



GOBIERNO DEL
PARAGUAY

CONSEJO NACIONAL
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA



Con el apoyo de:



Memorias del II Congreso Internacional de Acuicultura del Paraguay *Compendio de resúmenes científicos*



“La presente publicación ha sido elaborada con el apoyo del CONACYT. El contenido de la misma es responsabilidad exclusiva de los autores y en ningún caso se debe considerar que refleja la opinión del CONACYT”.

COMISIÓN ORGANIZADORA DEL SEGUNDO CONGRESO INTERNACIONAL DE ACUICULTURA DEL PARAGUAY

COMISIÓN DE HONOR

Prof. Dra. Viviana María Ríos Morínigo, MSc. – Decana.

Prof. Dr. José Ramón Peralta, MSc. – Vicedecano.

DIRECCIÓN DE EVENTO

Prof. Dra. Viviana María Ríos Morínigo, MSc. – Decana.

COORDINACIÓN GENERAL

Dr. Rodrigo Celedonio Romero Rolón, MSc.

Dra. Rossana Álvarez de Araujo, MSc.

COMISIÓN FINANCIERA Y DE AUSPICIO

Coordinación:

Dra. María Patricia Franco Solalinde.

Miembros:

Econ. Patricia Carolina Castillo Rivera.

Dr. Marcos Manuel Zelaya Gaona.

Sr. Javier Fernando Mosqueira Pessolani.

COMISIÓN CIENTÍFICA

Coordinadora :

Prof. Dra. Viviana María Ríos Morínigo, MSc.

Miembros:

Prof. Dra. Renee Ozuna Wood.

Dra. Patricia Fabiola Criscioni Ferreira, PhD.

Dra. Liz Aurora Castro Rojas, MSc.

Dr. Sixto Antonio Frutos, MSc.

COMISIÓN DE LOGÍSTICA

Coordinadores:

Dr. Rodrigo Celedonio Romero Rolón, MSc.

Dr. Miguel Angel Vargas Arréllaga, MSc.

Sub-Comisión de recepción y protocolo:

Abg. Emiliano Andrés Magni Cappelletti.

Miembros

Dr. Hector López

Dra. Carmen Barrios

Ing. Gabriel Huber

Dra. Danya Insaurralde

COMISIÓN DE DIVULGACIÓN

Coordinación:

Lic. Hernán Vega.

Miembros:

Sr. Denis Rodrigo Ocampos Quintana.

Lic. Andrés Cáceres.

Lic. Ernesto Talavera Rivas.

Sr. Gustavo Javier Giménez Ruiz Díaz.

Lic. Sirlene Gines

Lic. Ada Díaz Espínola

COLABORADORES:

Sra. Cinthia Fariña

Lic. Bartolomé Rivarola

Sr. Marcelo Denis

Sr. Cristian González

Sr. Umelio González

Sr. Fabián Galeano

Este Proyecto es cofinanciado por el Consejo
Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**)
con el apoyo del **FEEI**

PRESENTACIÓN

La realización del II Congreso Internacional de Acuicultura del Paraguay constituyó un importante espacio de encuentro e intercambio de conocimientos entre investigadores, profesionales, docentes, estudiantes y representantes del sector productivo, reafirmando el compromiso con el desarrollo sostenible y la innovación en el ámbito de la acuicultura.

La presente publicación reúne los resúmenes de los trabajos científicos y técnicos presentados durante el congreso, reflejando el esfuerzo y la dedicación de sus autores, así como los avances alcanzados en diversas áreas vinculadas a la producción acuícola, la sanidad, la nutrición, la genética, la gestión ambiental y otros temas de interés para la comunidad científica y productiva.

La diversidad y calidad de las contribuciones incluidas en este volumen evidencian el creciente interés por fortalecer la investigación, promover la cooperación entre instituciones y generar conocimientos que contribuyan al desarrollo del sector acuícola en Paraguay y la región.

Expresamos nuestro reconocimiento y agradecimiento a los conferencistas, investigadores, profesionales, estudiantes, instituciones colaboradoras y a todos quienes hicieron posible la realización de este importante evento. Su participación y compromiso fueron fundamentales para el éxito de esta segunda edición del Congreso Internacional de Acuicultura del Paraguay.

