

Resumen

La esmoltificación es una de las etapas más críticas del proceso productivo de salmones. La duración de la ventana de esmoltificación depende de factores ambientales y se puede determinar eficientemente el momento para la transferencia de los *smolts* al mar y predecir un óptimo rendimiento fisiológico y productivo durante la primera etapa de la engorda. El objetivo de este estudio fue validar Smoltmeter® como un indicador predictivo de la capacidad osmorregulatoria óptima de *smolt* de salmón Atlántico, de manera de minimizar pérdidas por peces desadaptados. El cociente SAM/SAD > 1,8 es un indicador predictivo de peces desadaptados durante los primeros 3 meses de engorda en el mar, ya que las jaulas que presentaron la mayor proporción de peces SAM/SAD > 1,8 mostraron el menor porcentaje de mortalidad por desadaptados. Para minimizar la mortalidad por desadaptados se requiere una población homogénea, donde, idealmente, el 100% de la población de peces de la jaula presente SAM/SAD > 1,8. Finalmente, SAM/SAD > 1,8 muestra un mejor valor predictivo de la mortalidad por desadaptados en el centro de destino que la actividad enzima Na⁺K⁺ ATPasa.

Validación de campo de Smoltmeter: cuantificando la capacidad osmorregulatoria

M. Rozas-Serri, J. Vásquez, R. Correa, A. Peña, A. Muñoz y L. Maldonado
Laboratorio Pathovet, Puerto Montt, Chile.
marco.rozas@pathovet.cl

Introducción

La esmoltificación es una de las etapas más críticas e importantes del proceso productivo de salmones. La esmoltificación consiste en un conjunto de cambios bioquímicos, fisiológicos, morfológicos y conductuales que permiten a un salmón juvenil prepararse para continuar su ciclo productivo de engorda en agua de mar. La capacidad osmorregulatoria de los peces es gobernado neuroendocrinológicamente y determina que los peces sean capaces finalmente de mantener una concentración de solutos independiente del ambiente acuático.

La esmoltificación es un proceso reversible, por lo que existe un período limitado de tiempo durante el cual los peces se encuentran preparados para la entrada a agua de mar (ventana fisiológica de esmoltificación). La duración de la ventana de esmoltificación depende de factores ambientales tales como fotoperíodo y temperatura del agua. Entonces, determinar eficientemente el momento para la transferencia de los *smolts* al mar es fundamental para predecir un óptimo rendimiento fisiológico y productivo durante la primera etapa postingreso a la engorda en mar.

Actualmente, los productores de *smolts* utilizan la medición de la actividad de la bomba Na⁺/K⁺ ATPasa como el indicador de rutina para determinar si los *smolts* están preparados para ser trasladados al mar. Sin embargo, este indicador

muestra una baja variabilidad en el tiempo y un bajo valor predictivo. De esta manera, el objetivo de este estudio fue validar Smoltmeter® como servicio de laboratorio para predecir la capacidad osmorregulatoria óptima de *smolt* de salmón Atlántico, *Salmo salar*, y minimizar pérdidas por peces desadaptados durante la etapa temprana en el mar.

Smoltmeter® es un producto basado en RT-qPCR múltiple para evaluar la expresión relativa de tres genes que muestran un alto nivel predictivo del tiempo óptimo de traslado de los animales al mar. Específicamente, un gen de la subunidad de agua dulce (SAD), un gen de la subunidad de agua de mar (SAM) y un gen cotransportador (COT), además de las respectivas asociaciones entre la expresión de cada uno de los mismos.

Metodología

Análisis de laboratorio:

Se colectaron muestras en duplicado del segundo arco branquial de cada pez y se dispusieron en tubos con RNA Later para posterior análisis RT-qPCR (Smoltmeter®) y en criotubos secos que finalmente conservaron en estanco con nitrógeno líquido para posterior medición de la actividad de la enzima Na⁺/K⁺ ATPasa. Se registraron datos de peso, longitud, factor de condición, color corporal (plateamiento o manchas parr) y de aletas.

