensión y alumbrado público para conjuntos residenciales
- Soterramiento y supervisión de instalaciones eléctricas
- Venta de empalmes masivos para conjuntos residenciales

Suministro e instalación de salas eléctricas

- Celdas de media tensión de medida, remonte y maniobra.
- Banco de condensadores en media y baja tensión.
- Tableros generales o CDC (Centro de Cargas).
- Grupos generadores

Proyectos en baja y media tensión

- Canalizaciones subterráneas en BT y MT.
- Líneas y empalmes en MT.
- Iluminación interior y exterior (LED, HM, Sodio, etc.)
- Montaje eléctrico interior completo.



Formulación de una pintura antifouling

α base de principios activos naturales ambientalmente amigables



**Universidad
de Valparaíso**
CHILE



Mauricio Cuellar¹, Juan Ojeda¹, Joan Villena², Chita Guisado³, Roberto Maltrain³

¹Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. ²Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

³Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso.

mauricio.cuellar@uv.cl

Introducción

El desarrollo alcanzado por la acuicultura chilena en los últimos años, ha llevado a plantear nuevos desafíos que involucran producir más y con mejor calidad. El aumento de la producción está relacionado a la creciente demanda de productos de la acuicultura por mercados internacionales, tales como Unión Europea, Asia y EE.UU., y un mercado nacional cada vez más desarrollado. La respuesta inmediata del sector ha sido el aumento y la diversificación de la producción. Por su parte, la exportación de los productos de acuicultura a mercados internacionales, destacados por exigentes normativas cuyos objetivos son la inocuidad y/o seguridad, requiere la adquisición de la implementación de procedimientos productivos que aseguren la calidad de las especies comercializadas.

Por otra parte, las pérdidas económicas asociadas a daños en infraestructura debidas al fouling (Figura 1) deben ser consideradas en la implementación de nuevos procedimientos. El fouling marino se entiende como un proceso de deposición de moléculas seguido del asentamiento y desarrollo de organismos vivos sobre las superficies sumergidas. Este fenómeno obedece a la necesidad que tienen muchos organismos marinos de



Figura 1: Linternas de cultivo de ostión afectadas por el fouling marino.

asentarse para su desarrollo, y hace parte de la competencia natural por colonizar y defender el espacio adquirido en el bentos, recurso que es muy limitado en el mar (1-2). Si bien el fouling es un proceso natural, y en muchos casos deseado, puede ocasionar problemas como corrosión, pérdidas económicas por mantenimiento de embarcaciones, limpieza de sistemas de cultivos, sobrecostos en transporte marítimo etc.

Estrategias de tratamiento antifouling:

El problema ambiental y seguridad alimentaria

Para combatir este fenómeno el hombre ha desarrollado múltiples estrategias. Entre ellas el empleo de recubrimientos poliméricos, pinturas con pigmentos antifouling activos inorgánicos u organometálicos capaces de afectar el metabolismo biológico, y evitar la proliferación de microalgas, bacteria u hongos. Por otra parte están las pinturas con biocidas embebidos o enlazados a la matriz de las mismas (3), algunos de estos biocidas han sido prohibidos por sus efectos desfavorables en muchos organismos marinos ajenos al proceso del fouling. Principal atención se debe considerar en el uso de principios activos en base a cobre o estaño y derivados de pesticidas. Esta situación ha generado impactos ambientales negativos sobre ecosistemas abiertos donde se han usado por décadas. Consecuentemente, ha surgido una preocupación mundial en relación a este tema, la cual se ha visto reflejada en la promulgación de normativas que están impidiendo el uso de este tipo de principios activos en pinturas antifouling, desarrolladas actualmente. Por otra parte, la bioacumulación del dicloro-di-fenil-tri-cloroestaño (DDT) en especies destinadas al consumo humano ha planteado la necesidad de prohibir el uso de estos principios activos y determinar el grado de seguridad alimentaria, que los futuros tratamientos tienen para el hombre.

De acuerdo a las normativas ambientales y de seguridad alimentaria impuestas por la Agencia de protección ambiental (EPA) y la administración para drogas y alimentos (FDA) en EEUU, existe la necesidad global de innovar en el desarrollo de nuevas pinturas antifouling seguras ambientalmente e inocuas

para el hombre. A su vez, países como Australia, miembro del APEC ha creado programas de investigación especiales que evalúan el impacto ecológico de las nuevas pinturas antifouling, desarrolladas en proyectos entre el sector industrial y el de investigación (Environment Australia Annual Report 2001-02. Environment Australia, 2002ISSN 1441-9335).

Lo anteriormente expuesto ha obligado a buscar nuevas alternativas eco amigables (biodegradables o con mayor armonía medio ambiental) para reemplazar los recubrimientos antifouling existentes (4).

Soluciones Alternativas

Una posibilidad es el uso en pinturas antifouling que incluyan compuestos naturales basados en las defensas químicas naturales presentes en especies de diferentes orígenes. Los productos naturales han mostrado ser una fuente de compuestos químicos de estructuras muy diversa, y en muchos casos con potente actividad biológica.

En el laboratorio de Productos Naturales y Síntesis Orgánica perteneciente a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso, en conjunto con el laboratorio de Unidad de Cultivos Experimentales, Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales de la misma institución y gracias al financiamiento otorgado por **INNOVA CORFO** a través del proyecto **07CT9PDT-68** "Mejora de la productividad de la acuicultura por formulaciones de revestimientos impregnados con compuestos químicos de origen natural, con actividad inhibitoria del mecanismo de quórum sensing bacteriano", nos encontramos realizando estudios y evaluaciones de nuevos principios activos naturales incluidos en matrices poliméricas para generar pinturas antifouling que cumplan con los requisitos de ser seguros ambientalmente e inoocuos para el ser humano.

Proyecto

Con el objetivo de generar estas pinturas antifouling con las características antes mencionadas, se está desarrollando este proyecto en conjunto con las empresas Tricolor S.A. e Invertec (Ostimar). Las principales etapas realizadas en este proyecto son:

1. Recolección de especies naturales

Se realizó prospecciones de especies desde diferentes fuentes naturales, con la finalidad de obtener extractos y/o metabolitos con potencial aplicación como productos antifouling.

2. Selección de principios bioactivos

En base a ensayos de inhibición de biofilm e inocuidad fueron seleccionados extractos y metabolitos naturales.

3. Formulación de matrices poliméricas con principios activos naturales

Se determinaron las concentraciones óptimas de principios bioactivos según ensayos antes mencionados, y en base a las propiedades fisicoquímicas de estabilidad se formularon las matrices poliméricas (pinturas antifouling)

4. Evaluación y estudios de campo

Para la evaluación de estas pinturas como potenciales productos antifouling, en las instalaciones de la empresa Invertec (Ostimar) ubicadas en la bahía de Tongoy, IV Región de Chile, se realizaron experimentos que sustentaran las propiedades de estas nuevas pinturas a base de productos naturales. Para tal efecto, se utilizaron linternas de cultivo de ostión pintadas con los tratamientos a evaluar. Estas linternas contenían ostiones del norte (*Argopecten purpuratus*) de diferentes calibres con el objetivo de que, en conjunto con la evaluación antifouling, se determinara las características de inocuidad frente a estas especies (Figura 2). Los muestreos fueron realizados mensualmente entre los períodos agosto-noviembre de 2012



Figura 2: experimentos de campo

Propiedades antifouling:

Estos experimentos se efectuaron en triplicado seleccionando tres pisos a diferentes profundidades de cada linterna de cultivo. Las muestras fueron trasladadas a la Facultad de Ciencias del Mar y de Recursos Naturales de la Universidad de Valparaíso, donde fueron pesadas y analizadas en términos de riqueza específica y porcentaje de cobertura principalmente para algas presentes y *Ciona intestinalis*.

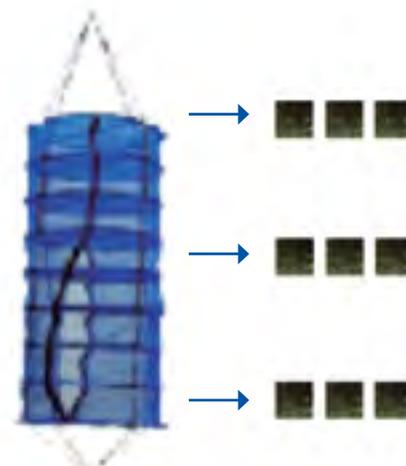


Figura 3:
Representación
de muestreos.

Parámetros de inocuidad

Previamente, en dependencias de la Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales de la Universidad de Valparaíso se determinó la inocuidad de las pinturas con principio activo evaluando la supervivencia de juveniles de ostión del norte (*Argopecten purpuratus*) (Figuras 4 y 5). Resultados que fueron avalados por los obtenidos en los estudios de campo.



Figura 4.
Acuarios con
ostiones y
diferentes
tratamientos.

Resultados y Conclusión

En base a los resultados obtenidos en este proyecto, nuestro grupo de investigación ha desarrollado una pintura a base de principios activos naturales que disminuye la formación de fouling marino, siendo una alternativa de tratamiento para diferentes tipos de cultivos los cuales se enfrentan a este gran problema.

Agradecimientos

Agradecemos al Gobierno Regional de Coquimbo quien apoyó la iniciativa presentada y a la Dirección de Investigación de la Universidad de Valparaíso.

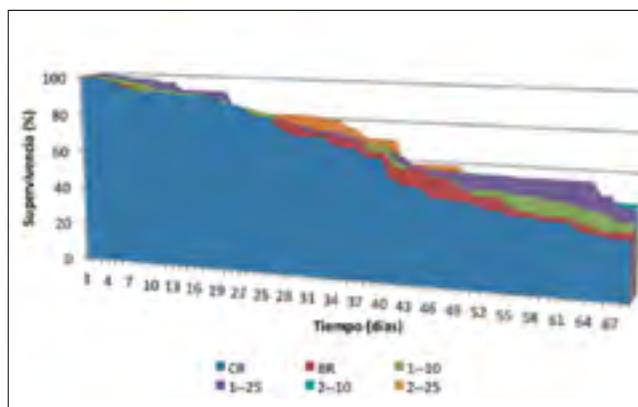


Figura 5. Gráfico de supervivencia de juveniles en los diferentes tratamientos.

Referencias Bibliográficas

- Hedner E, Sjögren M, Hodzic S, Andersson R, Göransson U, Jonsson P, *et al.* Antifouling activity of a dibrominated cyclopeptide from the marine sponge *Geodia barretti*. *J Nat Prod.* 2008 Mar; 71 (3): 330–333.
- Fusetani N, Clare A. Antifouling compounds. *Progress in molecular and subcellular biology. Subseries: marine molecular biotechnology.* Berlin, Germany: Springer-Verlag; 2006. 225 p.
- Singh N, Turner A. Leaching of copper and zinc from spent antifouling paint particles. *Environ Pollut.* 2009; 157 (2): 371–376.
- Iwao Omae. General Aspects of Tin-Free Antifouling Paints. *Chem. Rev.* 2003; 103: 3431-3448.



SOLUCIONES MODULARES A SU MEDIDA, DONDE USTED LO NECESITE



Módulos - Bateas - Contenedores
Proyectos Especiales

Una empresa  Ultramar

Santiago: Av. Las Esteras Norte N°2351, Quilicura.

Fono: +562 2624 84 25 - www.sabinco.cl

Puerto Montt: Av. Trapen S/N

Fono: +56 65 2439300 - www.sitrans.cl

 **SITRANS**
SOLUCIONES EN MOVIMIENTO

 **SABINCO**



Centro de Biotecnología Acuícola, CBA, Facultad de Química y Biología Universidad de Santiago de Chile



Director : Dr. Eugenio Spencer

La investigación destinada al desarrollo de nuevas soluciones tecnológicas y biotecnológicas en relación al mejoramiento de la productividad en la acuicultura ha sido declarada prioritaria en Chile. Esto significa que se debe vincular el desarrollo que se realiza en los centros tecnológicos, a través de la investigación y la formación de recursos humanos, con las necesidades concretas de incorporación de tecnología en el sector. En este marco, el Centro de Biotecnología Acuícola (CBA) de la Universidad de Santiago de Chile se encuentra desarrollando investigación destinada a buscar soluciones a problemas derivados de las enfermedades infecciosas que hoy afectan a la salmonicultura chilena. Entendemos que, si bien se han hecho contribuciones por diversos grupos de investigadores chilenos, aún estamos muy lejos de poder manejar estos problemas en forma adecuada. Varios son los aspectos que necesitan aún investigación, en especial aquellos que se refieren a la prevención de estas enfermedades. En este marco, un grupo de investigadores de la Universidad de Santiago ha llevado a cabo, desde al menos los últimos 10 años, diversas investigaciones y desarrollos en biotecnología acuícola.

Planificar investigación en esta área no resulta fácil ya que las urgencias por información cambian conforme al desarrollo del problema. Esto resulta claro en lo referido al brote de virus ISA. Antes del brote ningún grupo estudiaba dicho patógeno ya que “no existía en Chile”. Incluso resultaba difícil hacer investigación ya que era factible que acusaran la “introducción del patógeno en Chile”. Al momento del brote, la desesperación llevó a que muchas veces se adoptaran medidas absurdas como fue ocultar el brote, lo que sin duda alguna determinó su propagación. Esto dificultó enormemente el desarrollo de estudios adecuados destinados a entender el problema e identificar al patógeno. Los primeros intentos fueron poder identificar al patógeno cosa que hoy no es mayormente complicado ya que las técnicas de histopatología y PCR permiten hacerlo en forma eficiente. Junto a esto nace la posibilidad de formular vacunas siguiendo las metodologías clásicas utilizadas en mamíferos. Es aquí donde comienza a vislumbrarse el mayor problema: las vacunas tienen una cobertura pobre, independientemente de la estrategia seguida para formularlas.

Junto a esto comienza, como es lógico a los ciclos biológicos, la disminución del brote y la aparente desaparición del patógeno. Esta situación hace que para diversos actores este patógeno deje de ser un problema y, por lo tanto, ya no sea prioritario su estudio. Para los investigadores del CBA y de otros grupos en cambio, el desafío es realizar investigación para entender el problema del ISAV y de esta manera poder prevenir su reaparición. En general, esto es

poco apreciado por los usuarios de la información, sin embargo, no hay otra manera de entender el problema sino a través de la investigación que no siempre entrega la información deseada en el tiempo de la urgencia. Si hacemos la analogía del virus ISA con el virus de la influenza humana (ambos pertenecen a la misma familia), después de solucionado el brote de influenza de 1918 que mató a más 50 millones de personas, algo así como el 10% de la población del planeta, alguna autoridad de la época puede haber dicho “esto ya no es prioritario” ya que el brote pasó. Sin embargo, la información acumulada a partir de ese momento ha permitido manejar los brotes que se siguen presentando en forma inesperada en el mundo y que aún no podemos predecir. Si podemos, como en el último brote de H1N1, decir que el brote vino de un cerdo en México y manejamos la situación con medidas sanitarias. Asimismo, hemos escuchado “ya no hay que estudiar el virus ISA, no es importante, hay otros patógenos relevantes como el cáligus y SRS”. Por el contrario, es en este momento cuando es necesario buscar con mayor ahínco las causas de la aparición del patógeno, cómo funciona, por qué cambia, cuál es la razón por la que las vacunas no son eficientes y la dinámica de la alteración del genoma del virus. La investigación no es un juego instantáneo que basta con agregar agua y todo está listo, requiere de capital humano, de desarrollo de modelos experimentales, de estudios moleculares etc., es algo que demora y requiere de capital.

Como Centro, hoy uno de nuestros objetivos es encontrar aquello que nos explique porqué existe el virus ISA denominado HPRO en Chile y no hay un brote de mortalidad evidente. Se ha escuchado “no importa el virus HPRO porque en las islas Faroe ha existido por mucho tiempo y no ha cambiado”. Una cosa similar podríamos estar tentados a pensar de la influenza y sin embargo la influenza de tanto en tanto cambia en algunos lugares del planeta y produce muerte. ¿Qué pasaría si eso mismo ocurriera con HPRO del virus ISA?

Es necesario entender el problema ¿Qué hace que HPRO no produzca enfermedad? Hoy podemos entender que la adaptación al genoma del salmón del virus le permite replicarse y coexistir de modo que el salmón se convierte en el reservorio del virus, es decir, el virus se está replicando hasta que por algún mecanismo desconocido cambie y se vuelva virulento. No sabemos qué genes o cómo se regula este fenómeno, lo que hace necesario además desarrollar los estudios genéticos del virus. Es este conocimiento, el que junto al estudio de la respuesta inmune de los peces, que por cierto es distinto de los mamíferos, nos permitirá desarrollar medidas preventivas efectivas, entre ellas nuevas vacunas.