Confiamos en que este libro de resúmenes constituirá una valiosa fuente de consulta y referencia para la comunidad académica, científica y productiva, y que los aportes aquí presentados seguirán impulsando el crecimiento y la consolidación de la acuicultura como una actividad estratégica para el desarrollo sostenible.

Prof. Dra. Viviana María Ríos Morínigo

Decana

Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad Nacional de Asunción

INDICE	PÁG.
Situación actual de la Acuicultura, enfoques productivos y desafíos en el Paraguay.....	6
Comparación morfológica entre <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Pimelodus maculatus</i> y <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> , criados en cautiverio mediante programas informáticos utilizando hitos similares.....	7
Técnica de alimentación en surubí híbridos (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Pimelodus maculatus</i>) basado en manejo diario con balanceado sumergible y criterios de bienestar animal.	8
Estudio morfológico del intestino de camarones (<i>Macrobrachium rosenbergii</i>) criados en agua dulce alimentados con diferentes fórmulas balanceadas (comercial y artesanal) en el departamento de pesca y acuicultura; FCV-UNA, 2025.....	9
Evaluación de parámetros fisicoquímicos del agua en estanques de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Pimelodus maculatus</i> (híbridos de surubí) bajo dos regímenes alimenticios.....	10
Evaluación del manejo estabulado de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> y <i>pimelodus maculatus</i> (híbridos de surubíes) y <i>pseudoplatystoma reticulatum</i> (puros de surubíes), mantenidos en cautiverios.....	11
Comparación de la eficacia biológica y reproductiva del cuidado parenteral del macho frente a la incubación artificial en desoves de <i>betta splendens</i> L. Bajo condiciones controladas de acuario en Coronel Oviedo, Paraguay.....	12
Estimación del costo de una dieta elaborada artesanalmente versus un balanceados comerciales ofrecidos a surubí híbrido (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Pimelodus maculatus</i>) en etapas de engorde, Paraguay.....	13
Concepto de “Una Salud aplicado a Acuicultura”.....	14
Producción de híbridos de surubi rayado (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>) por mandí'i (<i>Pimelodus maculatus</i>), periodo de adaptación a alimento inerte y sobrevivencia de alevines en estanques externos.....	15
Evaluación del rendimiento y valor nutricional del maíz (<i>Zea mays</i>) asociado a la Piscicultura.....	16
Inducción Hormonal del <i>Colossoma macropomum</i> utilizando un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH).	17
Importancia de las Microalgas en el Escalamiento de Cultivo del Pargo de Mancha (<i>Lutjanus guttatus</i>).....	18
Nutrición funcional, inmunonutrición y estrategias bioactivas en acuicultura moderna.....	19
Perfil hematológico de peces de producción como indicador de bienestar y salud.....	20
Validación de Método Analítico para determinación de cloranfenicol en camarón y pescado por Lc-Ms/Ms.....	22
Calidad de agua en piscicultura, seguimiento clave. Casos: Larvicultura de peces en siste-	

mas de biofloc.....	28
Predicción genómica de la resistencia a <i>Piscirickettsia salmonis</i> en trucha arcoíris: integración de GWAS e imputación genómica.....	33
Prevención y Curación de Enfermedades en el Cultivo de Tilapia.....	35
Producción de camarón de agua dulce en Paraguay: Evolución, resultados y desafíos de una alternativa acuícola emergente.....	37
Evaluación de la Producción de <i>Cyprinus carpio</i> y <i>Australoheros facetus</i> en Sistemas Acuapónicos con <i>Nasturtium officinale</i> y <i>Mentha</i> spp. y Comparación con la Producción en Sistemas de Recirculación del Agua.	42
Ingredientes no convencionales en dietas para peces: experiencias colombianas en eficiencia nutricional, reducción de costos y alineación con los principios de la acuicultura sostenible	49
Enterobacterias aisladas de tortugas dulceacuícolas en cautiverio en Mariano Roque Alonso – Paraguay.....	51
Criopreservación y evaluación Preliminar de semen de Surubí Atigrado (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>).....	56
Evaluación del efecto de dietas con distintos niveles de proteína sobre la conversión alimenticia, ganancia diaria de peso y la tasa de supervivencia en alevines de salmón de río (<i>Brycon orbignyanus</i>).....	58
The implications of Vitamin C on the performance of tilapia fry in RAS.....	63
Análisis de dos métodos de extracción de ADN a partir de muestras de tejidos del híbrido intergenérico (surubí híbrido).....	75
Suplementação com Pós-Biótico em Tilápias do Nilo durante a masculinização.....	86
Evaluación comparativa de dos métodos de extracción de ADN en camarones de agua dulce (<i>Macrobrachium rosenbergii</i>).....	95