Análisis estadísticos:

Se estimó la función de densidad para la relación SAM/SAD entre las semanas de fotoperiodo de verano entre tres pisciculturas (P1, P2 y P3) que fueron los centros de origen para el centro de mar (CM1). Se evaluaron los cambios de la relación SAM/SAD entre semana de fotoperiodo de verano, entre pisciculturas, entre peso y factor de condición, por medio de análisis Permanova con 1000 permutaciones usando distancia Euclidiana.

Para evaluar la relación entre la relación SAM/SAD y la actividad de la enzima Na^+/K^+ ATPasa sobre la mortalidad por desadaptados, se realizó trazabilidad de los movimientos al centro CM1 y se evaluó por medio de correlaciones de Spearman sobre el número de muertos por la causa desadaptados. Finalmente, se evaluó la tendencia de la mortalidad semanal por desadaptados por medio regresión lineal simple por jaula. Todos los análisis se realizaron con el paquete “vegan” en R Studio.

Resultados y discusión

En el caso de la relación SAM/SAD se observa una distribución sesgada a la derecha, lo más frecuente es que ocurran relaciones SAM/SAD bajo 100, con una mediana 2,1 y promedio 14,5 (0,1 - 878, min-max respectivamente). La relación SAM/SAD muestra cambios significativos entre las semanas de fotoperiodo. El primer cambio ocurre entre la semana 2 y 3, luego se observa un incremento significativo en la semana 5 y finalmente una reducción significativa en la semana 8. Todos los niveles SAM/SAD fueron mayores a 1,8 (Figura 1).

En general, se observan distintos niveles de relación SAM/SAD entre pisciculturas, pero los valores más altos se presentaron en P1 (Figura 1). En P2 se observa el aumento significativo a la semana 6, luego se contrae a niveles de las semanas anteriores (Figura 1a). En P1 se observa un aumento progresivo entre las semanas de fotoperiodo de verano, niveles significativamente más altos que en P2 y P3 (Figura 1c). Por otro lado, se observa

una interacción significativa entre piscicultura y la semana de fotoperiodo de verano, por lo que la relación SAM/SAD depende de ambos factores (Tabla 1).

Adicionalmente, se observan diferencias significativas entre el peso promedio e índice de condición en función de la relación SAM/SAD (Figura 2). Se observa un aumento significativo de SAM/SAD en peces > 100 g (Figura 1a) y con un índice de condición mayor > 1 (Figura 1b).

La tabla 2 muestra la trazabilidad del centro CM1 por jaula. El centro cuenta con peces de origen P1, P2 y P3. En general, P1 presentó 100% de peces esmoltificados (Figura 3), mientras que los peces de P2 y P3 mostraron alrededor de 60% de los peces esmoltificados (Figura 3a). El indicador de la enzima Na^+/K^+ ATPasa presentó baja variabilidad y un valor cercano a 16 en todas las pisciculturas, sin embargo, la proporción de peces desadaptados en CM1 fue más alta en peces de origen P2 y P3, situación que no pudo ser predicha por la actividad de la enzima Na^+/K^+ ATPasa porque reveló