Los proyectos financiados por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), que a continuación se presentan, están en esa línea: entender la relación huésped patógeno. Sus resultados aportarán información relevante para poder disponer de medidas preventivas de tipo que nos aseguren que los salmónidos en cultivo en Chile están mejor adaptados a responder a los agentes patógenos, tanto con respuestas específicas como generales.

El lanzamiento de éstos proyectos, coincidirá con el inicio de la construcción de los nuevos laboratorios del centro de biotecnología acuícola donde dispondremos de facilidades para poder desarrollar estrategias experimentales que nos permita tener mucho que decir en el mejoramiento de la actividad acuícola en Chile, investigación en la cual la Universidad de Santiago de Chile muestra su compromiso con el país.

Plataforma para la producción *in situ* de proteínas con actividad estimulante de la respuesta inmune en salmónidos



Proyecto FIA PYT
2012 0056

Mario Tello, Ana María Sandino, Carlos Muñoz y Francisco Arriaza,
Laboratorio de Bacteriología, Centro de Biotecnología Acuícola, Facultad de Química y Biología
Universidad de Santiago de Chile.



Las bacterias ácido lácticas (LAB) son microorganismos Gram positivos, de carácter GRAS (Generally Regarded as Safe) ampliamente utilizados como probióticos y en la industria de lácteos. Estas bacterias se encuentran comúnmente en el tracto digestivo de los mamíferos y Salmónidos¹. Debido a su estatus GRAS es que desde hace aproximadamente 15 años estas bacterias han sido estudiadas como vehículos de producción de proteínas, en particular como sistemas de liberación *in situ* de proteínas con propiedades biológicas².

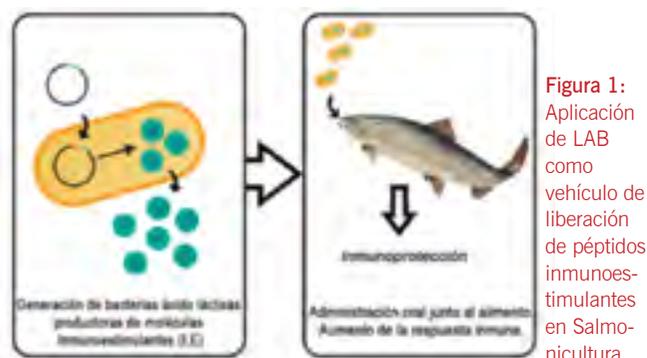
El clonamiento de genes provenientes de virus como influenza³, rotavirus⁴ y HIV⁵ y de bacterias como *H. pylori*, *C. tetani*, *E. coli*, *B. abortus*, *B. burgdorferi*, *S. pneumoniae*, *Y. pseudotuberculosis*, *B. anthracis*, *L. monocytogenes* y *S. pyogenes* ha permitido generar cepas LAB capaces de inmunizar a nivel mucoso y sistémico contra estos patógenos^{5,6} y recientemente *L. lactis* ha sido utilizado como vehículo de inmunización contra parásitos como *G. lamblia*⁷ y Malaria⁸. La liberación de interleuquinas en el tracto gastrointestinal de mamíferos ha permitido combatir enfermedades autoinmunes como la enfermedad inflamatoria de Bowel⁶ e incluso en ratones con diabetes tipo I ha reducido la respuesta inmune contra insulina, permitiendo que revierta su condición⁹.

El éxito de este sistema se debe a las características inocuas de las bacterias ácido lácticas⁵ y a las características del sistema de secreción de proteínas de *L. lactis*, como la proteína de secreción USP45, cuya función se desconoce, no obstante los elementos que permiten su secreción al espacio extracelular se han fusionado a proteínas de interés, permitiendo su efectiva expresión y secreción¹⁰. También se han desarrollado sistemas de contención que impiden que estas bacterias puedan propagar elementos de resistencia a antibióticos hacia el medio ambiente¹¹. Otra parte importante del éxito de esta metodología es que al actuar como elementos de liberación a nivel mucoso en el tracto gastrointestinal, simulan el efecto paracrino de mediadores proteicos del sistema inmune, reduciendo su concentración necesaria para producir el efecto deseado.

Bacterias ácido lácticas y acuicultura.

Las bacterias ácido lácticas se han identificado en diversas especies comerciales de peces, crustáceos y mariscos. Actualmente su principal aplicación en acuicultura es como probióticos, mediante la identificación de microorganismos que después de ser cultivados *in vitro* son re-administrados a través de la dieta¹². A nivel nacional, se han desarrollado diversos proyectos destinados a identificar microorganismos de la microflora intestinal que mejoren el estado inmunológico o incrementen la metabolización de nutrientes, los cuales puedan ser utilizados como probióticos. Sin embargo, el uso de LAB como vehículos de liberación de proteínas biológicamente activas ha sido menos explorado, destacándose a nivel internacional la generación de inmunización contra IPNV en Salmónidos¹³ y contra *A. hydrophila* en tilapia¹⁴.

En el centro de biotecnología acuícola de la Universidad de Santiago, gracias al financiamiento del proyecto FIA denominado "Plataforma para la producción *in situ* de proteínas con actividad estimulante de la respuesta inmune en salmónidos", código PYT-2012-0056, estamos trabajando en la utilización de bacterias



ácido lácticas que puedan funcionar como vehículos de liberación de proteínas inmunomoduladoras que confieran protección contra patógenos virales y bacterianos en Salmónidos (Figura 1). Una importante etapa para lograr estos objetivos es la adaptación de los genes foráneos al sistema de traducción de estas bacterias. Mediante técnicas de biología molecular hemos logrado exitosamente incorporar genes para proteínas inmunomoduladoras tales como Interferón I y actualmente estamos analizando su funcionalidad. De esta manera las bacterias ácido lácticas podrían funcionar como un nuevo vehículo de inmunostimulación en acuicultura, inocuo para el ser humano y medio ambiente, de bajo costo de producción, de administración oral y aplicable contra patógenos bacterianos y virales. Además muchas bacterias ácido lácticas son naturalmente productoras de compuestos antimicrobianos, los cuales podrían ayudar a combatir a los patógenos bacterianos como *Flavobacterium* y *P. salmonis*.

Referencias

1. Bermúdez-Humarán L. (2009). Hum. Vaccin. 5:264-67
2. Mierau I. & Kleerebezem M. (2005) Appl. Microbiol. Biotechnol. 68: 705-17.
3. Lei H. *et al.* (2011) Clin. Vaccine Immunol. 18: 1046-51.
4. Perez C. *et al.* (2005) J. Appl. Microbiol. 99: 1158-64.
5. Wells J. & Mercenier A. (2008) Nat. Rev. Microbiol. 6: 349-62.
6. Wells J. (2011) Annu. Rev. Food Sci. Technol. 2: 423-45.
7. Lee P. *et al.* (2009) Microbes Infect. 11: 20-28.
8. Zhang Z.H. *et al.* (2005) World J. Gastroenterol. 28: 6975-80.
9. Takiishi T. *et al.* (2012) J. Clin. Invest. 122: 1717-25
10. Borrero J. *et al.* (2011) Appl. Microbiol. Biotechnol. 89:131-43.
11. Steidler L. *et al.* (2003) Nat. Biotechnol. 21: 785-89.
12. Verschuere L *et al.* (2000). Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64: 655-71
13. Zhao L. *et al.* (2012) Vaccine 30: 1823-29.
14. Zhou X. *et al.* (2010) Int. J. Eng. Sci. 2: 73-8

Desarrollo de un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias: Una oportunidad para controlar el riesgo del virus ISA como reservorio en sistemas dulceacuícolas y marinos.



Proyecto FIA
PYT-2012-0022

Marcelo Cortez-San Martín, Claudio Acuña, Margarita Montoya, Mónica Imarai, Nicolás Sandoval, Ana María Sandino, Geraldine Mlynarz¹ y Nicolás Sandoval
Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Biotecnología Acuicola,
CBA Facultad de Química y Biología ActivaQ. S.A.¹



Chile llegó a disputar con Noruega el primer lugar en la producción mundial de salmónidos, mostrando un crecimiento paulatino en la producción hasta el año 2008. En ese año, la presencia del virus ISA y sus brotes de altas mortalidades causan a nivel nacional la llamada "Crisis del Salmón".

El virus ISA es el agente causante de la anemia infecciosa del salmón, enfermedad que afecta principalmente al Salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Este virus se clasifica dentro de la familia *Orthomyxoviridae*, siendo el único miembro de esta familia en ser caracterizado en peces, dando origen a la nueva familia Isavirus (1). Morfológicamente, presenta una estructura pleiomórfica con un diámetro que varía de 90 a 140 nm, debido a la presencia de una envoltura compuesta por una bicapa lipídica de origen celular. Su genoma está compuesto de 8 segmentos de RNA de simple hebra de polaridad negativa, los que pueden codificar hasta 11 proteínas (2). Dentro de las proteínas de función conocida se encuentran las proteínas codificadas por los segmentos 5 y 6, proteína de Fusión y Hemaglutinina-esterasa respectivamente, localizadas en la superficie de la partícula viral y que son el principal blanco para la generación de vacunas contra el virus.

Análisis genómicos del virus, han demostrado la existencia de una región altamente polimórfica (HPR) presente en el segmento 6 y considerada como la mayor determinante de variabilidad genética del virus, postulándose que es originada a partir de de-

lecciones del precursor HPRO. Esta genovariante se asocia a una baja virulencia y ha sido obtenida desde peces que no presentan los signos clínicos de la enfermedad, lo cual sugiere que HPRO es un precursor no virulento de ISAV (3).

Una de las estrategias más importantes y utilizadas para controlar las infecciones virales en general, es la prevención de la enfermedad mediante el uso de vacunas. En el caso del virus ISA, existen desde el año 2008 diversas alternativas de vacunas, las cuales en su mayoría corresponden a formulaciones en base a virus inactivados o proteínas recombinantes utilizadas como antígenos, cuyas eficacias reales no muestran consistencia con lo requerido en las pisciculturas para el control del virus (3). Además, debido a la alta prevalencia del genotipo HPRO de ISAV en sistemas dulceacuícolas y marinos, variante genética que las vacunas actuales han sido incapaces de controlar, existe un constante riesgo de mutaciones que permitan la emergencia de nuevas variantes virales altamente virulentas. Por otro lado, las vacunas para salmónes han mostrado ser poco eficaces, logrando una protección muy breve en el tiempo y que no alcanza a proteger al pez durante el periodo de crecimiento y engorda.

A diferencia de los mamíferos y aves, el desarrollo de vacunas eficaces es más complejo en el caso de los peces, debido a que su sistema inmunitario es menos conocido, menos eficiente y posee una memoria limitada en el tiempo. Es por estos motivos

que las vacunas actualmente disponibles producen una baja protección contra enfermedades virales en peces. Adicionalmente estas vacunas han enfocado su actividad hacia la estimulación de la respuesta inmune humoral a través de la generación de anticuerpos, lo cual ha demostrado no conferir una total protección en peces frente a patógenos (4). Otra desventaja que presentan las vacunas actualmente disponibles, es que generan altas mortalidades post tratamiento, debido a los efectos secundarios y adversos causados por el manejo, así como por melanosis y adherencias (lesiones internas), lo cual da cuentas de una respuesta inmune exacerbada debida a un proceso inflamatorio que estaría siendo perjudicial para los animales vacunados.

Todo lo anterior atenta con la calidad del producto que se exporta, siendo hoy en día un problema con soluciones parciales.

Por todo lo anteriormente descrito, nuestro equipo trabaja recientemente en la ejecución del proyecto titulado: "Desarrollo de un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias: una oportunidad para controlar el riesgo del virus ISA como reservorio en sistemas dulceacuícolas y marinos" financiado por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), código PYT-2012-0022 en asociación con la empresa biotecnológica ACTIVAQ SA. En este proyecto se aborda una problemática crucial para poder controlar las infecciones por el virus ISA y poder establecer además una plataforma para el desarrollo de vacunas eficaces contra diversas enfermedades de salmónidos. Así, nosotros proponemos desarrollar una nueva generación de vacunas que potencien la respuesta inmune tanto innata como adquirida de los salmones para aumentar su eficacia y protección.

Solución propuesta frente al problema

Frente a la necesidad de desarrollar nuevos tratamientos para enfermedades infecciosas como las virales o para el cáncer, donde las vacunas convencionales han resultado ser ineficaces, en humanos han surgido alternativas novedosas de vacunación. Entre los nuevos modelos están las vacunas que se basan en el empleo de inmunoterapia celular, que no sólo enfoquen su actividad a la estimulación de la respuesta inmune humoral, sino también a la respuesta inmune celular, para promover la eliminación de la enfermedad por parte de la estimulación de las células del propio organismo que se quiere proteger. Esos avances sugieren el uso de la misma tecnología para el desarrollo de vacunas veterinarias para dar solución al control de enfermedades virales en peces y sobre todo al virus ISAV, lo cual representa un gran desafío.

Actualmente, nuestro laboratorio ha logrado avances como el aislamiento y caracterización de cepas virales nacionales, expresión de los genes que codifican para proteínas virales y desarrollo de sistemas plasmidiales para expresión de proteínas en tandem. Al final del proyecto se espera lograr desarrollar un sistema basado en inmunoterapia celular para mejorar la respuesta inmune de las vacunas veterinarias que permita controlar las infecciones por virus ISA en sistemas dulceacuícolas y marinos. Específica-

mente, se espera desarrollar un sistema de expresión constitutiva de proteínas virales en líneas celulares (*in vitro*) para obtener una vacuna piloto, segura, inmunogénica y de baja toxicidad en ejemplares juveniles de salmón del atlántico. La vacuna eficaz en términos de mortalidad, activará la respuesta inmune y protegerá contra el virus ISA. Finalmente, esta plataforma será transferida al sector productivo para su registro, y escalamiento productivo y comercial.

Equipo de trabajo

El equipo de trabajo esta compuesto por el Dr. Marcelo Cortez San Martín (Director), Dr. Claudio Acuña (Director Alterno), las investigadoras Dra. Margarita Montoya, Dra. Mónica Imarai y Ana María Sandino, así como el bioquímico Nicolás Sandoval. Los científicos de la Universidad de Santiago de Chile (UdeSantiago) pertenecen al Centro de Biotecnología Acuícola (CBA) de la Facultad de Química y Biología. Como Director del CBA se encuentra el Dr. Eugenio Spencer. En el marco del proyecto, el estudiante de bioquímica de la UdeSantiago, el alumno Sebastián González, realiza su tesis de pregrado. Colaborando en este tema también se encuentran las alumnas del programa de Doctorado en Microbiología (UdeSantiago-UCH) las bioquímicas Daniela Toro y Claudia Robles. Por parte de la empresa ACTIVAQ S.A. participa la Ingeniero Geraldine Mlynarz (CEO).

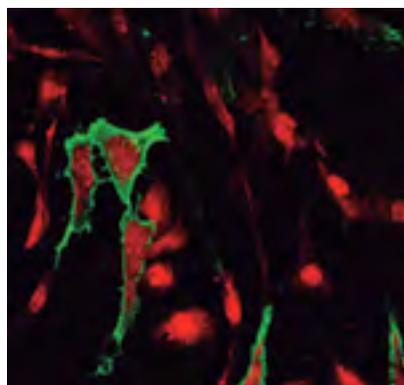


Figura 1: Inmunofluorescencia indirecta de células de salmón infectadas con virus ISA. En la micrografía se observa en rojo el núcleo de células de salmón del atlántico teñidas con Yoduro de propidio. En verde se observa la distribución de la proteína Hemaglutinina en membrana citoplasmática de células infectadas con ISAV.

Referencias

- (1) Mjaaland, S., Hungenes, O., Teig, A., Dannevig, B., & Rimstad, E. 2002. Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene: importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology*, 304(2), 379-391.
- (2) Cottet, L., Rivas, A., Cortez, M., et al. (2011). Infectious salmon anemia virus-Genetics and pathogenesis. *Virus res.* 155: 10-19.
- (3) Christiansen, D. H., P. S. Ostergaard, M. Snow, O. B. Dale, and K. Falk. 2011. A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV-HPRO) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Faroe Islands. *J Gen Virol* 92:909-918.
- (4) Gómez-Casado, E., A. Estepa, and J. M. Coll. 2011. A comparative review on European-farmed finfish RNA viruses and their vaccines. *Vaccine* 29:2657-2671.