Situación actual de la Acuicultura, enfoques productivos y desafíos en el Paraguay

Rios Viviana, Vargas Miguel

Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción

Email: mavargas@vet.una.py

Resumen

El sector de la acuicultura en el Paraguay a lo largo de los años ha tenido un crecimiento sustancial en materia de producción piscícola, esto se deduce en base al último diagnóstico oficial realizado sobre la acuicultura en el Paraguay que data del año 2009, que sirvió de línea de base para la elaboración del Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura Sostenible de Paraguay 2011. Según datos recolectados por medio del informe del “Taller de Mesas Sectoriales Funcionales y Eficientes”, llevado a cabo en la ciudad de Eusebio Ayala (Paraguay), en agosto del año 2019, se calculan que en el Paraguay existen alrededor de 10 mil productores acuícolas que en la mayoría de los casos poseen estanques con superficies de espejo de agua de menos de 300 m², representando el 98% de los trabajadores acuícolas catalogados como acuicultura de recursos limitados (AREL). Cabe destacar que el volumen de producción a nivel País ha ido en aumento en los últimos años, llegando a una cantidad aproximada de unas 10.500 toneladas de peces en el año 2017. Un dato sumamente importante es que el 71% de la producción nacional corresponde a tilapia y el porcentaje restante de la producción es principalmente de Pacú con un 24%, seguido minoritariamente por otras especies que representan solo un 4% de la producción. De esta manera se puede manifestar que el consumo per cápita del país ha ido en aumento en los últimos años, llegando en la actualidad a 7,2 kg/habitante/año y solo el 20% del consumo es satisfecho por la producción nacional, representando esto una importante oportunidad para el sector. Según datos recolectados en el año 2024 se cuenta a nivel nacional con una capacidad instalada en estanques que pueden llegar a una producción de 20.544 toneladas al año. También un punto muy importante dentro de este estudio es realizar la articulación y vinculación comercial entre los piscicultores de escala familiar y medianos, buscando una sostenibilidad con los piscicultores de escala superior quienes son los principales compradores de sus productos, a través del fortalecimiento de las asociaciones permitiendo así asegurar mayor volumen y mejores estándares de calidad e inocuidad. Los productores acuícolas existentes en relación al evidente crecimiento de la demanda de peces de piscicultura, permiten mayores oportunidades a los piscicultores familiares y de mediana escala, quienes en la actualidad ya se encuentran entregando productos a acopiadores de escala superior, pero igual siguen tropezándose con limitaciones que atajan una mayor producción transformándose directamente en menos ingresos. Actualmente el producto no solo es comercializado al pie de granja y en ferias y mercados locales, sino también existe un incipiente proceso de industrialización y comercialización en supermercados, restaurantes y otros puntos afines. Para ello es importante generar encadenamientos de los sectores, reducir los costos de alimento y mejorar la calidad de los productos balanceados. En definitiva, la acuicultura ofrece una alternativa viable y sostenible frente a la pesca tradicional, asegurando la continuidad de la producción de alimentos acuáticos sin agotar los recursos naturales.

Comparación morfométrica entre *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pimelodus maculatus* y *Pseudoplatystoma reticulatum*, criados en cautiverio mediante programas informáticos utilizando hitos similares

Shyrley Paola Amarilla¹; Viviana María Ríos Morínigo²; Rodrigo Celedonio Romero Rolón²; Sofía Arami Ricardi Montiel³; Lucia Ramona Isabel Galván Fernández³; Jorge Miguel Everst Giménez³; Deydra Andrea Victoria Valenzuela Zaracho³; Elena Montserrat Colmán Ramos³; Fátima Sofía Velotto Melgarejo³; Ximena Montserrat Portillo Bareiro³.