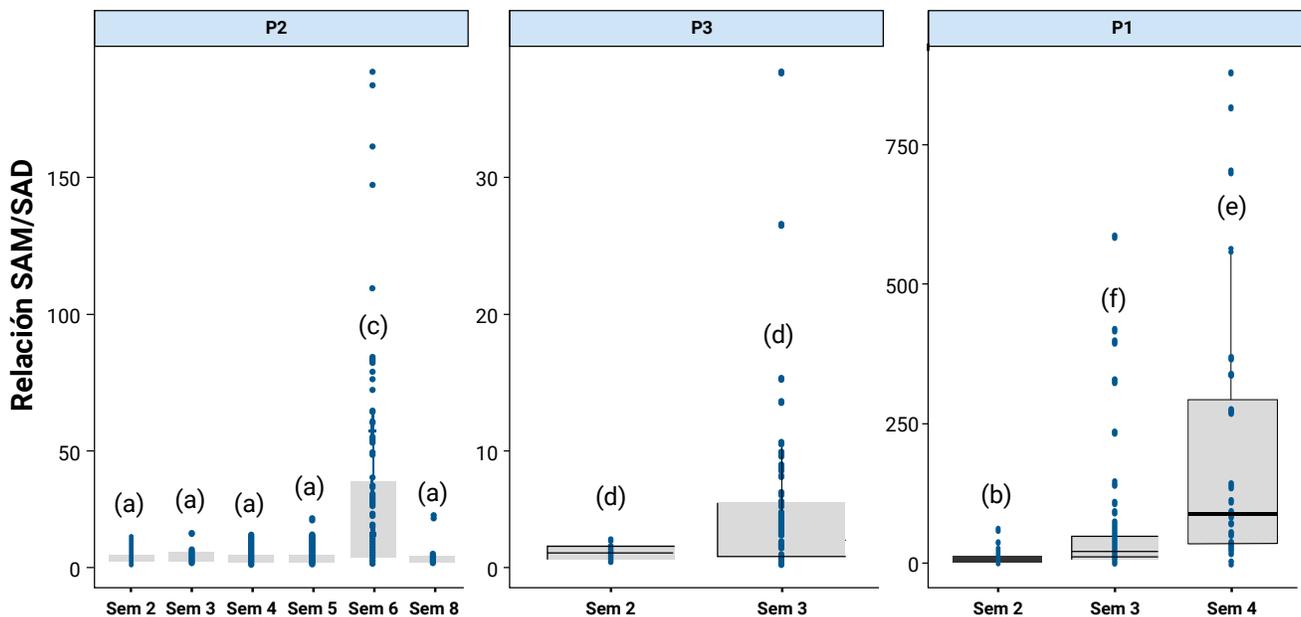


Figura 1. Boxplot de la relación SAM/SAD entre semanas de fotoperiodo de verano y piscicultura. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre grupos, $p < 0,05$.

Tabla 1. Análisis Permanova de dos vías entre pisciculturas y fotoperiodo de verano. df: gado de libertad, SC: Suma de cuadrado, CM: cuadrados medios, F.Model: Estadígrafo de Fisher, R2: coeficiente de correlación, Pr(F): Valor de probabilidad.

Fuente de Variación	df	SC	CM	F.Model	R2	Pr(>F)
Semana de Fotoperiodo	5	18,945	3,789	25,816	0,104	0,000999
Centro FW	2	26,599	13,300	90,615	0,146	0,000999
Sem.Foto*Centro	4	73,470	1,837	12,514	0,040	0,000999
Residuales	878	128,864	0,147		0,709	
Total	889	181,755			1,000	

Tabla 2. Resumen de despachos de smolts entre las pisciculturas y las jaulas de destino en CM1. Propoción (%) de peces esmoltificados según cociente SAM/SAD.

Piscicultura	Jaula	N° Peces	CM F.Model	
			PreSmolt	Smolt
P2	102	220.000	24%	76%
	104	220.000	37%	63%
P2 y P3	106	205.000	35%	65%
P1	101	220.000	0%	100%
	103	220.000	0%	100%
	105	235.000	0%	100%

Tabla 3. Correlación de Spearman sobre la relación SAM/SAD y la mortalidad post-ingreso a mar. r: Coeficiente de correlación de Spearman, p: Valor de probabilidad.

Mortalidad	Relación SAM/SAD	
	r	p
Desadaptado 30	-0,0428	0,629
Desadaptado 60	0,0349	0,694
Desadaptado 90	-0,1797	0,041