Desarrollo de una formulación a base de extractos de plantas, destinado al control del estrés y a mejorar la sobrevivencia de salmones durante el proceso de esmoltificación



Proyecto FIA PYT
2012 0023

Margarita Montoya¹, Claudio Acuña², y Marcelo Cortez-San Martín³, Laura Polanco González⁴,
Geraldine Mlynarz⁵ y Ana María Sandino García.

¹Laboratorio de Bioenergética y Estrés Oxidativo, ²Laboratorio de Inmunoterapias.

³Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Biotecnología Acuicola, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. ⁴Laboratorio Ximena Polanco. ⁵ActivaQ S.A.



El desarrollo acelerado de la industria salmonera en el país en los últimos 20 años, ha provocado un aumento, colocando una fuerte presión en la producción de smolts. Para limitar el impacto en el medio ambiente, desde el año 1991 está suspendida la entrega de nuevas concesiones en lagos. Por lo tanto, para poder suplir esta alta demanda de smolts las concesiones están siendo utilizadas al máximo de sus capacidades, provocando como consecuencia muchas veces, un aumento del estrés en los peces. En Chile, los menores porcentajes de mortalidad de salmones han llegado a valores de menos de un 5% en sistemas controlados muy cercanos al mar. Sin embargo, en los sistemas abiertos tradicionales –el escenario más común en Chile– la mortalidad puede llegar a un 30%. Durante la segunda Conferencia de Agua Dulce realizada el 2008, el investigador noruego Bjorn Olav Rosseland comentó que la mortalidad de los smolts en agua de mar, se explica en un 55% por la alta intensidad de cultivo en la etapa de agua dulce mientras que el 45% restante sería consecuencia en gran parte del estrés que se produce durante el transporte de los peces. Es por esto, que dos de las líneas de investigación que estamos desarrollando en nuestros laboratorios del Centro de Biotecnología Acuicola (CBA-USACH) son el estudio del proceso de esmoltificación y el estudio de los mecanismos de estrés en salmónidos. De esta forma, queremos obtener las herramientas terapéuticas para poder intervenir y mejorar las condiciones generales de los salmones durante la esmoltificación, permitiéndoles una óptima entrada al mar.

Durante el proceso de esmoltificación, los peces sufren una serie de cambios fisiológicos, que les otorgan una alta capacidad de tolerar altas concentraciones de sales, además de producirse cambios morfológicos, bioquímicos y en el comportamiento^{1,2}. Esta etapa está gobernada por una serie de cambios hormonales, las que incluyen aumentos en hormona del crecimiento, factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-I), hormonas tiroideas y cortisol^{3,4}. De éstas, cortisol ha sido considerado por mucho tiempo el principal regulador de este proceso, actuando sinérgicamente con las otras hormonas, estimulando el número de células de cloruro y la actividad Na+K+ATPasa, principales responsables de la osmorregulación. Sin embargo, el cortisol también es uno de los principales mediadores de la respuesta a estrés, donde es bien conocida su capacidad para afectar la tolerancia al mar^{5,6}, el crecimiento⁷, la sobrevivencia⁸ y la respuesta inmune⁹. Estudios han mostrado que el aumento plasmático crónico de cortisol, mediante implantación hormonal, produce un aumento en la mortalidad de forma dosis dependiente por infecciones por hongos y bacterias¹⁰. Sin embargo, también hay estudios que han mostrado que la inducción de estrés crónico por manipulación, sin elevación de cortisol plasmático, produce una menor activación de macrófagos por antígenos extracelulares y un aumento de la susceptibilidad a muerte inducida por patógenos¹¹. Bajo algunos tipos de estrés crónico,

el organismo tendría la capacidad de volver a los niveles fisiológicos previos al estrés (alostasis), pero que sin embargo, igual estarían afectando importantes funciones del organismo. De esta forma, altos niveles de estrés, con o sin elevación crónica de los niveles de cortisol, afectan significativamente al sistema inmune, produciendo una importante inmunosupresión. En un interesante estudio realizado el año 2005, se realizó un seguimiento a distintos grupos de smolts en la industria salmonera noruega, los que fueron transportados y transferidos al mar. De todos estos grupos, sólo uno de ellos mantuvo niveles elevados de cortisol plasmáticos durante la entrada al mar, lo que se correlacionó con una inusual alta mortalidad durante el primer mes en el mar¹². Más aún, se cree que uno de los factores que influye en la baja efectividad que actualmente poseen las vacunas, podría estar relacionada con la disminución de las funciones del sistema inmune producida por estrés. Incluso, la aparición de patógenos cada vez más agresivos y abundantes, también podría tener relación con esta baja en la inmunidad.

Es por esto, que intervenir en el control del estrés durante este periodo, podría generar mejoras sustantivas en la sobrevivencia de los peces, en la calidad de los smolt generados y en las condiciones sanitarias, impactando positivamente en la industria salmonera. En la actualidad estamos realizando un proyecto con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), donde estamos desarrollando nuevas terapias para el control del estrés, destinadas específicamente a esta etapa de esmoltificación. Nuestro desafío es lograr disminuir el estrés crónico, pero manteniendo la secreción de cortisol en los niveles y tiempos necesarios para que se produzca la esmoltificación en forma óptima.

Referencias

- (7) Bernier NJ, Peter RE. 2001. *Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 129, 639-44.
- (3) Björnsson BT, Stefansson SO, McCormick SD. 2011. *Gen Comp Endocrinol*. 170, 290-8.
- (9) Einarsdóttir IE, Nilssen KJ, Iversen M. 2000. *Aquac Res*. 31, 923-30.
- (11) Fast MD, Hosoya S, Johnson SC, Afonso LO. 2008. *Fish & Shellfish Immunology* 24, 194-204.
- (6) Iversen M, Finstada B, Nilssen KJ. 1998. *Aquaculture*. 168, 387-94.
- (12) Iversen, M, Finstad, B, McKinley, RS, Eliassen, RA, Carlsen, KT, Evjen, T. 2005. *Aquaculture* 243, 373-82.
- (4) McCormick SD. 2009. *Integr Comp Biol*. 49, 408-22
- (8) Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW. 1999. *Rev Fish Biol Fish*. 9, 211-268.
- (1) Nilsen TO, Ebbesson LOE, Stefansson SO. 2003. *Aquaculture* 222, 71-82.
- (2) Nilsen TO, Ebbesson LO, Kiilerich P, Björnsson BT, Madsen SS, McCormick SD, Stefansson SO. *Gen Comp Endocrinol*. 155, 762-72.
- (5) Redding, JM, Schreck CB. 1983. *Trans. Am. Fish Soc.* 112, 800-7.
- (10) Pickering AD y Pottinger TG 1989. *Fish Physiol Biochem*. 7, 253-8.

HAS CAÍDO EN LAS REDES DE LA CALIDAD

CERTIFICADOS INTERNACIONALMENTE ISO9001-2008



KAWESHKAR
Taller de Redes - Puerto Montt - Chile

W W W . K A W E S H K A R . C L



UNIVERSIDAD
DE LA FRONTERA



| 7 DOCTORADOS | 28 MAGISTER | 28 ESPECIALIDADES

POSTGRADO & ESPECIALIDADES

2013-2014

32 AÑOS
1981-2013

SAVOS 2008-2013
SEGUIMOS CRECIENDO JUNTOS
SISTEMAS INTEGRAL PARA S

postgrado.ufro.cl

PRODUCTOS DE VALOR AGREGADO

Utilizando lodos y mortalidad de las Pisciculturas



^{1,3}Carolina Calderón, ^{2,3}Javier Estay, ^{2,3}M. Cristina Diez.
¹Instituto de Agroindustria, ²Departamento de Ingeniería Química,
³Centro de Investigación y Desarrollo para la Gestión de Residuos Orgánicos.
 Universidad de La Frontera.



Tras la crisis del virus ISA la actividad piscícola comienza a incrementar un periodo de recuperación y de reposicionarse como uno de los líderes mundiales en la producción de salmón. En ese orden, el alza de las exportaciones nacionales de salmón y trucha, que registraron un crecimiento de un 48% (US\$ 2.915 millones, según Aduanas) con respecto del 2010, es sólo una muestra de una industria que ya dejó atrás una etapa crítica en su desarrollo, pero que trae consigo una reinversión en la forma de producir, que sin duda debe estar de la mano de la investigación aplicada y del fortalecimiento del capital humano.

La actividad piscícola se concentra en el sur de Chile encontrándose sobre el 90% en las regiones de La Araucanía, Los Lagos y Los Ríos. La actividad piscícola de la Región de La Araucanía se concentra en 54 pisciculturas con Resolución de Calificación Ambiental (RCA), distribuidas principalmente en la zona de Villarrica-Pucón (42,5%), las que deben cumplir con estrictos estándares de calidad del producto y con las normas ambientales y sanitarias vigentes como el DS 90 para los efluentes generados, las guías o resoluciones para la disposición de los lodos, la Resolución N° 1468 para el manejo de la mortalidad de SERNAPESCA, entre otras.

EN RELACIÓN A LA MORTALIDAD

Según el informe sanitario del año 2012 (SERNAPESCA, Dic. 2012) se observa un aumento en la mortalidad oficial respecto al 2011, la cual no sobrepasa el 2% mensual. La potencialidad económica de la mortalidad en los centros de cultivo, puede ser la misma que la de un pescado de captura salvaje o un pescado recién cosechado, lo cual obviamente dependerá de ciertos atributos que determinarán la calidad de esta "materia prima". El pescado posee muchas propiedades que no poseen otros animales, como es su contenido de proteína, diversidad y calidad de la misma, ácidos grasos omega 3 y 6, aporte de aminoácidos esenciales, etc. Cuenta también con compuestos de naturaleza no proteica, solubles en agua, de bajo peso molecular y que contienen nitrógeno. Los principales componentes de esta fracción son: bases volátiles como el amoníaco (NH₃), creatina, aminoácidos libres, nucleótidos y bases purínicas.

En la industria pesquera, el nivel de las bases volátiles totales (BVT), son el indicador de frescura de la materia prima, sin em-

bargo, este nivel incrementa en el tiempo debido a la formación de amoníaco y otras aminas volátiles, lo que también favorece un alza del valor de pH y la aparición de olores desagradables. El nivel de BVT puede ser retardado cuando se mantiene la materia prima a temperaturas de refrigeración, lo que también contribuye al retardo de la oxidación e hidrólisis de los lípidos presentes en el pescado, lo cual debe ser considerado al momento de pensar en la extracción de aceites de buena calidad.

DESTINO DE LA MORTALIDAD

De acuerdo con la Resolución N°1468/12 (SERNAPESCA), la mortalidad se destina a ensilaje, el que consiste básicamente en la adición de ácido fórmico para evitar la putrefacción bacteriológica del pescado. En ese proceso y por efecto de las enzimas proteolíticas comienza la licuefacción obteniéndose un producto pastoso, a veces algo líquido y con un pH menor o igual a 4,0. El ensilaje es un proceso simple, accesible a una producción a mayor escala y no requiere mano de obra altamente calificada ni equipos costosos. El proceso de ensilado inhibe los olores desagradables, debido a que disminuye la putrefacción y olores asociados a la descomposición, por lo tanto, se utiliza como una medida de preservación que no cause un impacto al medio ambiente.

Sin bien el proceso de ensilaje permite a la empresa solucionar un problema, esta solución le significa un gasto asociado a la estabilización y el transporte hacia plantas de elaboración de harinas y aceite de pescado, sin que el productor obtenga algún beneficio económico de esto.

¿COMO OBTENER VALOR DEL ENSILADO?

El ensilado es un producto estable a temperatura ambiente por mucho tiempo y se puede utilizar como materia prima para la elaboración de alimentos de consumo animal, considerando modificaciones en el manejo y proceso, con el fin de optimizar la calidad del producto. También existe una alternativa de valorización destinándolo a la formulación de fertilizantes (Wood, 1980), realizando modificaciones en el proceso, como la adición de compuestos que aporten nutrientes a los vegetales, para la formulación de un fertilizante foliar, así como también incorporar co-adyudantes para la granulación o pelletización de un fertilizante para aplicación a predios agrícolas. La utilización

de ensilaje para fines agrícolas, sin duda es materia de investigación y desarrollo ya que se plantean muchas interrogantes sobre su eficiencia en la aplicación a escala de campo. La Figura 1, presenta una serie de alternativas para la valorización de la mortalidad en pisciculturas.



Figura 1. Esquema de valorización de la mortalidad de las pisciculturas.

Una alternativa de gran potencialidad en el aprovechamiento de la mortalidad es el procesamiento para la elaboración de concentrados y/o hidrolizados proteicos que presentan un alto contenido de proteína, péptidos, aminoácidos libres, caracterizándose como una excelente fuente nutricional para la elaboración de dietas para consumo animal y que presenta muchas ventajas comparándola con la harina de pescado tradicional.

Es importante destacar que la harina de pescado es considerada la mejor fuente de proteína para las dietas de los salmones, debido a su alto contenido y buen balance de aminoácidos. Sin embargo, la limitada disponibilidad de este recurso, sus altos precios y el principio de sustentabilidad económica y medioambiental de la industria ha llevado a que el reemplazo de la harina de pescado en las dietas de salmones por otros ingredientes proteicos alternativos se haya acelerado en los últimos años. Los cambios en las formulaciones están tendientes a reemplazar la harina de pescado por proteínas vegetales y algunos concentrados proteicos de alta digestibilidad así como harinas de origen animal con valor agregado.

Los hidrolizados proteicos, consisten en someter la materia prima a una hidrólisis enzimática controlada (en relación sólido/líquido, temperatura, agitación, adición de enzima y tiempo, entre otros), con el fin de obtener péptidos de cadena corta con bajo peso molecular, que se traducen en una mejor digestibilidad, mayor crecimiento en etapas tempranas, tanto de peces como otros animales (cerdos y pollos), y reforzar el sistema inmune de los animales, lo que permite evitar enfermedades en la etapa temprana. Este proceso requiere know how tecnológico presente en el mundo y un mercado de destino exigente pero con alto valor. La diferencia de precio de un concentrado proteico de cadena corta (peptonas) es de un 90% aproximadamente con respecto a la de una harina de pescado.

EN RELACIÓN AL LODO

Como producto de la actividad piscícola, se genera una gran cantidad de lodos, los cuales tienen un elevado contenido de materia orgánica, macro y micronutrientes. Estos lodos deben ser tratados adecuadamente antes de su disposición final, de lo contrario producen un impacto ambiental y social negativo debido a malos olores, putrefacción, emisión de gases de efecto invernadero, contaminación de cauces de aguas, los cuales potencian pérdida del valor turístico de la zona, generan malestar en la comunidad y proyectan una pobre imagen de empresa al entorno y a la comunidad.

En la actualidad las empresas piscícolas asumen los costos asociados al retiro y disposición final de los lodos fuera de la región, costo que aumenta dependiendo del volumen a retirar. Esta práctica no representa una retribución monetaria provocando una baja frecuencia de retiro y pérdida de competitividad económica, además de la generación de malos olores en el sector.

¿CÓMO OBTENER VALOR DE ALGO QUE CREEMOS QUE NO LO TIENE?

¿Qué pasaría en el sector piscícola si de la noche a la mañana fuera prohibido eliminar o disponer materiales orgánicos en vertederos o rellenos sanitarios?, sin duda que dejaríamos de ver los lodos como un problema y lo veríamos como una oportunidad de negocios. Esta situación no es hipotética, ya sucedió en gran parte de los países europeos y naturalmente para ellos este tema no es un problema es una oportunidad de negocios y se han generado una gran diversidad de productos a partir de lodos de diferentes procesos industriales (productos ILSA, en Italia, Ergofito®, y Farture en Brasil, etc).

Por ejemplo, ILSA ha llegado a Chile, Perú y Argentina con toda la experiencia global y una amplia gama de productos nutricionales, bioestimulantes e inductores de resistencia. Paolo Girelli, presidente de ILSA Spa señala que ya en Italia, donde el mercado de fertilizantes es de 5 millones de TM, cerca de un 13% de los productos utilizados corresponde a fertilizantes a base de nitrógeno orgánico. La tendencia es clara: los agricultores buscan mayor eficiencia, que el producto aporte todos los nutrientes que la planta requiere durante su ciclo de cultivo y que no dañe el medioambiente.