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Grupo de Iniciación Científica. Correo: pamarilla@vet.una.py

Resumen

La hibridación en piscicultura ha ganado relevancia debido al aumento de la demanda productiva del sector, sin embargo, uno de los principales desafíos en su implementación es la dificultad para diferenciar los híbridos de sus progenitores. Esto ha llevado a la necesidad de emplear comparaciones fenotípicas mediante programas informáticos que permitan evaluar cambios anatómicos de forma objetiva, con el fin de identificar características intermedias significativas entre los individuos. Este estudio tuvo como objetivo comparar morfológicamente el híbrido *Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pimelodus maculatus* (híbrido de surubí) con el *Pseudoplatystoma reticulatum* (surubí puro), criados en cautiverio, utilizando programas informáticos de acceso libre y comparando hitos previamente estandarizados. Para realizar el estudio, se validaron hitos morfométricos representados por los contornos de tres partes del cuerpo de los animales (cabeza, tronco y cola), basados en referencias anatómicas de Mateo et al. (2008). Las mediciones se realizaron utilizando los programas ImageJ ver. 1.54i y tpsDIG2 ver. 2.32.2021. Los ejemplares fueron fotografiados y pesados individualmente, después de ser anestesiados con Eugenol. Dos investigadores, utilizando programas de uso libre, llevaron a cabo las mediciones morfológicas, y los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el software *GraphPad Prism*10, que permitió comparar las medianas y los desvíos estándar, estableciendo las variaciones morfométricas entre los individuos de cada especie. Los resultados del estudio permitieron identificar hitos geométricos morfológicos objetivos, medibles mediante herramientas informáticas de acceso libre, que pueden diferenciar entre híbridos y puros criados bajo las mismas condiciones de cautiverio. Se encontró que los híbridos fueron significativamente más grandes que los puros ($p \leq 0,0014$), especialmente en el tronco, donde la diferencia fue de 12,40 cm² a favor del híbrido (50,05 cm²) frente al puro (37,65 cm²). Aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas en la composición de la ración alimentaria ($p = 0,4688$), los híbridos presentaron mayores porcentajes de materia seca, extracto etéreo, fibra y ceniza, mientras que los puros mostraron un mayor contenido de proteína y energía bruta. En términos de peso, los híbridos fueron significativamente más pesados ($p \leq 0,002$). En conclusión, los surubíes híbridos son más grandes que los puros bajo las mismas condiciones de cautiverio, incluso cuando se les ofrece una dieta sin diferencias bromatológicas significativas, utilizando hitos anatómicos previamente establecidos y herramientas informáticas objetivas analizadas por dos investigadores diferentes.

Palabras claves: peces; morfología geométrica; software; híbridos

Técnica de alimentación en surubí híbridos (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pimelodus maculatus*) basado en manejo diario con balanceado sumergible y criterios de bienestar animal.

Feeding technique for hybrid surubí (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Pimelodus maculatus*) based on daily management with sinking pellets and animal welfare criteria.

Amelia Belén Alvarenga Blazque¹; Gaya Marina Anahí Britos Peralta¹; Gloria Camila Servín Coronel¹; Lucia Belén Areco Carballo¹; Yemima Espinola Duré¹; Gerardo David Santacruz Lomaquiz²; Shyrley Paola Amarilla³.

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Estudiante sexto año. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. Correo: pamarilla@vet.una.py