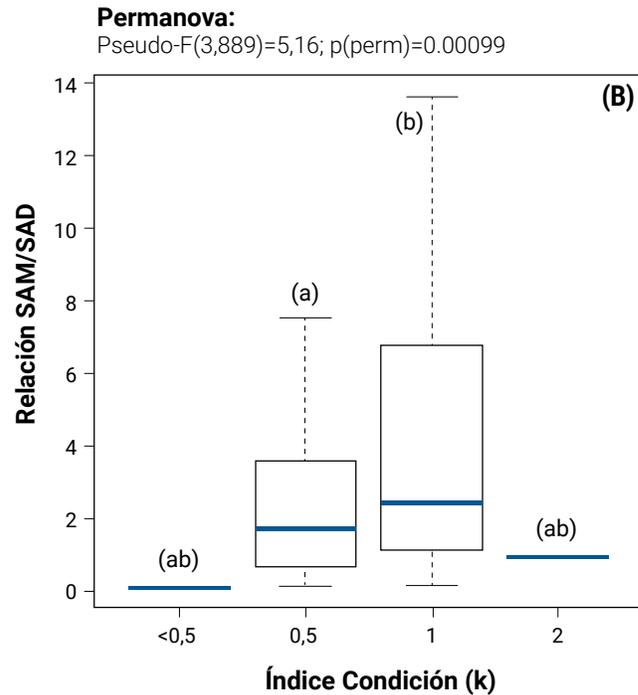
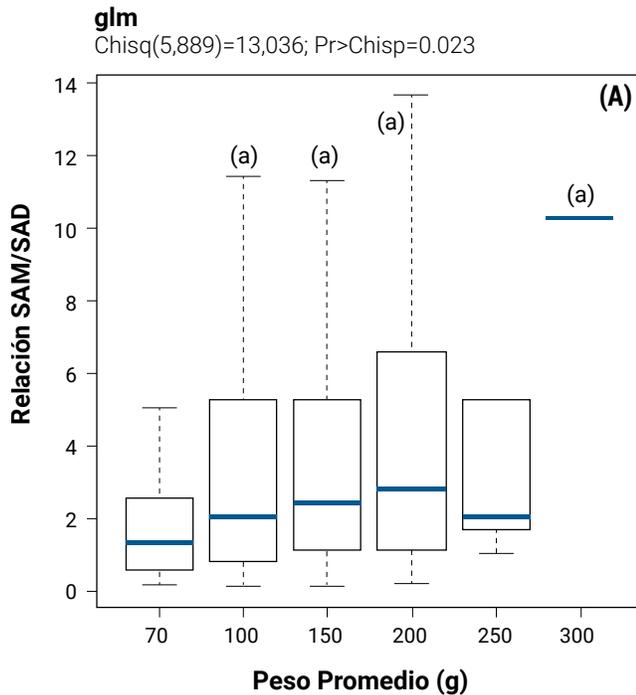


Figura 2. Boxplot de la relación SAM/SAD entre peso promedio (A) e índice de índice de condición (B). Letras diferente muestra diferencia significativa entre grupo, p<0,05.

valores similares en las tres pisciculturas (~16) (Figura 3b). Sin embargo, el cociente SAM/SAD fue menor en peces del centro P2 y P3 (Figura 3a), lo cual se correlacionó con la mayor mortalidad por desadaptados en CM1 (Tabla 4, Figura 4).

Se observó una correlación negativa entre SAM/SAD y la mortalidad por desadaptados a los 90 días (Tabla 3), por lo cual SAM/SAD sería un buen predictor de la mortalidad por desadaptados. La mortalidad por desadaptados comenzó luego de la sexta semana post-ingreso y la jaula 104 presentó la más alta tasa de mortalidad, seguida por la jaula 102 (Tabla 4, Figura 4), ambas jaulas de origen P1 y con los valores más bajos de SAM/SAD (Figura 3), mientras que la jaula 101 y 103 mostraron la mortalidad acumulada más baja (Tabla 4, Figura 4), ambos de origen P1 y con los valores más altos de SAM/SAD.

Al evaluar la relación de desadaptados en función del tiempo y la piscicultura de origen, la proporción de peces con relación SAM/SAD >1.8 y el promedio del indicador SAM/SAD, se observa que el modelo 2 fue el más informativo (Tabla 5). Esto indicaría que la mortalidad por desadaptados se presenta en función de la proporción de peces que muestran un SAM/SAD >1,8, más que el promedio SAM/SAD.