Por sus características los lodos de piscicultura son fácilmente transformados en fertilizantes orgánicos a través de un proceso de digestión anaeróbica o compostaje y además pueden ser complementados con otros elementos necesarios para la nutrición vegetal y transformarse en fertilizantes organominerales.

Un fertilizante organomineral se define como un “producto resultante de la mezcla física o combinación de fertilizantes minerales y orgánicos” y en general presentan la ventaja de que se puede realizar una única aplicación, en lugar varias en formas parciales y frecuentes, gracias a que tiene liberación lenta.

PARÁMETRO	VALOR	OBSERVACIONES
pH	4,98 – 7,64 Aprox 12	Sin proceso de deshidratación Con proceso de deshidratación con químicos
Humedad	52,5 – 75% > 90%	Lodos deshidratados Lodos crudos, decantados y/o sin filtrar
Conductividad Eléctrica	3.150 – 24.200 $\mu\text{S}/\text{cm}$	Varia de acuerdo a la presencia de sales
Materia Orgánica	10,9 – 23,6%*	Valores variables dependiendo de la piscicultura
Nitrógeno Total	0,65 – 49,5%	Presenta gran variabilidad dependiendo de la piscicultura
Fósforo Total	862,5 a 32.493,4 mg/l.	Concentraciones de P total son elevados en comparación a las encontradas en suelos
Fósforo Disponible	550 y 1100 mg/l	Concentraciones de P disponible mayores a los encontrados en suelos
Potasio	65 – 486 mg/l	Concentraciones de K similares a las encontradas en algunos suelos
Metales Pesados	As 0,14 a 4,27mg/l Cd 0,22 a 3,22 mg/l Cu 4 a 31,3 mg/l Hg <1mg/l Mo <1,5 mg/l Ni 0,02 a 23,7 mg/l Pb 0,02 a 3,93 mg/l Se 0,39 a 3,18 mg/l Zn 6,05 a 1.12 mg/l	Las concentraciones de metales son bajas si se les comparan con las de los lodos sanitarios. En algunos casos Cd y Zn sobrepasan la NCH 2880 para compost de Clase A

Tabla 1. Algunos parámetros de lodos de piscicultura (elaboración propia a partir de datos de Ecoing, 2009)

Para una mayor facilidad de almacenamiento y aplicación, el digestato producto de la digestión anaerobia puede ser posteriormente transformados en un producto granular o bien peletizados. Este proceso es autosustentable ya que se genera gas metano como producto de la digestión anaerobia y se obtiene un fertilizante que permite cubrir la potencial demanda de fertilizantes inorgánicos con la ganancia de componentes orgánicos. Brasil ha incorporado los fertilizantes organominerales como una fuente de nutrientes dando valor a los residuos producidos por la propia actividad agroindustrial, casi duplicando el consumo en solo 10 años, pasando de 1.800.000 a 3.500.000 toneladas por año.

La generación de lodos en pisciculturas es inevitable, cada tonelada de salmón producido genera 1,4 m³ de lodos (Salazar et al., 2005). Estos lodos se generan básicamente por el alimento no consumido, fecas, orina, amonio, fósforo, nitrógeno, antibióticos, vacunas y desinfectantes. En general, del total del alimento suministrado para la producción de salmones cerca de un 25% de los nutrientes son asimilados por éstos, mientras que un 75% a 80% queda en el ambiente (columna de agua y sedimentos o lodos) (Ecoing, 2009). La composición de estos lodos es variable y el resultado dependerá del estado en el que se encuentren en el proceso (crudos, decantados, filtrados y deshidratados). En la Guía de Aplicación de Lodos de Piscicultura en Suelos (Ecoing, 2009), se pueden encontrar los rangos entre los cuales se encuentran los principales parámetros físicoquímicos de lodos de piscicultura.

Por otra parte, la valorización de los lodos permitirá la creación de un nuevo negocio innovador a partir de una materia prima disponible de bajo costo y recurrente.

La producción de fertilizantes organominerales provenientes de lodos de piscicultura se visualiza como una solución integral en la cadena de valor ya que resuelve el problema de los gastos en el que incurren los piscicultores para disponer el lodo y la necesidad de contar con fertilizantes con mayor eficiencia y que no dañen el medioambiente. Esto es especialmente relevante en la zona sur de Chile en donde existe gran extensión de suelos derivados de cenizas volcánicas (Andisol y Ultisol) con elevado porcentaje de saturación de aluminio y consecuentemente deficiencias de P disponible.

Lo anterior implica un elevado consumo de fertilizantes inorgánicos con el consiguiente riesgo ambiental cuando éstos se utilizan en exceso (eutrofización de cuerpos de aguas,

movimiento de metales pesados, aumento de la acidez, etc). Además, los fertilizantes a partir de residuos orgánicos, mejoran las propiedades físicas del suelo, incrementan la actividad microbiológica y la fertilidad de éstos, entre otros.

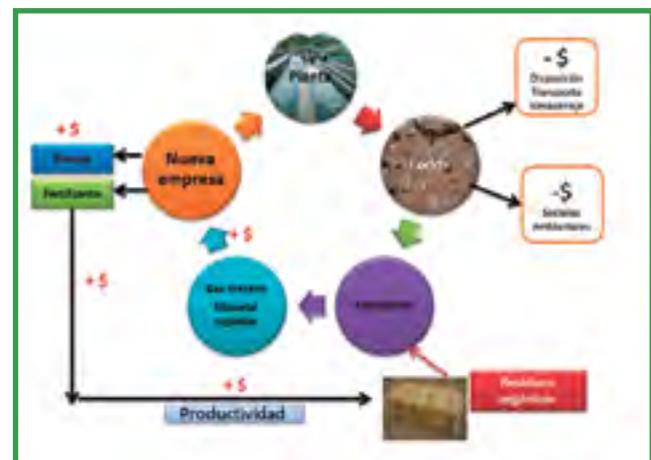


Figura 2. Esquema de valorización de lodos de pisciculturas.

La combinación ideal que se da en el sur de Chile entre la actividad agrícola y la actividad piscícola permite organizar la instalación estratégica de plantas de producción de fertilizantes organominerales en torno a la actividad piscícola la cual genera un residuo que tratado se convierte en un producto altamente demandado por la actividad agrícola (logística de distribución y comercialización). Por otro, la digestión anaerobia de los lodos, requiere de material lignocelulósico (rastros)

de cosechas, cascarillas de avena, cebada, podas, etc) para obtener una adecuada relación carbono/nitrógeno (C/N), material que se produce normalmente por la actividad agrícola.

Por otro lado, el fertilizante organomineral incrementa la productividad de los suelos obteniéndose un mayor ingreso y menores gastos de transporte.

La Figura 2, muestra el ciclo productivo de la actividad piscícola asociada a la actividad agrícola. Esta propuesta muestra que la valorización de los lodos permitirá además de los beneficios ambientales la creación de un nuevo negocio innovador a partir de una materia prima disponible de bajo costo con un mercado demandante de fertilizantes.

REFERENCIAS

Benites, V. (2013). Production of organic mineral fertilizer as an alternative for waste management. III SIGERA Marzo 14, 2013, São Pedro SP, Brasil.

Dias de Almeida, G., Pratisoli, D., Holtz, A.M., Vicentini, V. (2008). Fertilizante organomineral como inductor de resistência contra a colonização da mosca branca no feijoeiro. IDESIA (Chile), Volumen 26, N° 1, 29-32.

Ecoing (2009). Guía de aplicación de lodos de piscicultura en suelos. Pág. 21.

Morgan, I. (2007). Estabilización mediante compostaje de lodos de la piscicultura Coipúe. Tesis Universidad de La Frontera.

Resolución Exenta N° 1468, 2012. Programa Sanitario General de Manejo de Mortalidades y su Sistema de Clasificación

Estandarizado Conforme a Categorías Preestablecidas (PSGM). SERNAPESCA.

Salazar, F., Alfaro, M., Teuber, N., Saldaña, R. (2005). Uso de lodos uso de lodos de la industria salmonera en suelos agrícolas. Tierra Adentro 60: 35-37, Santiago, Chile.

Salazar, F. (2008) Informe final, Convenio Piscícola Entre Rios S.A. i INIA-Remehue. Pág. 23.

Tatterson, I. N. (1982). Fish silage-preparation, properties and uses. Feed Science and Technology. Volumen 7, 153-9.

Wood, J. F. (1980). The preparation of water-stable fish feeds. 2. The potential for fish silage as a fish feed ingredient. Trop. Sci., 22,357-60.

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PARA LA GESTIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS



UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
Instituto de Agroindustria



CAPACITACIÓN

Diplomados, talleres y cursos de capacitación

ASISTENCIA TÉCNICA

Estudios técnicos para la valorización y disposición de residuos para reutilización energética y silvo agropecuaria

SERVICIOS DE LABORATORIOS (Acreditación INN ISO:17025)

Laboratorios de ensayos ambientales (lodos, riles, compost)

www.cidgro.cl

Contacto: Carolina Calderón R. — Fonos: 045-2325492
Instituto de Agroindustria — Universidad de La Frontera



PLASTICOS AUSTRAL COMPAÑIA LTDA. M.R.



SELLADORAS

ROLLOS NEGROS Y TRANSPARENTES



BOLSAS



POLIETILENOS Y MALLAS



Fono - Fax: (65) 286 416 / 286 420 Cel. : 09 847 38 57 / 09 847 83 84 Egaña 970 Puerto Montt
pctapos@plasticosaustral.cl www.plasticosaustral.cl

BIOAUTOGRAFÍA:

Una técnica rápida y eficiente para la determinación de compuestos activos en mezclas complejas



Yurima Cortéz, Emilio Hormazabal y Andrés Quiroz
Laboratorio de Química Ecológica, Universidad de La Frontera
y.cortes01@ufromail.cl, andres.quiroz@ufrontera.cl

La actividad biológica exhibida por un extracto es por sí misma de interés. No obstante, este resultado corresponde sólo a una pieza preliminar en la búsqueda de compuestos bioactivos.

Determinar los compuestos responsables de una actividad biológica dentro de una mezcla compleja puede resultar laborioso. Purificaciones cromatográficas sucesivas, junto a las pruebas biológicas respectivas pueden significar una importante inversión en tiempo y recursos. En primer lugar, se necesita de una separación rápida y no específica. Un extracto crudo se puede separar para obtener fracciones. Mediante ensayos bio guiados, las fracciones pueden testarse para localizar fracciones activas. A continuación, las fracciones activas pueden ser sometidas a técnicas cromatográficas más específicas para obtener compuestos puros o fracciones con un alto grado de purificación. Finalmente, estos productos se pueden ensayar biológicamente y purificar mediante el uso de técnicas apropiadas para obtener nuevos metabolitos activos. Si a todo lo anterior sumamos que tras una separación cromatográfica se pueden obtener desde un par de fracciones hasta 20, 50 o más, se obtiene una matriz de ensayos de actividad biológica difícil de ejecutar. Esta extensa serie de pasos hace necesario el uso de una técnica más rápida y directa en la determinación de compuestos activos en mezclas complejas.

La bioautografía es una técnica sencilla y rápida que combina las ventajas de la cromatografía en capa fina y la detección de actividad biológica, especialmente antimicrobiana y anti-germinativa, logrando visualizar directamente la(s) banda(s) bioactiva(s), minimizando el efecto de enmascaramiento químico. Implementar esta técnica puede facilitar el panorama en el aislamiento de sustancias de importancia biológica presentes en mezclas complejas.

Para nuestra unidad académica, el uso de la bioautografía ha sido clave para identificar fracciones con un alto grado de purificación con actividad biológica sobre bacterias que constituyen plagas marinas. Anteriormente, se había incorporado el uso de la bioautografía en la determinación de actividad germinativa de

semillas de diferentes plantas sometidas a diferentes extractos naturales. Todo esto en el marco del **Control Integrado de Plagas**, la línea de investigación principal del Laboratorio de Ecología Química de la Universidad de La Frontera.

La técnica y su uso en microbiología

La bioautografía consta de dos etapas. La primera, corresponde al desarrollo de una cromatografía en capa fina y luego la realización de un bioensayo. Para esto, se siembra la muestra en una cromatoplaqueta y se eluye con la mezcla de solventes que produce la mejor separación de bandas. Cuando las cromatoplaquetas están desarrolladas y libres de solvente, se pulveriza una fina película de agar inoculado con microorganismos. Las cromatoplaquetas inoculadas se incuban dentro de cajas de Petri. Transcurrido el tiempo de incubación, las placas se pulverizan con una solución de un reactivo ad hoc para la determinación de viabilidad celular (sales de tetrazolio u otros colorantes). Las placas tratadas vuelven a incubarse. Estos ensayos se basan en la metabolización del colorante por parte de ciertas enzimas, obteniéndose como resultado un viraje de color durante la formación de los productos. Por lo tanto, las zonas de inhibición serán visibles debido a una diferencia de color producida por las bacterias inhibidas y no inhibidas. Finalmente, se determinará el factor de retención (RF) de cada banda activa. Para purificarlas, se desarrollará una nueva placa cromatográfica y las bandas activas se localizarán mediante el índice RF.



Foto 1: Hemorragia en órganos de trucha arcoíris provocada por *Yersinia ruckeri*



Foto 2. A) Desarrollo de la cromatografía en capa fina. B) Aspersión del inóculo bacteriano.

Actividad antibacteriana de fracciones obtenidas desde un extracto natural sobre *Yersinia ruckeri*, mediante el uso de la bioautografía

El grado de confinamiento dentro de una jaula de cultivo de salmones ha incidido fuertemente en la manifestación de enfermedades infecciosas, causando significativas pérdidas económicas en la industria. En este sentido, las enfermedades bacterianas, como es el caso de *Yersinia ruckeri* (Foto 1), representan un porcentaje importante en los costos de producción de los peces, debido a que las cantidades de antibióticos aplicadas son cada vez mayores. Adicionalmente, estas medidas de control han resultado menos exitosas producto del aumento de la resistencia de las bacterias patógenas. Considerando estos antecedentes, surge la necesidad de obtener nuevas sustancias de origen natural con propiedades antibacterianas.

Los resultados que se muestran en este documento corresponden a la evaluación de la actividad antibacteriana de 20 fracciones de un extracto natural sobre *Y. ruckeri*. Primero, se sembró cada fracción en una cromatoplaque y se eluyó con la mezcla adecuada para cada una de ellas (Foto 2A). Con las cromatoplaques desarrolladas y libres de solvente, se pulverizó una fina película de agar inoculado con microorganismos a una densidad equivalente

a la turbidez 0,5 de la escala de McFarland (Foto 2B). Las cromatoplaques inoculadas se incubaron dentro de placas de Petri sobre papel filtro humedecido. Transcurrido el tiempo de incubación, se pulverizó sobre las placas una solución de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT, 1 mg/ml) y se incubaron nuevamente. Este ensayo se basa en la reducción metabólica del MTT por parte de la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa, obteniéndose un compuesto coloreado de color azul-violetáceo (formazán). Por lo tanto, las zonas de inhibición son visibles como manchas claras sobre un fondo violeta oscuro (Foto 3). Se determinó el factor RF de cada banda activa.

Gracias a la bioautografía fue posible determinar fracciones activas y localizar bandas o spots con actividad antibacteriana realizando un único bioensayo. A partir de 20 fracciones obtenidas en una columna cromatográfica, se pudo determinar que 9 fueron activas biológicamente, y que 15 spots eran los responsables de esa actividad. Para purificarlas, se desarrolló una placa cromatográfica preparativa y las bandas activas se localizaron mediante el índice RF.

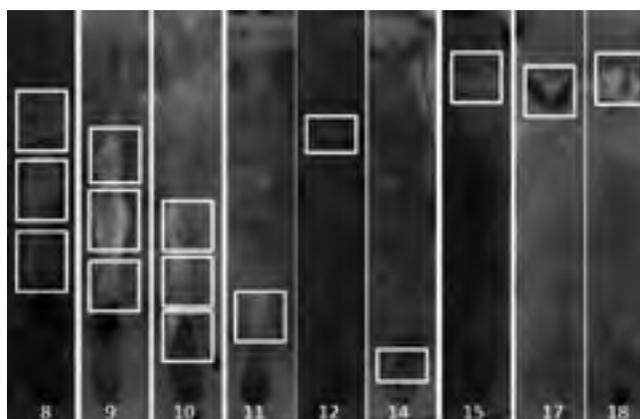


Foto 3. Bandas con actividad antibacteriana (cuadro blanco) purificadas desde un extracto natural.