Introducción: La alimentación es un factor clave en la producción acuícola y bienestar en especies bentónicas, cuyos hábitos requieren estrategias adaptadas a su comportamiento natural. El presente trabajo describe una experiencia práctica de manejo alimenticio basada en la administración de alimento una vez al día, utilizando balanceado sumergible racionado en bolos de fácil captación y deglución, con el objetivo de evaluar de manera descriptiva el efecto de esta técnica sobre el comportamiento alimentario, la eficiencia de consumo y bienestar de los peces. **Materiales y Métodos:** La metodología consistió en observaciones directa durante las rutinas de alimentación, considerando variables cualitativas: competencia, aprovechamiento del alimento y porcentaje de desperdicios. **Resultados:** Se evidenciaron un comportamiento alimentario más organizado, con disminución de agresividad y la competencia intraespecífica. El alimento sumergible permitió un acceso más equitativo en distintos niveles de la columna de agua, mientras que la presentación en bolos favoreció la captura individual y redujo la dispersión del alimento. Asimismo, se observó una mejora en la eficiencia de consumo y una reducción de desperdicio. **Discusión:** La alimentación diaria mediante alimento sumergible racionado en bolos constituye una técnica práctica y eficiente que optimiza el manejo alimenticio y contribuye al bienestar animal en sistemas de cultivo de surubí. **Conclusiones:** Estos resultados resaltan la importancia de adaptar las estrategias de alimentación a la biología de la especie para mejorar la sostenibilidad productiva.

Palabras clave: híbrido de surubí; alimentación; bienestar animal; sumergible.

Estudio morfométrico del intestino de camarones (*Macrobrachium rosenbergii*) criados en agua dulce alimentados con diferentes fórmulas balanceadas (comercial y artesanal) en el departamento de pesca y acuicultura; FCV-UNA, 2025

Morphometric study of the intestine of freshwater-raised shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*) fed with different balanced formulas (commercial and artisanal) in the department of fisheries and aquaculture of the FCV-UNA, 2025

Shyrley Paola Amarilla¹; María Belén Sánchez Leguizamón²; Adam Nicolás Deggeller Ledesma²; Viviana María Ríos Morinigo³; Rodrigo Celedonio Romero Rolón³.

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Estudiante de sexto año. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. Correo: pamarilla@vet.una.py

Introducción: El objetivo “Evaluar la morfometría intestinal en camarones criados en agua dulce alimentados con diferentes fórmulas balanceadas (comercial y artesanal) en el Departamento de Pesca y Acuicultura de la FCV-UNA, año 2025”. **Materiales y Métodos:** La investigación se llevó a cabo con 300 ejemplares en fase de engorde. Se establecieron dos grupos experimentales (n=150): el Grupo Comercial (C), alimentado con un balanceado comercial y el Grupo Artesanal (A), con una fórmula local. Tras 60 días, se realizaron análisis histológicos mediante tinción de Hematoxilina y Eosina en 40 ejemplares para medir la longitud del epitelio de revestimiento. **Resultados:** Los análisis microscópicos revelaron un epitelio cilíndrico simple con microvellosidades, donde la longitud de las células de revestimiento fue significativamente superior en los ejemplares alimentados con la dieta artesanal ($p < 0.001$). No obstante, se registró una pérdida de peso constante y una caída drástica en la supervivencia de ambos grupos. **Discusión:** Este desempeño productivo deficiente se atribuyó a la calidad del agua, identificándose a la temperatura como el factor limitante principal que impidió el crecimiento óptimo. **Conclusiones:** El balanceado artesanal promueve un mayor desarrollo del epitelio intestinal en comparación con el comercial, sugiriendo una potencial mejora en la capacidad de absorción de nutrientes bajo la formulación artesanal; siempre y cuando los parámetros fisicoquímicos del agua se encuentren dentro de los rangos de producción óptimo y sobre todo la temperatura cuyo promedio en este estudio estuvo por debajo del rango, ralentizando el metabolismo y el consumo de alimento.

Palabras clave: *Macrobrachium rosenbergii*; morfometría; epitelio intestinal; acuicultura; nutrición.

Evaluación de parámetros fisicoquímicos del agua en estanques de *Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pimelodus maculatus* (híbridos de surubí) bajo dos regímenes alimenticios.

Evaluating water physicochemical parameters in ponds of *Pseudoplatystoma reticulatum* × *pimelodus maculatus* (surubí hybrids) under two feeding regimes.

Gloria Camila Servín Coronel¹; Gaya Marina Anahí Britos Peralta¹; Amelia Belén Alvarenga Blazque¹; Lucia Belén Areco Carballo¹; Yemima Espinola Duré¹; Rodrigo Celedonio Romero Rolón²; Shyrley Paola Amarilla³.