Al descomponer el modelo 2 se observa una interacción significativa entre SAM/SAD >1,8 y el tiempo, mientras que el centro de origen no mostró un efecto significativo (Tabla 6), lo que indicaría que la mortalidad por desadaptados depende del tiempo y la variación en SAM/SAD >1,8. Así, la mortalidad por desadaptados se relaciona negativamente con la relación SAM/SAD >1,8 para los 3 tiempos evaluados i.e., en jaulas con menor proporción de peces con relación SAM/SAD >1,8, mayor fue la mortalidad por desadaptados, lo que indicaría que existe un nivel significativo de dependencia entre la mortalidad por desadaptados y una alta proporción de peces SAM/SAD >1,8 (Figura 5).

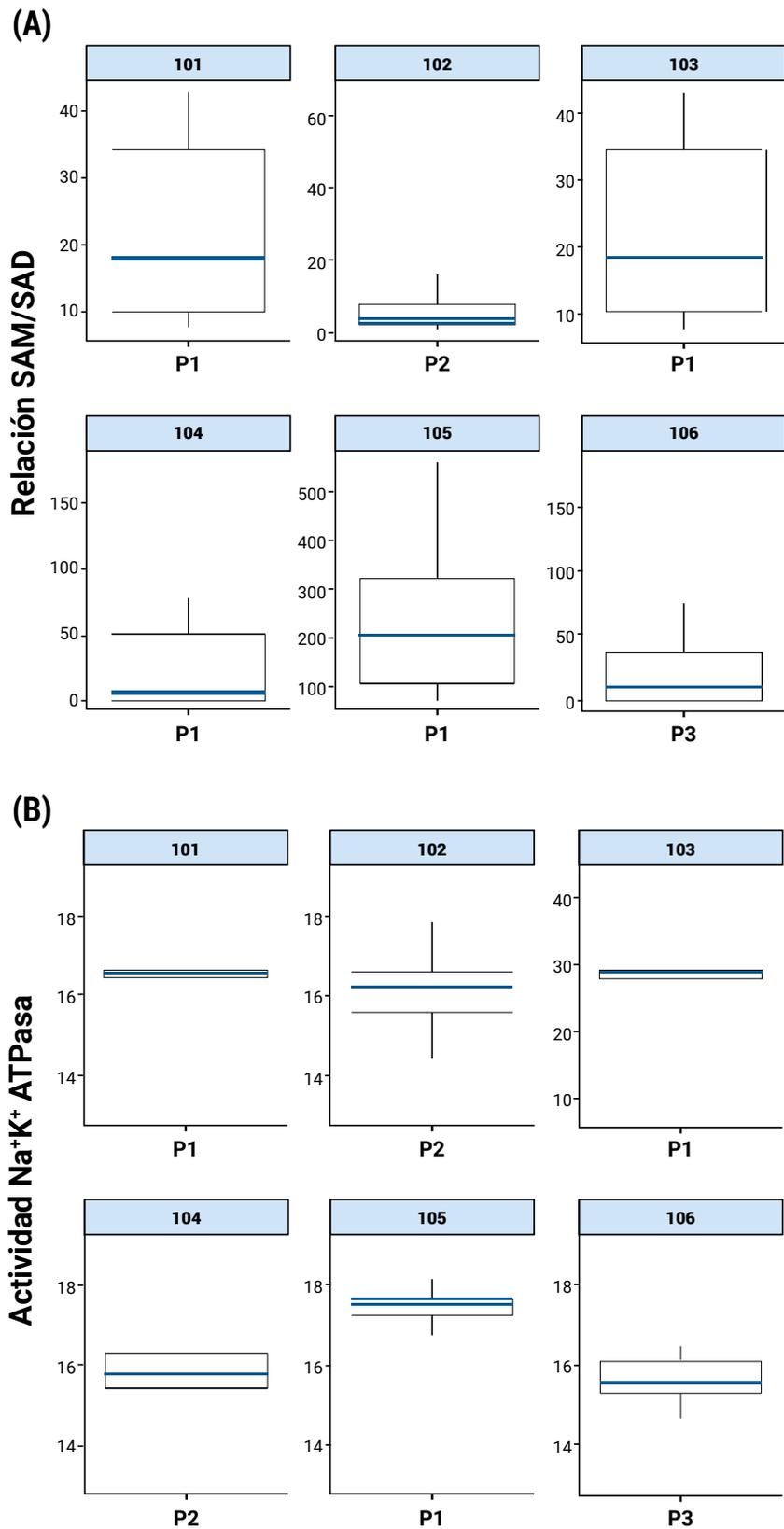


Figura 3. Boxplot de cociente SAM/SAD (a) y la actividad Na⁺K⁺ ATPasa (b) entre piscicultura de origen y jaula en centro de destino CM1.