Proyecciones

Determinar mediante un único bioensayo extractos y spots activos de una manera rápida y eficiente, abre mayores posibilidades de encontrar fuentes de compuestos con actividad biológica.

El enmascaramiento de compuestos químicos es un fenómeno conocido en el área de Productos Naturales, y reducir su interferencia amplía las posibilidades de una búsqueda exitosa de metabolitos bioactivos. Extractos crudos o ligeramente purificados pueden ocultar compuestos de gran importancia, cuya actividad no se manifiesta dentro de una mezcla compleja de metabolitos.

Se puede proyectar a partir de esto, estudios tipo screening en combinación con ensayos bioautográficos, los cuales informarán no sólo la actividad biológica de un extracto de una fuente determinada, sino también los spots responsables de la actividad.

SIEMBRA DE TRUCHA ARCOÍRIS:

Antecedentes sobre su adaptación al agua de mar durante el proceso productivo



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Sergio Arriagada¹, Mónica Ojeda¹, Nelson Colihueque², Oscar Mora¹, Mauricio Pineda¹ & Oscar González¹¹Laboratorio ATP-asa. Unidad de Producción Acuicola.²Departamento de Ciencias Biológicas y Biodiversidad. Universidad de Los Lagos. Osorno, Chile.

sergio.arriagada@ulagos.cl



Producción de trucha

Oncorhynchus mykiss es una de las especies más importante en la acuicultura mundial, ubicándose el año 2009 en el 9^{no} lugar con respecto a todas las especies de peces cultivadas y en el segundo lugar dentro de los salmonídeos, después del salmón del atlántico (FAO 2009). En el contexto internacional, Chile se ubica como el primer productor mundial de trucha arcoíris, alcanzando el año 2011 alrededor de 225 mil toneladas, representando un 35% de la producción nacional de salmonídeos (Sernapesca 2011).

¿Trucha migrante o residente?

O. mykiss presenta una gran variación fenotípica entre poblaciones, existiendo una variedad de ciclo de vida migratorio y otra con un ciclo de vida residente en agua dulce (Hershberger, 1982). La cepa migratoria conocida como *steelhead* (cabeza de acero) se caracteriza por permanecer entre 1 a 3 años en agua dulce antes de comenzar el proceso de esmoltificación y migrar al mar (Folmar and Dickhoff 1988). La esmoltificación es definida como el periodo pre-adaptativo, en el cual el pez desarrolla una capacidad hipo-osmoreguladora que le permite vivir en condiciones marinas; este proceso de transformación de parr-smolt involucra una serie de cambios inter-relacionados, de tipo morfológicos, fisiológicos y conductuales, que son expresados bajo una sincronización interna (eje nervioso-endocrino) y externa (Saunders and Harmon, 1990; McCormick *et al.* 1987). Los factores externos que determinan este proceso son el fotoperiodo que actúa como sincronizador y la temperatura, que controla la velocidad del proceso (Handeland *et al.* 2004). Por otro lado, la variedad rainbow (arcoíris) de *O. mykiss* es de tipo residente (presenta todo el ciclo de vida en agua dulce y no migra al mar) y no experimenta el proceso de esmoltificación (Hershberger 1982). Sin embargo, para fines de cultivo intensivo y para facilitar su producción en centros de engorda ubicados en mar y estuario, en el pasado se realizó la domesticación de la variedad residente (Boeuf and Harache 1982), además de hibridaciones entre las variedades rainbow y steelhead que facilitarían la adaptación y tolerancia al agua de mar de los peces, independiente a la estación del año. Una de las primeras cepas híbridas con fines productivos fue la *Donaldson*, originada en la Universidad de Washington alrededor de 1950.

Esto ayudó a promover el cultivo intensivo en el mar y estuario, además de dar pie a la selección genética de nuevas cepas, con énfasis en la selección de características reproductivas y de rápido crecimiento (Johnsson *et al.*, 1994, Ireno *et al.*, 2005), adquiriendo todas estas cepas híbridas el nombre genérico de "rainbow" o trucha arcoíris, sin ser cepas residentes puras.

Siembra de "trucha arcoíris" en condiciones marinas

Esta consensuado que la etapa de siembra desde el agua dulce hacia los centros de engorda en mar y estuario constituye un periodo crítico en el ciclo productivo. Una buena adaptación de los peces a las condiciones marinas post-siembra es de vital importancia para la industria; peces bien adaptados y con una buena tolerancia al agua de mar presentarán bajas tasas de mortalidad, adecuadas tasas de alimentación y de crecimiento después del traslado. Por el contrario, cuando el pez no tiene una buena adaptación al mar presentará fallas osmoreguladoras, que se manifestarán en altas tasas de mortalidad post-traslado, bajas tasas de alimentación y bajas tasas de crecimiento, además de un alto riesgo sanitario debido a un incremento en la susceptibilidad a enfermedades (Folmar *et al.*, 1988; McCormick and Saunders, 1987; Hoar 1988). En condiciones productivas esta baja tasa de crecimiento con respecto a peces bien adaptados al agua de mar puede prolongarse hasta la cosecha de los ejemplares o bien ser detectada al momento de realizar una selección de tamaño, involucrando en ambos casos pérdidas económicas.

Al exponerse al agua de mar los peces presentan un episodio de estrés hiper-osmótico agudo, experimentan un rápido incremento en la concentración de iones plasmático y una subsecuente deshidratación de los tejidos (Bath and Eddy 1979). Como medida compensadora, la pérdida de agua es contrarrestada por un fuerte incremento en la tasa ingestión de agua y una caída en la producción de orina, debido a una disminución en la filtración glomerular. Durante las primeras horas, la producción de orina puede reducirse a un 25%, estabilizándose a un 1% después de 4 horas (respecto a la producción de orina en agua dulce). Por otro lado, la tasa de ingestión de agua puede incrementarse desde cero a 25 mL Kg⁻¹, estabilizándose

a niveles a 5 mL Kg⁻¹ después de 8 horas post transferencia (Høgåsen 1998). Sin embargo, estas medidas compensadoras son sólo complementarias, ya que los procesos que le permite al pez una buena adaptación al agua de mar a largo plazo son las modificaciones morfológicas y fisiológicas en los órganos osmoreguladores, particularmente el incremento del número de las células de cloruros en las branquias y el intestino, las que son responsables de la eliminación activa de sales (McCormick, 2001; McCormick and Bradshaw, 2006), existiendo un alto grado de asociación entre el incremento de la actividad enzimática Na⁺K⁺ ATPasa branquial (producto del incremento en tamaño y número de células de cloruro) y un aumento en la tolerancia al agua de mar (McCormick, 2001).

Variables que afectan la adaptación al agua de mar en trucha arcoíris

Truchas de mayor tamaño están asociadas a una mayor sobrevivencia posterior a la exposición al agua de mar. Para peces de 30g la mortalidad y las perturbaciones osmóticas incrementan a partir de salinidades mayores a 15‰, incrementando rápidamente la osmolaridad en el plasma a salinidades sobre 28‰ (Johnsson and Clarke 1988). Para peces entre 40 a 60 g la tasa de crecimiento es más baja a salinidades de 20 que a 8‰ (Jürs 1986). Para peces de 51 a 153 g la tasa de crecimiento decrece con el incremento de la salinidad desde 10‰ a 20 y 35‰ (McKay and Gjerde 1985). Por otro lado, se ha reportado que peces entre 40 a 120 g pueden tolerar de forma directa el traslado desde el agua dulce hacia salinidades de 26‰ sin signos visibles de estrés, sin embargo, pueden presentarse altas mortalidades a bajas temperaturas (1°C) (Finstad *et al.* 1988). Sin embargo, la variedad steelhead y la variedad rainbow pueden presentar diferente grado de asociación entre el tamaño y la tolerancia a la salinidad, el tamaño mínimo en la variedad steelhead es menor que en la variedad rainbow y similar al tamaño mínimo registrado en el salmón del atlántico, por otro lado la variedad rainbow requiere un tamaño mínimo mayor, similar a otras especies residentes como la trucha de arrollo (Figura 1).

Los salmonídeos no-anádromos, no presentan o presentan muy pocas de las características de la esmoltificación asociadas a cambios estacionales (fotoperíodo). No existe asociación entre el

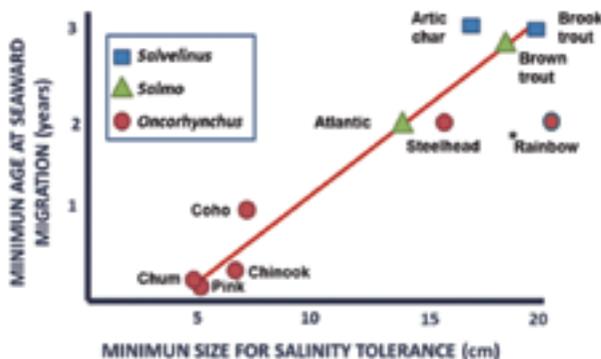


Figura 1. Relación entre la edad de migración hacia el mar y el tamaño mínimo de tolerancia a la salinidad, para diferentes salmonídeos. Modificado de McCormick 1994; * el tamaño mínimo para la variedad rainbow fue tomado desde Johnsson and Clarke 1988.

ciclo estacional y la actividad Na⁺K⁺ ATPasa branquial en peces cultivados a una temperatura constante (McCormick and Naiman 1984). Esta falta de asociación entre la estacionalidad y la actividad Na⁺K⁺ ATPasa branquial es consistente tanto en trucha arcoíris variedad residente como en los híbridos entre la variedad steelhead y rainbow. Sin embargo, se mantiene un alto grado de asociación entre el incremento de la actividad enzimática Na⁺K⁺ ATPasa branquial y la tolerancia al agua de mar (Johnsson *et al.* 1994). Bajo este escenario, se han utilizado diferentes estrategias para mejorar la adaptación al agua de mar en trucha arcoíris, incluyendo tratamientos hormonales mediante cortisol y la hormona del crecimiento (Madsen, 1990), aumentar el contenido de sal en la dieta (Salman y Eddy, 1989), transferir gradualmente los peces al agua de mar y aumentar progresivamente la condición de salinidad externa (Fuentes *et al.* 1997).

Aproximación Genética

En los últimos años el problema de la osmoregulación en trucha arcoíris ha tenido una aproximación genética mediante el uso de marcadores genéticos y la construcción de mapas genéticos, los cuales representan una herramienta altamente efectiva para comprender en mayor profundidad la base genética de los rasgos asociados a la osmoregulación. Un avance importante en este tema ha sido la identificación de QTLs (zonas del genoma que controlan rasgos cuantitativos), los cuales son importantes para conocer la base molecular de diversos rasgos, incluidos los rasgos asociados a la esmoltificación y osmoregulación. Otros QTLs previamente descritos en esta especie (alrededor de una quincena) tienen que ver con otros rasgos, tales como, el peso del cuerpo, la resistencia a enfermedades (IPNV y IHNV), la tolerancia a altas temperaturas, la fecha de desove y la maduración temprana (Araneda *et al.* 2008). En cuanto al conocimiento de la base genética del proceso de esmoltificación y osmoregulación, sólo en los últimos años se han producido avances importantes. En particular, Nichols *et al.* (2008) describen varios QTLs que controlarían algunos rasgos morfológicos relacionados con la esmoltificación, tales como, tasa de crecimiento, forma del cuerpo, reflectancia de la piel (aspecto plateado o no plateado), factor de condición, y tipo de fenotipo (smolts o no smolts). Asimismo, Le Bras *et al.* (2013) reportan la existencia de 6 QTLs asociados a la osmoregulación y que controlarían significativamente los niveles de iones plasmáticos en trucha arcoíris, específicamente de cloruro y del ion sodio, cuya concentración refleja el grado de adaptación de los peces cuando éstos son cultivados en un medio hiperosmótico (salinos). Otros trabajos indican la existencia de un alto grado de heredabilidad de la esmoltificación en trucha arcoíris (Johnsson *et al.* 1994), lo cual sugirió tempranamente la presencia de un componente genético importante durante el proceso de adaptación al medio marino en esta especie, al igual como se ha observado en otros salmonídeos. De este modo, la base genética de la osmoregulación en medios salinos en trucha arcoíris dependería de QTLs, los cuales en conjunto determinarían el complejo cambio fisiológico y morfológico que sufren los peces durante este proceso. Además, este conocimiento tiene proyecciones aplicadas, puesto que todavía no está claro por qué algunas cepas de cultivo de trucha arcoíris no se adaptan bien



Figura 2. Ejemplar de *Oncorhynchus mykiss*

durante su cultivo en el mar, lo cual se traduce en bajos rendimientos productivos (alta mortalidad, bajo peso, etc.). En Chile actualmente se utilizan alrededor de 5 cepas de trucha arcoíris para la producción. Sin embargo, todavía no está claro su grado de hibridación desde el punto osmoregulador; cepas con mayor componente genético de truchas migratorias (steelhead) podrían

tener un comportamiento osmoregulador más asociado a la estacionalidad, en cambio cepas con mayor componente genético de truchas residentes (rainbow) su comportamiento osmoregulador podría estar más asociado al tamaño (Jackson, 1981; Alexis et al., 1984; Johnsson and Clarke 1988).

Tanto las cepas producidas en Chile como las importadas están asociadas a los nombres de los proveedores, desconociéndose las características genéticas y fisiológicas asociadas a la osmoregulación, que puedan permitir determinar anticipadamente su capacidad osmoreguladora en estuario o mar. De este modo el conocimiento de los factores que afectan la adaptación al mar de las distintas cepas de *Oncorhynchus mykiss* cultivadas en Chile son de gran importancia para favorecer las condiciones sanitarias y competitividad de la industria salmonicultora nacional.