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Grupo de Iniciación Científica. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. Correo: pamarilla@vet.una.py

Introducción: El objetivo fue evaluar el efecto del tipo de dieta sobre los parámetros fisicoquímicos del agua de estanques donde se cultiva *Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pimelodus maculatus* (híbridos de surubí). **Materiales y Métodos:** El estudio se desarrolló en sistema intensivo bajo invernadero, durante un periodo de ocho meses (setiembre 2025-abril 2026); en dos estanques de 6.000 lts identificados como: H1: siete híbridos adultos, alimentos con una dieta comercial y H2: ocho híbridos adultos, alimento con una dieta artesanal. Ambos tenían un flujo de agua y oxigenación continua. Se realizaron mediciones diarias de temperatura (termómetro INTEX para piletas) y oxígeno disuelto; semanales de pH y amonio, y mensuales de nitrito, utilizando un Kit comercial (LabcomTest-Brasil) para cada variable en estudio, siguiendo las indicaciones del fabricante. Se determinó valores mínimos, máximos y promedios. **Resultados:** Las temperaturas promedio fueron de 25,1 °C (H1) y 25,3 °C (H2), con rangos de 20 °C y 28 °C en ambos estanques. El oxígeno disuelto se mantuvo en 6,0 mg/L en H1 y H2, registrándose de manera puntual valores de 4 y 8 mg/L en H2. Ambos estanques presentaron pH ligeramente ácido (H1: 6,2; H2: 6,3). El amonio mostró mayor concentración en H1 que llegó a 0,31 mg/L; (rango: 0,25–0,50) frente a H2 de 0,25 mg/L. Asimismo, el nitrito fue superior en H1 con 0,37 mg/L; (rango: 0,25–0,50), mientras que en H2 permaneció estable (0,25 mg/L). **Discusión:** Las diferencias observadas sugieren que el balanceado comercial incrementa la lixiviación de nutrientes e incrementa la carga orgánica en el estanque; en contraste, el alimento artesanal evidenció menor variabilidad y mayor estabilidad. **Conclusiones:** El tipo de dieta influye en la dinámica de los compuestos nitrogenados, observándose mejores condiciones en el H2.

Palabras clave: dieta, *Pseudoplatystoma* spp, lixiviación, fisicoquímicos, bienestar animal.

Evaluación del manejo estabulado de *Pseudoplatystoma reticulatum* y *pimelodus maculatus* (híbridos de surubíes) y *pseudoplatystoma reticulatum* (puros de surubíes), mantenidos en cautiverios.

Management evaluation of captive pure surubí (*Pseudoplatystoma reticulatum*) and its hybrids with (*Pseudoplatystoma reticulatum* y *Pimelodus maculatus*) under intensive culture.

Anna Laura Montserrath Duarte Acosta¹; Marcos Saúl Ortiz Giménez¹; Hellem Milagros Romero Arzamendia¹; Verónica Beatriz Silva Avalos¹; Viviana María Ríos Morinigo²; Rodrigo Celedonio Romero Rolón²; Shyrley Paola Amarilla^{1,3}.

¹Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Campus Universitario de Caaguazú en Coronel Oviedo. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. Correo: shyrley.amarilla@uc.edu.py

Introducción: El éxito de la actividad piscícola depende de varios factores como por ejemplo un buen manejo del agua, los peces, la calidad genética, de asegurar una alimentación balanceada, estricta sanidad, entre otros. El objetivo fue “Evaluar el manejo estabulado en híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* y *Pimelodus maculatus* (híbridos de surubíes) y *Pseudoplatystoma reticulatum* (puros de surubíes), mantenidos en cautiverios”; 2024. **Materiales y Métodos:** La población estuvo constituida por 91 ejemplares, divididos en cuadro circulares para ambos (híbridos de surubíes y puros), donde se evaluaron las siguientes variables: Parámetros ambientales; Comportamiento y Alteraciones anatomopatológicas. **Resultados:** Se observó diferencias notables en la estabilidad y fluctuaciones de temperatura, oxígeno disuelto, amonio y pH. Los comportamientos anormales identificados en los peces fueron disminución de la actividad natatoria, rechazo del alimento, boqueo en la superficie, nado en círculo y separación del cardumen. Las evaluaciones anatomopatológicas demostrables en los ejemplares híbridos muertos presentaron considerables alteraciones *post-mortem*, congestión y hemorragias hepáticas. Los puros presentaron dermatitis pustulosa y parasitosis por *Ichthyophthirius multifiliis*, asociados a hígado graso y depleción esplénica. **Discusión:** Las lesiones macroscópicas sugieren un déficit o falta de oxígeno y otros factores estresantes como niveles peligrosos de nitrito. **Conclusiones:** Para asegurar el bienestar, crecimiento y supervivencia de los peces en los circulares, es fundamental implementar un sistema riguroso de monitoreo constante de los parámetros ambientales como temperatura, oxígeno disuelto, amonio, pH y nitrito. Además de instalar medidas preventivas sanitarias que disminuya la probabilidad de aparición de enfermedades parasitarias o infecciosas.