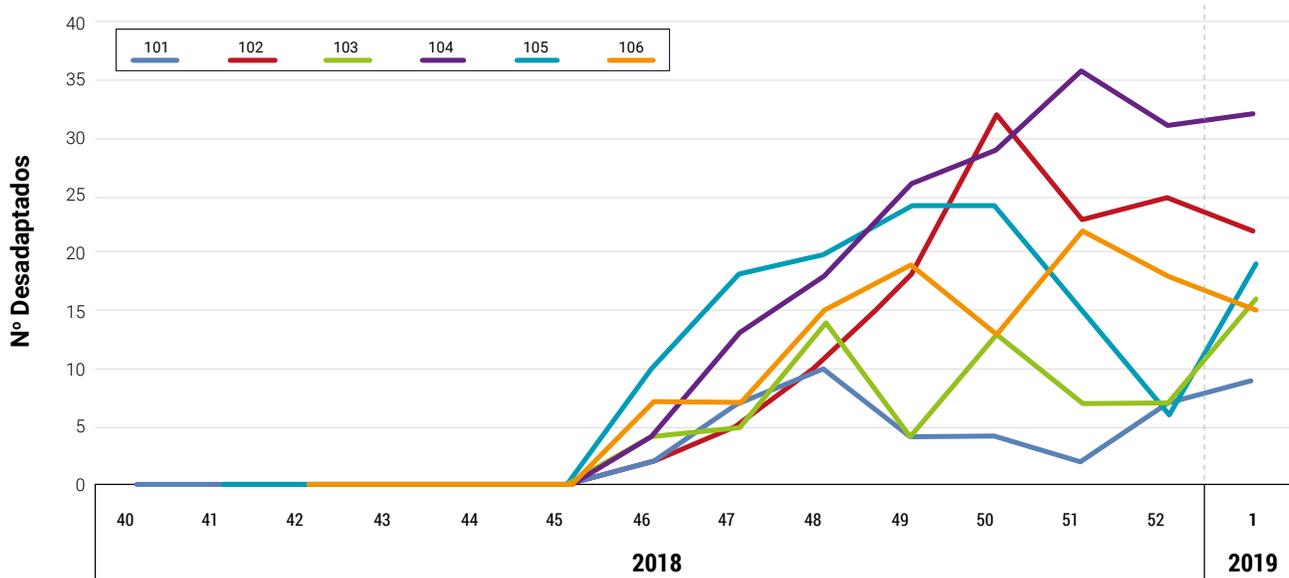


Figura 4. Evolución de la mortalidad por desadaptados entre las jaulas de cultivo entre la semana 40-18 a la semana 01-2019.

Tabla 4. Regresión para la mortalidad por desadaptado entre jaulas de cultivo entre semanas de cultivo. r: Coeficiente de correlación de Spearman, r2: coeficiente de determinación, b: pendiente de curva p: Valor de probabilidad.

Jaula	b	r	r2	p	Mortalidad acumulada desadaptado
101	0,648	0,548	0,511	0,002	45
102	2,457	0,774	0,755	0,000	138
103	1,103	0,650	0,621	0,000	70
104	3,246	0,870	0,859	0,000	189
105	1,767	0,556	0,519	0,002	136
106	1,807	0,803	0,786	0,000	116

Tabla 5. Regresión lineal múltiple para la mortalidad por desadaptado entre 4 modelos. r: Coeficiente de correlación de Spearman, r2: coeficiente de determinación, b: pendiente de curva p: Valor de probabilidad, AIC: índice de información de Akaike.