Referencias Bibliográficas

- Alexis, M.N., Paparaskeva-Papoutsoglou, E., Papoutsoglou, S., 1984. Influence of acclimation temperature on the osmotic regulation and survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) rapidly transferred from fresh water to sea water. *Aquaculture* 40, 333–341.
- Araneda C, Neira R, Lam N, Iturra P. *Salmonids*. 2008. In: Kocher T, Kole C, editors. *Genome Mapping and Genomics in Fishes and Aquatic Animals*. Springer Verlag; Berlin. pp. 1–43.
- Bath, N.R. and Eddy, F.B., 1979. Salt and water balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) rapidly transferred from freshwater to seawater. *J. Exp. Biol.*, 83: 193-202.
- Besner, M., Pelletier, D., 1991. Adaptation of the brook trout (*Salvelinus fontinalis*) to direct transfer to sea water in spring and summer. *Aquaculture* 97, 217–230.
- Boeuf, G., and Y. Harache. 1982. Criteria for adaptation of salmonids to high salinity sea water in France. *Aquaculture* 28: 163- 176.
- FAO *Aquaculture Department* 2009. FIPS - FishStatJ, a tool for fishery statistics analysis Release: 1.0.1 Dataset: Aquaculture production: quantities 1970-2009.
- Finstad, B., K.J. Nilssen and A.M. Arnesen. 1989a. Seasonal changes in sea-water tolerance of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *J. Comp. Physiol.* 159B:371-378.
- Folmar, L.C. and W. Dickhoff. 1988. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. A review of selected literature. *Aquaculture* 21: 1-37.
- Fuentes J., L. Soengas, P. Rey and E. Rebolledo. 1997. Progressive transfer to seawater enhances intestinal and branchial Na⁺K⁺ ATPase activity in non-anadromous rainbow trout. *Aquaculture International* 5, 217–227.
- Handeland, S.O., Wilkinson, E., Sveinsbo, B., McCormick, S.D., Stefansson, S.O. 2004. Temperature influence on the development and loss of seawater tolerance in two fast growing strains of Atlantic salmon. *Aquaculture*. 233, 513-529.
- Hershberger, W. K. 1982. Genetic variability in rainbow trout populations. *Aquaculture* 100: 5 1-78.
- Hoar, W.S. 1988. The physiology of smolting salmonids. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. 11B. Academic Press, London, pp. 275 – 343.
- Høgåsen, H.R. 1998. Physiological Changes Associated with the Diadromous Migration of salmonids. *Can. Spec. Publ. Fish Aquat. Sci.* 127. 128 p.
- Ineno T, Tsuchida S, Kanda K, Watabe S (2005) High temperature tolerance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* selected by high temperature breeding. *Fish Sci* 71:767–775.
- Jackson, A.J., 1981. Osmotic regulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) following transfer to sea water. *Aquaculture* 24, 143–151.
- Johnsson, J. and Clarke, W.C., 1988. Development of seawater adaptation in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and domesticated rainbow trout (*Salmo gairdneri*) - effects of size, temperature and photoperiod. *Aquaculture*, 71: 247-263.
- Johnsson, J.I., Clarke, W.C. and Withler, R.E., 1994. Hybridization with domesticated rainbow trout reduces seasonal variation in growth of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 480-487.
- Jürss, K., T. Bittorf and T. Völkler. 1986. Influence of salinity and food deprivation on growth, RNA/DNA ratio and certain enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Comp. Biochem. Physiol.* 83B:425-433.
- Le Bras, Y., N. Dechamp, F. Krieg, O. Filangi, R. Guyomard, M. Bousaha, H. Bovehuis, T.G. Pottinger, P. Prunet, P. Le Roy and E. Quillet (2011). Detection of QTL with effect on osmoregulation capacities in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BMC Genetics* 12:46
- Madsen, S.S. (1990) Cortisol treatment improves the development of hypoosmoregulatory mechanisms in the euryhaline rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish Physiology and Biochemistry* 8, 45–52
- McCormick, S.D. and R.J. Naiman. 1984. Osmoregulation in the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. II. Effects of size, age and photoperiod on seawater survival and ionic regulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 79A:17-28.
- McCormick, S.D. and Saunders, R.L., 1987. Preparatory physiological adaptations for marine life of salmonids: osmoregulation, growth, and metabolism. *Am. Fish. Soc. Symp.* 1, 211 – 229
- McCormick, S.D., 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *Am. Zool.* 41, 781–794.
- McCormick, S.D., Bradshaw, D., 2006. Hormonal control of salt and water balance in vertebrates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 3–8
- McKay, L.R. and B. Gjerde. 1985. The effect of salinity on growth of rainbow trout. *Aquaculture* 49: 325-331
- Nichols, K, A. Felipe, P.A. Wheeler and G.H. Thorgaard (2008). The genetic basis of smoltification-related traits in *Oncorhynchus mykiss*. *Genetics* 179: 1559-1575.
- Salman, N.A. and Eddy, F.B. (1989) Effects of dietary sodium chloride on growth, food intake and conversion efficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 70,131–144.
- Saunders, R.L., Harmon, P.R., 1990. Influence of photoperiod on growth of juvenile Atlantic salmon and development of salinity tolerance during winter – spring. *Trans. Am. Fish. Soc.* 119, 689-697
- Sernapesca. 1978-2011. Anuario Estadístico de Pesca. Servicio Nacional de Pesca. Chile.
- Taylor J., Needham M., North B., Morgan A., Thompson K. and Migaud H. 2007. The influence of ploidy on saltwater adaptation, acute stress response and immune function following seawater transfer in non-smolting rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology* vol. 152. 314–325 pp.



Universidad Católica de la Santísima Concepción

Facultad de Ciencias

QUÍMICO AMBIENTAL



El Químico Ambiental, es un Profesional capacitado para detectar, identificar, los cambios operados en los ecosistemas, y proponer medidas de mitigación y reparación, abordar los problemas con la visión ética en la prevención, protección y conservación del medio ambiente desde el punto de vista de las ciencias químicas.

Áreas de Especialización

- Bioremediación
- Biotecnología Ambiental
- Química de Sistemas Acuáticos
- Tratamiento de Residuos Industriales



BIÓLOGO MARINO



El Biólogo Marino, es un Profesional con fuerte formación en el desarrollo de la investigación científica, evaluación, explotación y protección de recursos biológicos y sus ambientes.

Áreas de Especialización

- Manejo y Conservación
Modelamiento de los sistemas acuáticos
- Producción
Cultivo de especies de importancia económica
- Biología Avanzada
Ecología, Genética, Biología de especies, Parasitología



Magíster en Ecología Marina

El Programa de Magíster en Ecología Marina enfatiza una formación de carácter académico-científico, centrado en la comprensión y dominio de los marcos conceptuales y empíricos fundamentales en la Ecología, relativos a la Organización, Estructura y funcionamiento de sistemas biológicos.

Campus San Andrés,
Alonso de Ribera 2850, Concepción

ciencias.ucsc.cl



Centro Regional de Estudios Ambientales Universidad Católica de la Santísima Concepción



El Centro Regional de Estudios Ambientales (CREA) es una unidad de servicios de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, creada para la generación de investigación científico-técnica y desarrollo de estudios en el área medio ambiental, como una respuesta a la creciente necesidad de las empresas de la región y del país, por contar con una oportuna asistencia, colaboración y asesoría ambiental, que les permita responder a los requerimientos internos corporativos y aquellos que exige la Autoridad Ambiental en el país.

Claudio Espinoza Mendoza, Ms Medio Ambiente

Programas de Vigilancia o Monitoreo Ambiental: Toma de decisiones correctas en la conservación y uso sustentable de los recursos naturales

Los Programas de Vigilancia o Monitoreo Ambiental (PVA), son un conjunto de actividades que se desarrollan periódicamente en el tiempo, con la finalidad de evaluar la variabilidad espacial y temporal de la calidad ambiental de un ecosistema, de manera de estimar si el normal funcionamiento de algún Proyecto tiene alguna influencia sobre el medio receptor. Dentro de la amplia gama de estudios que forman parte de estos PVA, se encuentran aquellos destinados a la evaluación tanto del medio natural como el socioeconómico y cultural, ya que en conjunto entregarán información para la correcta toma de decisiones orientadas a la conservación y uso sostenible de los recursos naturales.

En este sentido, parte fundamental de estos PVA es la toma de información en terreno, la cual debe ser recolectada por personal calificado, esto permite aplicar distintas metodologías de análisis de la información, obteniendo conclusiones coherentes y robustas, las cuales sentarán las bases para un buen manejo ambiental.



Muestreo correntometría en el Golfo de Arauco.



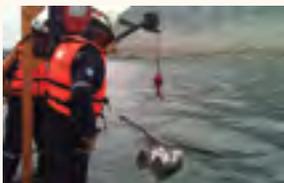
Muestreo del intermareal en Constitución.

Patricio Torres Ramírez, Biólogo Marino.

Programa de Monitoreo del Ambiente Marino, Punta Coloso, Antofagasta



Actividad de muestreo del intermareal rocoso.



Actividad de muestreo submareal fondos blandos.

El Centro Regional de Estudios Ambientales, ejecuta el Programa de Monitoreo del Ambiente Marino, de Minera Escondida Limitada (MEL), desde el año 2011, el cual se enmarca dentro de la política ambiental de ésta empresa.

Esta compañía minera se dedica a la producción de concentrado de cobre y se encuentra en operaciones desde fines de 1990, con un puerto de carguío de concentrado de cobre ubicado al sur de la ciudad de Antofagasta, en el sector de Puerto Coloso.

Este Programa de Monitoreo, entrega información de las condiciones ambientales en el área de influencia de la actividad de carguío de mineral en el sector de Punta Coloso.

El monitoreo se enmarca en diversas áreas del que hacer de la investigación marina, entre ellas las oceanográficas, comunidades submareales de fondos blandos y duros, comunidades del intermareal, variables físico-químicas en agua, sedimento y organismos y un seguimiento de la Pesca Artesanal.

Sergio Figueroa A., Biólogo Marino.

Comunidades planctónicas en el estudio de ecosistemas costeros con intervención antropogénica

El estudio de las comunidades planctónicas es una herramienta ampliamente utilizada en ecología tanto en ambientes marinos como dulceacuícolas, ya que conforma la base de la trama pelágica acuática modulando los subsiguientes compartimentos hacia niveles mayores. La estructura de estas comunidades representadas por parámetros como presencia/ausencia, dominancia, diversidad, riqueza y distribución de ciertas especies, puede brindar valiosa información acerca de posibles cambios que ocurren en los ecosistemas tanto en la escala espacial como temporal.

El laboratorio de Estudios Planctónicos Ambientales (LEPA) es el encargado de identificar, cuantificar y analizar las comunidades planctónicas asociadas a los proyectos ambientales desarrollados por el CREA-UCSC, tanto en agua dulce como en el océano. La importancia de esta generación de información es utilizar las comunidades planctónicas como indicadores de variabilidad en los sistemas marinos costeros, estuarinos y dulceacuícolas. La información generada se correlaciona con variables ambientales (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH, etc.) para poder resolver mediante esta herramienta, las interrogantes que implican proyectos industriales y el efecto que estos podrían tener sobre los ecosistemas aledaños.



Diversidad de copépodos (zooplancton).



Diversas diatomeas (fitoplancton).

Marcelo Pavez Carrasco, Doctor en Oceanografía.

Pablo González Salazar, Biólogo Marino.

Evaluación Ecotoxicológica mediante Bioensayos y Biomarcadores



Especie de prueba para bioensayos *D. magna*.



Los bioensayos son herramientas utilizadas en el estudio de los efectos de los agentes tóxicos de origen antropogénico en los ecosistemas acuáticos y terrestres. Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales, del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones de concentración-respuesta, bajo condiciones controladas en laboratorio.

Los biomarcadores se definen como una medida funcional de exposición a agentes estresantes, usualmente expresadas a través de medidas de nivel subcelular de organización biológica (Adams *et al.*, 2001). La importancia del desarrollo de estas técnicas es ser complemento de una serie de análisis que permiten tener una visión más global de la salud ambiental del ecosistema que se está impactando, teniendo, no solo los efectos agudos y más visibles, sino también de aquellos que pueden ser sólo observados a través del un periodo de tiempo más prolongado.

El laboratorio de Ecotoxicología del CREA, ha desarrollado bioensayos y Biomarcadores estandarizados y protocolarizados, según norma chilena y extranjera (US-EPA), con la finalidad de evaluar la calidad ambiental y entregar una visión amplia de los potenciales efectos de los residuos de origen antropogénico sobre los sistemas, tanto marinos como dulceacuícolas.

Marisol Gajardo Castillo, Biólogo.

Margarita Donoso Gajardo, Msc Biológicas (c).

Flora y Fauna terrestre del Sector Cordillera de la Costa Región del Biobío

Los estudios de biodiversidad en Plantaciones forestales, realizados en la Cordillera de la Costa, consideran la caracterización de Flora, Vegetación y Fauna.

La flora corresponde a formaciones dominadas por especies arbóreas; tales como los bosques, otras dominadas por hierbas y praderas arbustivas, como los matorrales.

Para los estudios de fauna, se analiza la composición y distribución de las diferentes taxa de vertebrados terrestres existentes en un área (aves, reptiles, anfibios, mamíferos, etc.), considerando su relevancia ecológica y categorías de conservación. Así, la dominancia de las diferentes unidades homogéneas de vegetación es homologada a los distintos usos de suelo presentes en el área de estudio.



Formación vegetal de Bosque Nativo.

Rodolfo Jerez Ruíz, Biólogo.

Red de observación oceanográfica en línea: HERRAMIENTA IMPRESCINDIBLE PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE DE LA PATAGONIA



Universidad de Concepción

www.sur-austral.udec.cl



La oceanografía actual está avanzando en un proceso similar al de la climatología en términos de desarrollo de modelos predictivos y de escenarios futuros. Para ello, se requieren robustas y continuas observaciones en el tiempo, la generación de conocimiento para entender procesos claves que ocurren en el ambiente marino y el desarrollo de capacidades de diagnóstico y pronóstico oportuno.

Este desarrollo –aplicado en la Patagonia chilena- exige considerar sus peculiares características geográficas y topográficas que conforman un complejo sistema de islas, fiordos, bahías y canales. En total son 240.000 km² de superficie y 60.000 km de borde costero distribuidos tanto en el continente como en las más de 2.000 islas que conforman el archipiélago austral.

(Figura 1).

Asimismo, existe un amplio rango de regímenes de marea con amplitudes que pueden llegar hasta 8 m de altura y algunos kilómetros en el eje horizontal. A la enorme influencia de las corrientes y vientos provenientes desde el océano Pacífico en esa región, deben sumarse extraordinarios aportes de agua dulce provenientes de los 10.000 mm anuales de precipitación y la permanente fusión de hielos de glaciares.

La investigación oceanográfica es vital para actividades como la acuicultura, la pesca, el turismo, la navegación y la conservación, todas altamente dependientes de los ecosistemas acuáticos y que, crecientemente, requieren de información y conocimiento para tomar decisiones -públicas y privadas- en pos de su desarrollo y crecimiento sustentable.

Desde 2008, el Programa de Financiamiento Basal COPAS Sur-Austral de la Universidad de Concepción, financiado por CONICYT, ha estado trabajando en las regiones australes, en asociación con instituciones como el Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP) y el Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA).

El Programa busca introducir a la oceanografía en la ecuación de toma de decisiones para contribuir al desarrollo económico, productivo y tecnológico de las regiones de Los Lagos y Aysén. Dos actividades claves que apuntan a este objetivo son: la conformación de una red de observación remota, en tiempo real, de la oceanografía de canales y fiordos de la Patagonia chilena; y el desarrollo de estudios ecosistémicos en zonas de alta variabilidad ambiental asociados con aportes de agua dulce en los fiordos patagónicos.

La observación y captura de datos en ambientes marinos se ha realizado mediante campañas oceanográficas, utilizando naves, equipamiento y personas altamente especializadas que cubren escalas espaciales y temporales limitadas debido a la extensión del sustrato de estudio, las dificultades de acceso y de conectividad, y los altos costos involucrados. La tecnología moderna, permite utilizar sistemas de observación remota con sensores climáticos y oceanográficos que capturan, registran, almacenan, procesan y envían la citada información en tiempo real a plataformas de trabajo y visualización.

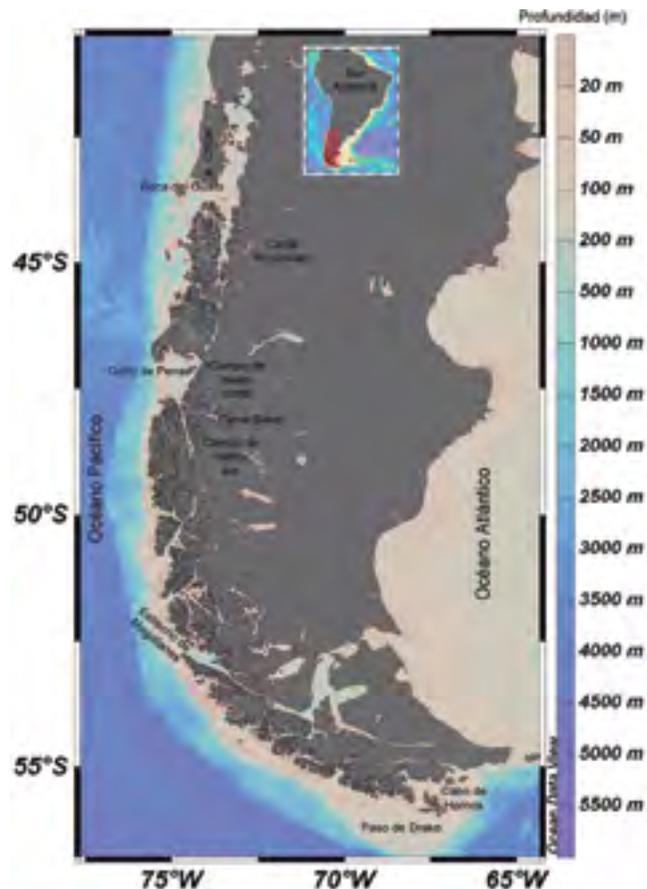


Figura 1. Mapa general de la Patagonia



Figura 2. Boya oceanográfica y meteorológica instalada en canal Puyuhuapi, Región de Aysén. Programa COPAS Sur-Austral.



Figura 3. Estación oceanográfica instalada en un centro de cultivo de la Región de Aysén (foto: gentileza Dr. Iván Pérez, investigador del Programa COPAS Sur-Austral y del Proyecto INNOVA de CORFO, liderado por el CIEP).

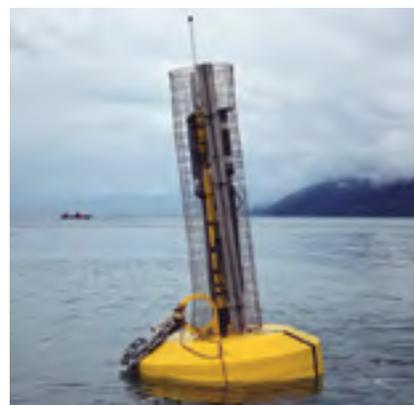


Figura 4. Observatorio oceanográfico biogeoquímico instalado en Cochamó, fiordo Reloncaví, Región de Los Lagos (imagen proporcionada por Dr. Carlos Moffat, investigador del programa COPAS Sur-Austral y director del proyecto FONDEQUIP AIC-45).