Palabras clave: peces, manejo, parámetros ambientales, comportamiento, anatopatología, *post-mortem*.

Comparación de la eficacia biológica y reproductiva del cuidado parenteral del macho frente a la incubación artificial en desoves de *Betta splendens* I. Bajo condiciones controladas de acuario en Coronel Oviedo, Paraguay

Comparison of the biological and reproductive effectiveness of male parenteral care versus artificial incubation in spawning of *Betta splendens* I. Under controlled aquarium conditions in Coronel Oviedo, Paraguay

Marcos Saúl Ortiz Giménez¹; Hellem Milagros Romero Arzamendia¹; Anna Laura Montserrath Duarte Acosta¹; Verónica Beatriz Silva Avalos¹; Shyrley Paola Amarilla^{1,2}.

¹Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Campus Universitario de Caaguazú en Coronel Oviedo. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. Correo: shyrley.amarilla@uc.edu.py

Introducción: El objetivo principal fue “Comparar la eficacia biológica y productiva del cuidado parental del macho frente a la incubación artificial en desoves de *Betta splendens*, bajo condiciones controladas de acuario en Coronel Oviedo”. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron cuatro parejas de reproductores, previamente seleccionados por su aptitud fenotípica y sometidos a un protocolo de acondicionamiento nutricional y profiláctico. Se monitorearon cuatro eventos de desove independientes, asignados aleatoriamente a dos grupos: Tratamiento1: cuidado artificial y Tratamiento2: cuidado parental. En la incubación artificial, el macho fue retirado cinco horas *post*-desove, aplicando aireación fina y azul de metileno como control fúngico; los datos de fecundación, eclosión y supervivencia se obtuvieron mediante recuento directo. En el cuidado parental, para evitar el estrés mecánico y la alteración del nido de burbujas, las tasas de fecundación (83%) y eclosión (90%) se estimaron, mientras que la supervivencia al nado libre (día 3) se cuantificó. **Resultados:** Se evidenciaron un desempeño biológico superior en el sistema de cuidado parental de una tasa de supervivencia inicial del 98,5% en contraste con 76,4% registrado en la incubación artificial. **Discusión:** La tasa de eclosión artificial fue baja; lo que sugiere que la manipulación física de las ovas y la sustitución de las conductas específicas de limpieza del macho afectan negativamente la viabilidad embrionaria. Si bien el análisis estadístico no fue significativo el efecto presenta un altísimo significado biológico y productivo. **Conclusiones:** El cuidado parental natural es el método más eficiente y seguro para la propagación de la especie y la incubación artificial es una alternativa técnica de contingencia plenamente válida, permitiendo a los acuaristas el rescate de puestas ante conductas paternas indeseadas como el canibalismo.

Palabras claves: *Betta splendens*, reproducción, acuicultura ornamental, incubación artificial, cuidado parental, supervivencia larval.

Estimación del costo de una dieta elaborada artesanalmente versus un balanceados comerciales ofrecidos a surubí híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pimelodus maculatus*) en etapas de engorde, Paraguay

Estimating the cost of an artisanal diet versus commercial feeds for hybrid surubí (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pimelodus maculatus*) during the grow-out stage in Paraguai.

Gaya Marina Anahí Britos Peralta¹; Gloria Camila Servín Coronel¹; Amelia Belén Alvarenga Blazque¹; Lucia Belén Areco Carballo¹; Yemima Espinola Duré¹; Sixto Antonio Frutos Acosta²; Shyrley Paola Amarilla³.