Modelo	r2	r	Std. Error	gl	F	p	AIC
Modelo 1	0,213	0,164	66,38	16	4336	0,0537	206
Modelo 2	0,887	0,840	29,04	12	18,85	0,0262	179
Modelo 3	0,608	0,524	50,09	14	7,24	0,0036	197
Modelo 4	0,863	0,806	31,98	12	15,12	0,0001	183

Tabla 6. Análisis de varianza dos vías entre piscicultura y tiempo de ocurrencia de mortalidad.

Fuente Variación	gl	SC	CM	F	P
p.SAM.SAD	1	19107	19107	23	0,0005
Tiempo	1	54405	54405	64	0,0000
Centro FW	2	25	13	0,015	0,9852
p.AM.SAD*Tiempo	1	5953	5953	71	0,0209
Residuals	12	10123	844		

Conclusiones

Según el diseño experimental del presente estudio de campo, se concluye que:

1. A mayor proporción de peces bien esmoltificados (i.e. relación SAM/SAD > 1,8), menor es la mortalidad por desadaptados. A mayor proporción de peces con relación SAM/SAD > 1,8 en cada jaula, menor es el riesgo de mortalidad por desadaptados.
2. La mortalidad por desadaptados depende de la cantidad de peces bien esmoltificados (i.e. relación SAM/SAD > 1,8), más que de la piscicultura de origen.
3. Para minimizar la mortalidad por desadaptados se requiere una población homogénea, donde el 100% de la población de peces de la jaula presenta SAM/SAD > 1,8.
4. SAM/SAD > 1,8 muestra un mejor valor predictivo de la mortalidad por desadaptados en el centro de destino que la actividad enzimática Na^+K^+ ATPasa.

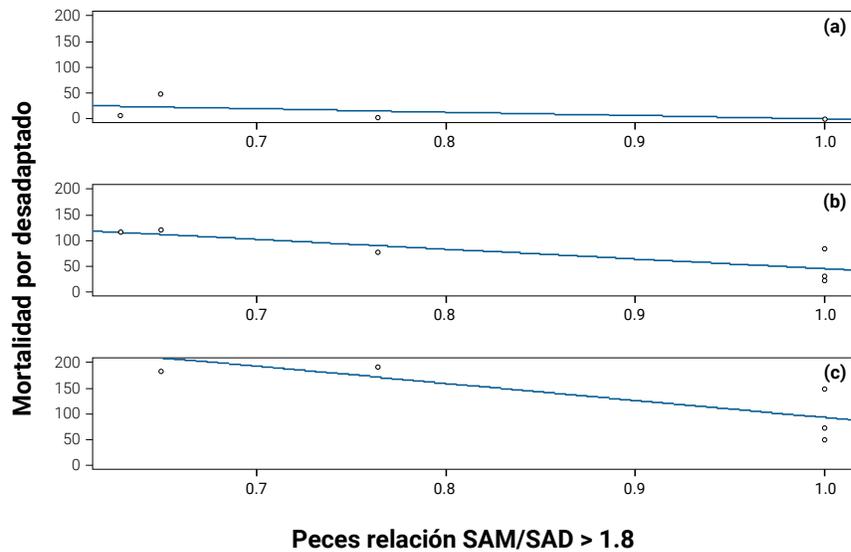


Figura 5. Relación entre mortalidad por desadaptado a los 30 (a), 60 (b) y 90 (c) días entre la proporción de peces con relación SAM/SAD > 1,8.

AGT
Consultores & Asociados

Expertos en auditoría,
impuestos y asesoría para
empresas más rentables

Dirección
San Bernardo 404, Oficinas 8 y 9, Puerto Varas, Región de Los Lagos, Chile.

Teléfono
+56 65 223 8951

Email
info@agtconsultores.cl

www.agtconsultores.cl