Recientemente, en el ámbito de la acuicultura austral, el monitoreo en línea, es decir, recolectar información ambiental en tiempo real en los fiordos y canales de la Patagonia chilena, ha surgido como una necesidad impostergable para la adecuada sincronización entre el manejo productivo y las condiciones ambientales (por ejemplo, los horarios de alimentación). Disponer de información en tiempo real, construir y comprender tendencias de comportamiento de algunas variables claves (por ejemplo, temperatura y oxígeno disuelto) puede ayudar a comprender otros procesos como las recurrentes emergencias sanitarias. Esta situación concitó la implementación de estrictas medidas sanitarias para controlar la epidemia del virus ISA, modificaciones de la normativa ya existente y la elaboración de nuevas regulaciones. La importancia de desarrollar sistemas de monitoreo para el desarrollo sustentable de la acuicultura, se refleja en una de las últimas modificaciones a la Ley General de Pesca y Acuicultura, promulgada en Abril de 2010 que establece en su artículo 87 ter:

“A fin de tener un control en línea de los parámetros ambientales de las agrupaciones de concesiones acuícolas, éstas deberán disponer de una tecnología que registre y transmita, al menos, indicadores de conductividad, salinidad, temperatura, profundidad, corrientes, densidad, fluorescencia, turbidez según lo establezca el reglamento”.

La información y el conocimiento que se generen con los registros continuos en el tiempo, permitirán -en el mediano y largo plazo- tomar mejores y oportunas decisiones, aportando al diseño o rediseño de normativas ambientales, al establecimiento de zonas y/o épocas de resguardo, a la estimación de capacidad de carga en acuicultura y de modelos productivos (cuánto es saludable cultivar), a explicar procesos y relaciones causa-efecto y, con el tiempo, la capacidad de configurar escenarios ambientales.

Sin duda que hoy enfrentamos el desafío de construir el primer peldaño de los muchos que deben conformar una red de monitoreo oceanográfico en la Patagonia.

Aunando la experiencia adquirida en los primeros cinco años del Programa COPAS Sur-Austral y con la colaboración del Centro de Investigación en Ecosistemas de la Patagonia CIEP, los esfuerzos se han materializado en la implementación de tres tipos de plataformas de monitoreo: una boya oceanográfica en el canal Puyuhuapi (Figura 2), tres estaciones oceanográficas instaladas en plataformas de empresas salmoneras con sensores a 5 y 15 metros en la zona Jacaf-Puyuhuapi (Figura 3) y un observatorio oceanográfico bio-geoquímico instalado en el fiordo Reloncaví (Figura 4).

Esta última plataforma corresponde a una plataforma multi-parámetro (diseñada para medir y registrar múltiples variables ambientales), modular (utiliza sensores de alta calidad y se puede elegir qué variables ambientales del océano y/o la atmósfera se quieren medir) y comunicación en tiempo real, utilizando una red celular o una red satelital. Este observatorio está diseñado para tener la flexibilidad de ser utilizado en zonas con distintos grados de conectividad, lo que asegura la recepción instantánea de datos incluso en lugares remotos.

Sistemas como los recientemente implementados por el Programa COPAS Sur-Austral y financiados por FONDEQUIP contribuyen a la conformación de una plataforma o red de observación oceanográfica – que en la medida que crezca - permitirá reforzar la configuración de escenarios ambientales en los cuales se desarrollan las principales actividades en la región Patagónica (acuicultura, pesca, turismo, transporte marítimo).

Esta es una “prueba del concepto”, escalable y usada en otros lugares para la conformación de la red de observación remota en tiempo real de canales y fiordos de la Patagonia chilena, ROP.

Este observatorio –en etapa de marcha blanca- mide más de una docena de variables oceanográficas y meteorológicas, incluyendo temperatura del aire y del agua, velocidad del viento, salinidad, oxígeno, turbidez, concentración de clorofila y de nitrato, entre otros (ver Figura 5). Cada hora, el sistema transmite estos datos vía red celular, o en caso de que no haya conectividad en ese lugar, utilizando una red satelital.

Los datos son recolectados y publicados posteriormente vía una plataforma web en servidores de la Universidad de Concepción. Por ejemplo, la Figura 6 muestra la variación en la concentración de oxígeno (mL/L) y salinidad (PSU) entre el 9 de marzo y 29 de junio de 2013, registrando importantes variaciones diarias y en ciclos mareales. En la Figura 7 se muestra los registros de concentración de clorofila ($\mu\text{g/L}$) y nitrato (μM) entre el 9 de marzo y 22 de junio de 2013.

¿Para qué y a quién le sirven estos datos?

En la medida que dispongamos de series de tiempo lo suficientemente extensas, podremos conocer tendencias, elaborar modelos, establecer escenarios y eventualmente predecir situaciones indeseadas.

Además, conocer relaciones causa-efecto nos permitirá disminuir la incertidumbre tanto en decisiones privadas (productivas, económicas) como públicas (sustentabilidad, condiciones am-

bientales, bien común). Y en la medida que se conforme una red de observación y monitoreo, más robustos y útiles serán los modelos predictivos.

Por otro lado, los sistemas de observación ambiental en la Patagonia requieren enfrentar el desafío de construir plataformas que sean resilientes a las adversas condiciones ambientales de la región. Deben ser modulares, de modo que puedan configurarse con distintos sensores y configuraciones de muestreo dependiendo de los requerimientos locales, y que mantengan la capacidad de medir en tiempo real.

En el corto plazo, el programa se ha planteado el desafío de diseñar bases estandarizadas de datos e información, incluyendo metadatos (información que acompaña a los datos e.g. instrumento utilizado con número de serie) que permitan validar la información disponible.

Adicionalmente, los desafíos de corto plazo involucran optimizar los sistemas de transmisión y almacenamiento seguro de la información capturada por estas plataformas de observación oceanográfica. Finalmente, el gran desafío para el Estado será proveer financiamiento básico para la mantención y actualización tecnológica de estas plataformas. Sólo de esta forma se dispondrá de información confiable y oportuna para tomar decisiones con la mínima incertidumbre.



Figura 5. Despliegue de plataforma web con visualización de datos en línea, registrados y transmitidos desde la plataforma de observación oceanográfica instalada en el estero Reloncaví, Región de Los Lagos (imagen proporcionada por Dr. Carlos Moffat, investigador del programa COPAS Sur-Austral y director del proyecto FONDEQUIP AIC-45).

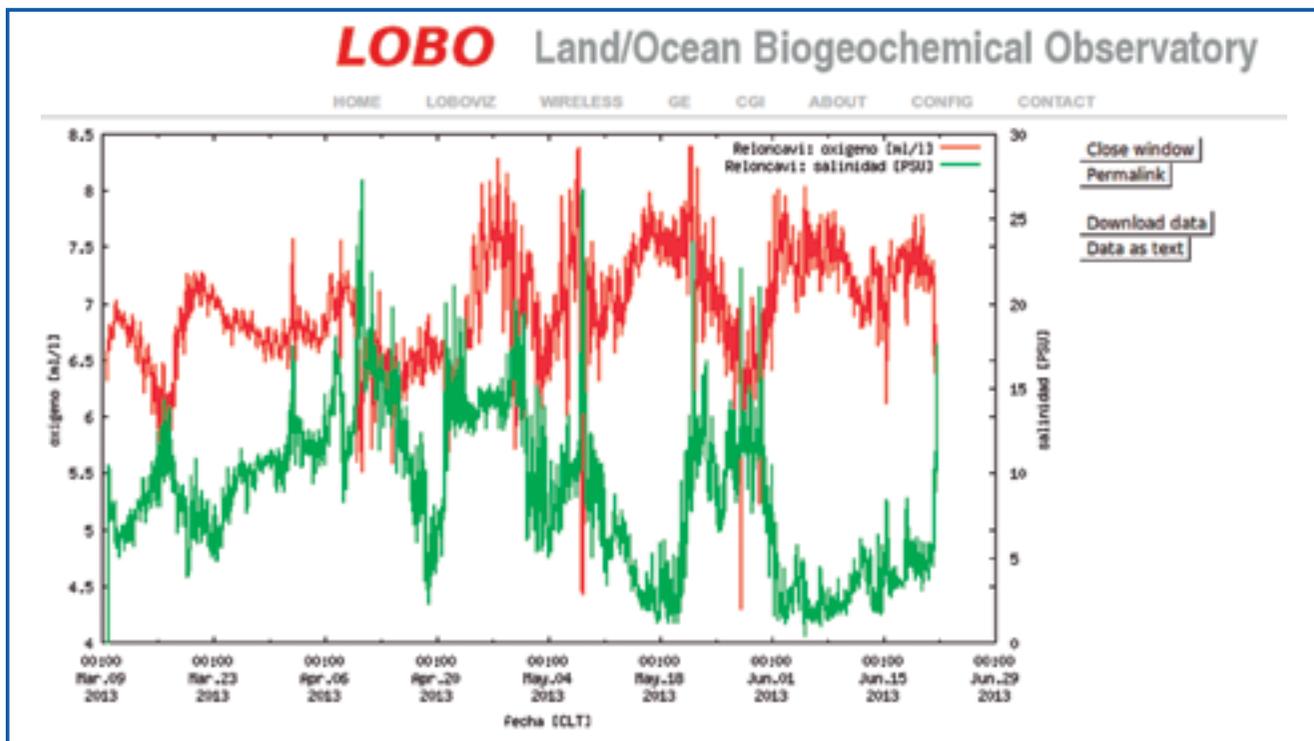


Figura 6. Registro continuo de oxígeno y salinidad en la plataforma de observación instalada en el estero de Reloncaví, Región de Los Lagos (imagen proporcionada por Dr. Carlos Moffat, investigador del Programa COPAS Sur-Austral y director del proyecto FONDEQUIP AIC-45).

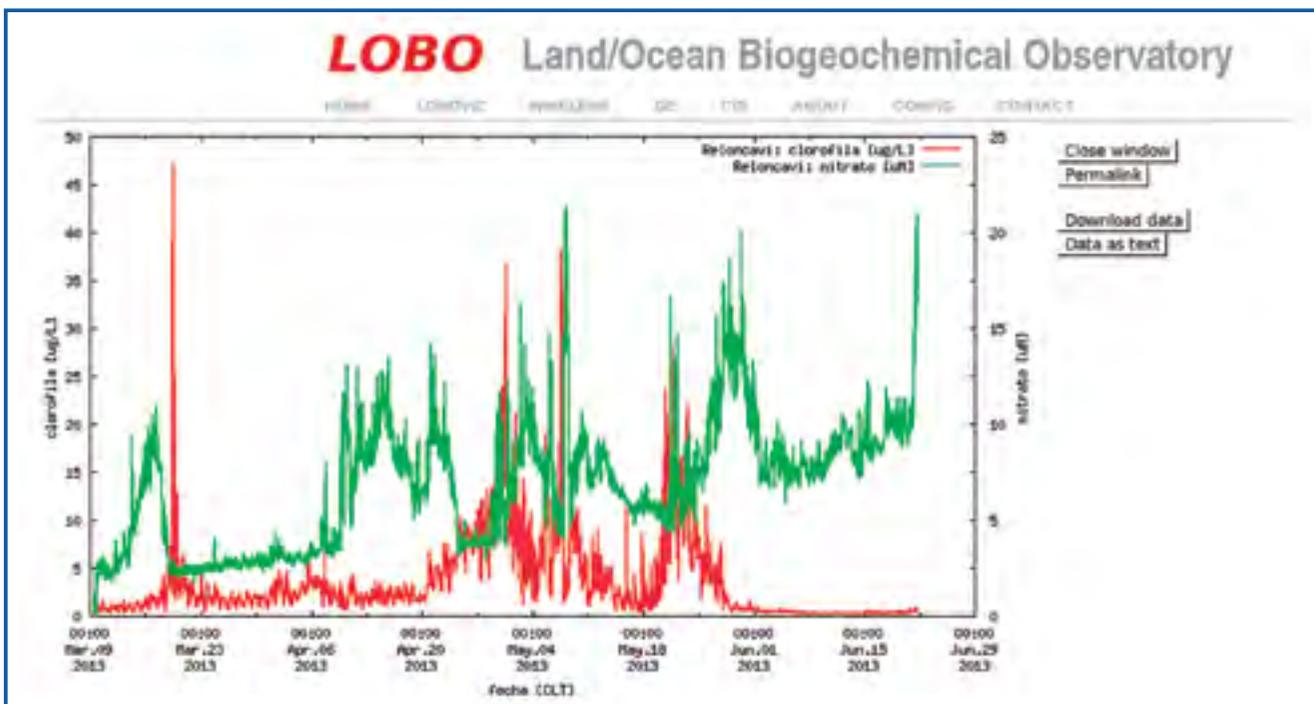


Figura 7. Registro continuo de clorofila y nitrato en la plataforma de observación oceanográfica instalada en el estero de Reloncaví, Región de Los Lagos (imagen proporcionada por Dr. Carlos Moffat, investigador del programa COPAS Sur-Austral y director del proyecto FONDEQUIP AIC-45).

Programa COPAS Sur-Austral Director: Dr. Silvio Pantoja
 Universidad de Concepción Teléfono: 41-2204520
 www.sur-austral.udec.cl

PVC INDUSTRIAL PARA ZONAS COSTERAS



Planchas DV4 para Cubiertas y Revestimientos



IDEAL PARA: Pesqueras, Plantas de Procesos, Almacenamiento de Alimentos y Galpones Industriales expuestos en ambientes corrosivos.

- Planchas opacas de color blanco
- No se oxidan
- Contienen filtro UV
- Flexibles y curvables
- Resistentes a impactos
- Autoextinguibles
- Resistentes a una amplia gama de químicos
- Requieren de mínima mantención
- 10 años de garantía sobre permanencia de color



www.dvp.cl

CASA MATRIZ: (02) 23920000 / SUCURSALES: Antofagasta (55) 296885 / Viña del Mar (32) 2692992 / Santiago (02) 26353006
Concepción (41) 2210751 / Temuco (45) 272829 / policarbonatos@dvp.cl

MAESTRANZA - FABRICACION Y REPARACION ESTRUCTURAS METALICAS Y CONSTRUCCION



MAESTRANZA CHILENA LTDA.

opción 09 445 3504

Certificada en la Fabricación de Estanques de Combustibles



Fono (65) 430 837 / Fax (65) 489 275 / Celulares 9519 6612 - 9299 9122

Parcela A-8 / Parque Industrial Apiasmontt / Puerto Montt

maestranza.chilena@surnet.cl / maestranza.chilena@willnet.cl / www.maestranzachilena.cl

Apoyando la investigación en acuicultura a través de Microscopía Láser de última generación: Centro de Microscopía Avanzada en la Región del Bío-Bío (CMA Bío-Bío)



Universidad de Concepción
CHILE



Director Científico: Dr. Francisco Nualart S.

contacto@cmabiobio.cl



Directora Ejecutiva: Dra. Viviana Torres A.

www.cmabiobio.cl



La microscopía láser confocal es una herramienta óptica que permite crear imágenes con alta resolución espacial y temporal, y en la acuicultura mundial ha sido ampliamente utilizada en la detección de patógenos (Ørpetveit *et al.* 2010, Lindell *et al.* 2012), en inmunología (Svingerud *et al.* 2012) y estudios de biofilms entre otros (Ali *et al.* 2013, Pantanella *et al.* 2013, Nithya *et al.* 2010). En los últimos años nuevas tecnologías se han sumado a la investigación en acuicultura como es microscopía de microdissección láser, FT-IR de microimágenes y citometría de flujo, todas disponibles en el CMA Bío-Bío.

El CMA Bío-Bío es un proyecto que se genera el año 2011 a raíz de una iniciativa del Programa de Investigación Asociativa (PIA) de Conicyt. El CMA Bío-Bío ofrece desde el 2012 servicios con equipos de última generación en el área de la microscopía láser, FT-IR y citometría de flujo, convirtiéndolo en un referente nacional. Este Centro, con su núcleo de operación en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, está conformado por un Director Científico, un Director Ejecutivo, además de un Comité Científico Consultivo (perteneciente a diferentes universidades asociadas) y con personal técnico y administrativo. Por otro lado, el CMA está potenciado y apoyado por tres centros de microscopía de nivel mundial: Universidad de Málaga, España, Universidad de Hokkaido, Japón y Universidad de Pittsburgh, USA.

La concentración de varios equipos de microscopía láser en un mismo lugar físico permiten al CMA Bío-Bío prestar un servicio único en Latinoamérica ofreciendo una evaluación microscópica del más alto nivel como por ejemplo el estudio del funcionamiento de organismos vivos normales o patológicos y el monitoreo/control de patógenos de importancia en salud humana, salud de plantas (sector agroforestal) y salud de peces/moluscos (sector acuícola). Además, permite el estudio de las alteraciones de materiales en el área de madera y metales. En el ámbito académico, el Centro potencia fuertemente la formación de recursos humanos de pre y post-grado a través de seminarios, cursos y talleres. En la misma línea permite establecer una red de laboratorios intra/inter universitarios, abriendo nuevos espacios de interacción científica y tecnológica. En resumen, el CMA genera un polo de desarrollo científico y tecnológico descentralizado y de alto nivel productivo,

siguiendo los lineamientos sugeridos por la OCDE.

SERVICIOS DE MICROSCOPIA LÁSER Y CITOMETRÍA DE FLUJO

Microscopio Confocal-Espectral

El CMA Bío-Bío cuenta con dos microscopios confocales marca



Microscopio Confocal Espectral/Dos Fotonos LSM780 Zeiss.

Zeiss de última generación modelos LSM700 (líneas de láser 488, 550 y 639 nm) y LSM780 (líneas de láser 405, 458, 488, 514, 561 y 633 nm). Este último posee además un láser infrarrojo pulsado que lo convierte en un microscopio multifotón, lo que permite generar imágenes tridimensionales de tejido y estructuras vivas de hasta 0.5 mm de grosor con resolución subcelular. Por otro lado, permite separación espectral y la detección simultánea sobre 10 marcadores fluorescentes no importando cuan traslapados estén sus espectros. El CMA Bío-Bío recientemente presentó un trabajo con esta tecnología (Martínez 2013).

Algunos ejemplos del uso de la microscopía confocal en el área de la acuicultura son el estudio y caracterización de biofilms formados sobre ovas de peces y sobre estos mismos (Ali *et al.* 2013, Pantanella *et al.* 2013, Nithya *et al.* 2010) y en el estudio de patógenos en salmónidos (Ørpetveit *et al.* 2010, Lindell *et al.* 2012).

Microscopio Láser de súper-resolución ELYRA S.1 (SIM-SR), Zeiss

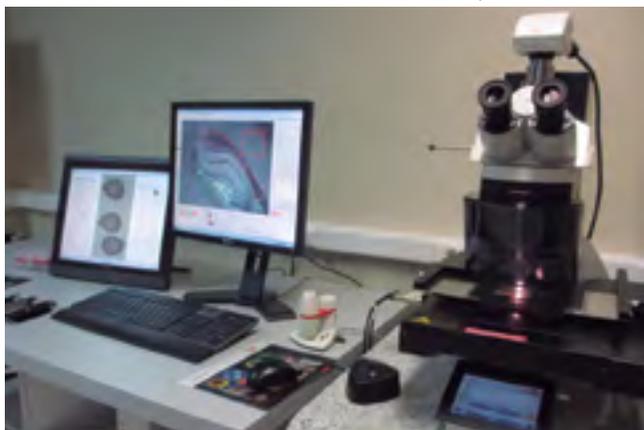
El poder resolutivo de un microscopio óptico es superado por esta tecnología doblando el poder de resolución tanto lateral como axial (100 y 350 nm, respectivamente). Esta tecnología es proporcionada por un microscopio láser que utiliza luz estructurada (SIM-SR), que cuenta con dos láser de 488 y 561 nm, permitiendo un análisis de súper-resolución a dos colores, ideal para el análisis y estudio de finas estructuras celulares como la distribución de fibras de estrés y microfilamentos, estudios de colocalización de marcadores proteicos, etc. Un estudio reciente en el CMA Bío-Bío utilizando este microscopio define detalladamente la localización de un transportador de vitamina C en neuronas (Salazar *et al.* 2013).



Microscopio Superresolución Elyra Zeiss.

Microscopio para microdissección láser LMD 7000, Leica

Esta técnica permite cortar y aislar microscópicamente un trozo de muestra homogénea desde cualquier tipo de tejido heterogéneo. La disección de la muestra se realiza a través de un potente láser ultravioleta (diodo) de 349 nm controlado por un preciso sistema óptico libre de movimientos mecánicos. Las pequeñas muestras microdisectadas el usuario las puede utilizar para extracción de ARN, ADN y/o proteínas para su análisis molecular respectivo. En peces esta tecnología se ha utilizado para identificar las células del miocardio de *Salmo salar* L. que son infectadas con el virus de miocarditis PMCV (Wiik-Nielsen *et al.* 2012), para estudios mo-



Microscopio de Microdissección Láser LMD7000.

leculares de tumores (Lerebours *et al.* 2013) y expresión de genes durante el desarrollo (Marín-Juez *et al.* 2013).

Citómetro de Flujo Cell Sorter BD FACSAria III

La citometría de flujo permite el análisis y caracterización simultánea de partículas y/o células y sus subpoblaciones. El equipo BD FACSAria III cell sorting permite además la separación y purificación simultánea de hasta 4 poblaciones, con un rango de tamaño que va de 0.2 a 50 μm . El sistema óptico está compuesto por 2 láser, 488 nm y 633 nm, teniendo la capacidad de detectar 8 colores y 10 parámetros (incluidos FSC y SSC). Posee controles de calidad CST y Accudrop que nos aseguran que los resultados son confiables. La citometría de flujo ha evolucionado como herramienta estándar para un amplio rango de aplicaciones en salud, microbiología, agrociencia, acuicultura y calidad de control en el campo industrial. En acuicultura se ha vuelto importante la citometría de flujo como herramienta para estimar con fiabilidad la cantidad de ADN por célula y, consecuentemente, la ploidía de los individuos testados (Martínez, 2005). Otra aplicación relevante de la citometría de flujo es determinar el número de bacterias en el agua de tanques en acuicultura y su identificación con marcaje fluorescente específico (Hibi *et al.* 2008). También se ha utilizado en determinar la actividad inmunológica de peces como indicador de toxicidad producida por contaminantes ambientales (Harford *et al.* 2006).



Citómetro de Flujo Cell Sorter BD FACSAria III.

Microscopio FT-IR Spotlight 400 & Spectrum Frontier, Perkin Elmer

El equipo FT-IR acoplado a un microscopio es un equipo de última generación en el estudio de imágenes, es ideal en las áreas de materiales, farmacéutica, academia, forense, biomédica, y biomateriales. Este equipo trabaja en el Infrarrojo Rango Medio (MID) y Rango Cercano (NIR) lo que permite el estudio de una amplia gama de compuestos. El equipo Spotlight 400 trabaja en los modos de operación de Transmitancia, Reflectancia y modo ATR; tiene un sistema dual de operación y de detección DuetTM permitiendo aumentar significativamente la obtención de información de los datos de espectros y de imágenes. Presenta un tamaño variable de píxel de hasta 1.56 μm con ATR, logrando imágenes excepcionales de las muestras. Métodos que emplean

FT-IR se han desarrollado para medir parámetros en sangre y otros tejidos. Recientemente a través de FT-IR se han caracterizado los espectros de hormonas esteroidales sexuales en hembras de esturión-es (Lu *et al.* 2010), lo que ha permitido estudios de madurez del ovario durante vitelogenésis de este pez (Lu *et al.* 2011).

SERVICIO INFORMÁTICO

Enfocado en el refinamiento, interpretación y cuantificación de las imágenes obtenidas por el usuario.

SERVICIOS DE ASESORÍA TÉCNICA

Asesoría desde los conceptos básicos de la microscopía y sus beneficios. Procesamientos de muestras a través de una sala de cultivo celular y una sala de histología para procesamiento de tejidos por medio de crióstato y vibrátomo.



Microscopio FT-IR Spotlight 400 & Spectrum Frontier.

REFERENCIAS

- Ali SE, Thoen E, Vralstad T, Kristensen R, Evensen O, Skaar I. Development and reproduction of *Saprolegnia* species in biofilms. *Vet. Microbiol* 163 (1-2):133-41, 2013.
- Harford AJ, O'Halloran K, Wright PF. Flow cytometric analysis and optimisation for measuring phagocytosis in three Australian freshwater fish. *Fish Shellfish Immunol*. 20(4):562-73, 2006.
- Hibi K, Ushio H, Fukuda H, Mitsubavashi K, Hayashi T, Ren H, Endo H. Immunomagnetic separation using carbonyl iron powder and flow cytometry for rapid detection of *Flavobacterium psychrophilum*. *Anal Bioanal Chem*. 391 (4): 1147-52, 2008.
- Lerebours A, Bignell JP, Stentiford GD, Feist SW, Lyons BP, Rotchell JM. Advanced diagnostics applied to fish liver tumours: Relating pathology to underlying molecular aetiology. *Marine Pollution Bulletin* 2013 May 6.
- Lindell K, Fahlgren A, Hierde E, Willassen NP, Fällman M, Milton DL. Lipopolysaccharide O-antigen prevents phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin epithelial cells. *PLoS One* 7(5):e37678, 2012.
- Lu X, Webb M., Talbott M, Van Eenennaam J, Palumbo A, Linares-Casenave J, Doroshov S, Struffenegger P, Rasco B. Distinguishing ovarian maturity of farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier transform infrared spectroscopy: a potential tool for caviar production management. *J. Agric. Food Chem*. 58: 4056-4064, 2010.
- Lu X, Webb M, Talbott MJ, Van Eenennaam JP, Doroshov SI, Rasco BA. A study of biochemical parameters associated with ovarian atresia and quality of caviar in farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. *Aquaculture*, 315 3-4):298-305, 2011.
- Marín-Juez R, Viñas J, Mechaly A, Planas J, Piferer F. Stage-specific gene expression during spermatogenesis in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*), a fish with semi-cystic type of spermatogenesis, as assessed by laser capture microdissection and absolute quantitative PCR. *General and Comparative Endocrinology* 188: 242-250, 2013.
- Martinez, F., Cortes-Campos, C., Elizondo, R., Nualart, F., Garcia-Robles, M.A. Spectral-confocal and microdissection analysis to define the glial cells distribution and glucose/lactate transporters expression. PSM01.X. ISN-ASN Cancun Mexico April 20-24, 2013.
- Martínez P. Aplicaciones de la genética para la mejora de la acuicultura. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr*. 21 (1-4): 225-238, 2005.
- Nithya C, Pandian SK. The in vitro antibiofilm activity of selected marine bacterial culture supernatants against *Vibrio* spp. *Arch Microbiol*. 192 (10):843-54, 2010.
- Ørpetveit I, Küntziger T, Sindre H, Rimstad E, Dannevig BH. Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) from salmonid fish enters, but does not replicate in, mammalian cells. *Virol.J*:9:228-2010.
- Pantanello F, Valenti P, Natalizi D, Berlutti F. Analytical techniques to study microbial biofilm on abiotic surfaces: pros and cons of the main techniques currently in use. *Ann Ig*. 25 (1): 31-42, 2013.
- Salazar, K.A., Cerda-Gallardo, G., Rodriguez, F.S., Nualart, F.J. Super-resolution confocal analysis to define the localization and relation of SVCT2 with synaptic proteins in cortical neurons. PSM09.X. ISN-ASN Cancun Mexico April 20-24, 2013.
- Svingerud T, Solstad T, Sun B, Nyrud ML, Kileng O, Greiner-Tollersrud L, Robertsen B. Atlantic Salmon type I IFN subtypes show differences in antiviral activity and cell-dependent expression: evidence for high IFN β /IFN γ -producing cells in fish lymphoid tissues. *J Immunol* 189: 5912-5923, 2012.
- Wiik-Nielsen J, Lovoll M, Fritsvold C, Kristoffersen AB, Haugland O, Hordvik I, Aamelfot M, Jirillo E, Koppang EO, Grove S. Characterization of myocardial lesions associated with cardiomyopathy syndrome in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., using laser capture microdissection. *J Fish Dis*. 35 (12): 907-16, 2012.

Teléfonos:(56)-41-2661356, (56)-41-2204531 Barrio Universitario s/n. Edificio Ennio Vivaldi. 2º piso.

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

contacto@cmabiobio.cl www.cmabiobio.cl

KEBT Chile SPA

Empresa chilena especializada en el manejo, conducción y tratamiento de fluidos y gases utilizados en procesos industriales



Amplia gama de productos utilizados en Obras y Construcciones, ligadas a la hidrometalurgia, y procesos de cultivos acuícolas.

Avanzada tecnología y materiales de primer nivel para el montaje de sus proyectos. Asesorando en cada etapa de sus proyectos o requerimientos.

Equipo de profesionales de alto nivel para atender sus requerimientos y suministrar las líneas de productos más eficientes y económicas que su empresa requiere para el manejo, control y tratamiento de Gases y Líquidos.

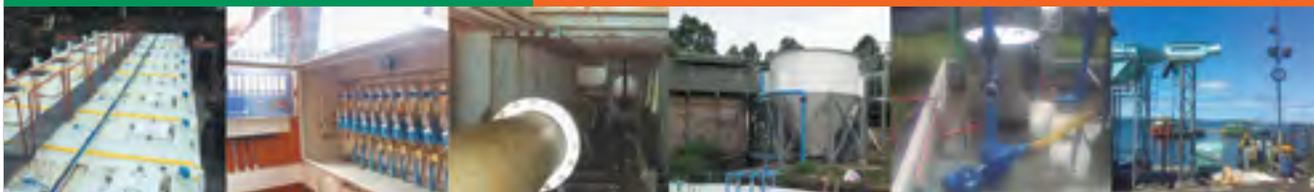
PRODUCTOS

- DIFUSORES CERÁMICOS Y MEMBRANA.
- PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS.
- PLANTAS DE RILES.
- CONOS DE OXIGENACIÓN.
- REDES DE OXIGENACIÓN PARA PISCICULTURAS.
- REDES DE OXIGENACIÓN PARA BARCOS DE TRANSPORTE DE SMOLTS.
- DIFUSORES MANGUERA MICROPOROSA.
- CONSTRUCCIÓN Y MANTENCIÓN DE PRODUCTOS EN FRP (FIBRA DE VIDRIO).
- EQUIPOS DE ENSILAJE DE PECES.

SERVICIOS

- CABLEADO DE EDIFICACIONES.
- MANTENCIÓN ELÉCTRICA Y METÁLICA.
- CONFECCIÓN DE CARPETAS AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO.
- MONTAJE DE EQUIPOS Y MANTENCIÓN.

opción 09 443 3604



CONTACTO: infoaerbs@gmail.com / Móvil: 9802 4148 / PUERTO MONTT



7 PLAGAS

Pest Control



Matamos por Encargo...

SERVICIOS

DESRATIZACION • DESINSECTACION • SANITIZACION
CONTROL DE AVES • CONTROL DE MURCIELAGOS



Fono Fax (65) 253203 / 480625 Cel. 6830 1662 / 6830 1647

Av. Presidente Ibáñez 352 - Puerto Montt

Info@7plagas.cl - www.7plagas.cl



Empresa certificada ISO 9001:2008
Empresa acreditada SAG
Contamos con Seguro de Responsabilidad Civil

Temuco Valdivia Osorno Puerto Montt
Chiloé Coyhaique Puerto Aysén



Completa los formularios DE TU NEGOCIO **EN LÍNEA** Nueva aplicación Prontoforms

Ingresa los datos de mareas, control de vacunas, densidad de población o cualquier información en línea para tu negocio de una manera sencilla y rápida desde tu smartphone o tablet.

Contrátalo llamando al **600 3600 030**
entel.cl/empresas @entel_empresas

PRONTOFORMS
FORMULARIOS EN LÍNEA

\$9.990
Por usuario, IVA incluido

El precio no incluye tráfico de datos, puede utilizar su plan de datos actual o contratar un plan adicional. Servicio sujeto a compatibilidad de equipos.



Con ustedes una Harina de Clase Mundial.

Norse-LT 94

Harina de Pescado de Alta Calidad

Secado a Baja Temperatura

Nuestra Harina y Aceite de Pescado son productos de excelencia reconocidos internacionalmente, que permiten una utilización óptima de la proteína natural y desarrollar procedimientos amigables con el medio ambiente.



www.lotaprotein.cl