¹Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Grupo de Iniciación Científica. ²Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Pesca y Acuicultura. ³Universidad Nacional de Asunción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Patológicas. Correo: pamarilla@vet.una.py

Introducción: En la acuicultura del surubí híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Pimelodus maculatus*), la alimentación constituye uno de los principales costos operativos. Debido a la variabilidad de precios; las dietas artesanales son consideradas una posible alternativa económica. Por ello el objetivo fue “Estimar el costo por kilogramo de un alimento artesanalmente elaborado versus un alimento comercial suministrados a surubí híbridos en etapas de engorde”. **Materiales y Métodos:** El análisis se basó en un relevamiento de precios actuales. Se evaluó un balanceado comercial con un costo de 300.000 Gs. por bolsa de 30 kg y una dieta artesanal compuesta por un 65% de balanceado para camarón (100 USD/30 kg) y un 35% de corazón bovino magro (14.500 Gs./kg). Los cálculos integraron la conversión monetaria a una tasa de 6.100 Gs./USD y la incorporación del costo de mano de obra basado en el jornal mínimo legal paraguayo (111.502 Gs.), considerando el tiempo requerido para la preparación manual de la dieta artesanal. **Resultados:** El costo final del balanceado comercial resultó en 10.000 Gs./kg, mientras que la dieta artesanal alcanzó los 20.521 Gs./kg al incluir los gastos de ingredientes y operatividad. **Discusión:** El mayor costo de la dieta artesanal se atribuye principalmente a la utilización de insumos importados sujetos a variaciones del tipo de cambio y a los costos asociados a la preparación manual. La exclusión del costo de mano de obra puede generar una percepción errónea de ahorro en las preparaciones artesanales. **Conclusiones:** Bajo las condiciones evaluadas, la dieta artesanal presentó un poco más del doble del costo comparado con el balanceado comercial, debido al elevado costo de los insumos importados y a los gastos asociados a su preparación.

Palabras clave: surubí híbrido; costos de alimentación; dieta artesanal; balanceado comercial

Concepto de “Una Salud aplicado a Acuicultura”

Dr. Sergio Lynch

Académico investigador, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás (Puerto Montt, Chile).

Resumen:

La acuicultura representa hoy el 51% de la producción mundial de recursos hidrobiológicos, siendo fundamental para la seguridad alimentaria global. Sin embargo, las enfermedades infecciosas generan pérdidas estimadas en USD 6 mil millones anuales a nivel mundial. Casos emblemáticos como el brote de ISA en Chile (2007) o las pérdidas por síndrome de mancha blanca en camarones (cercanas a USD 15 mil millones en dos décadas) ilustran la magnitud del desafío sanitario del sector.

El concepto de Una Salud reconoce la interdependencia entre la salud animal, humana y ambiental. Aplicado a la acuicultura, implica considerar simultáneamente la productividad, la calidad ambiental, la biodiversidad y el uso responsable de quimioterapéuticos. A lo anterior debe agregarse que la presentación de las enfermedades infecciosas obedece a patrones multifactoriales, influenciadas por el hospedero, el patógeno, el ambiente y los factores antrópicos como el comercio y la crisis climática.

En la acuicultura de peces en sistemas abiertos, es fundamental considerar el impacto que el uso de quimioterápicos tiene en el entorno de los cultivos. A través de un estudio propio realizado en tres centros salmonicultores de la Región de Los Lagos (Chile), se demostró que el uso de florfenicol altera significativamente la diversidad microbiana bentónica, reduciendo la riqueza de especies y favoreciendo taxones más resistentes. El sedimento marino actúa como reservorio de bacterias resistentes y genes de resistencia, constituyendo un espejo ecológico de las prácticas productivas.

La aplicación de tratamientos metafilácticos con antimicrobianos no reemplazan un buen manejo de cultivo; solo ayudan a controlar infecciones temporalmente. La generación de resistencia antimicrobiana (RAM) es inevitable con el uso continuado, y representa una amenaza directa para los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Las medidas de prevención mediante vacunación, bioseguridad, nutrición funcional, densidades adecuadas y descansos sanitarios, siempre son preferibles al tratamiento.

La sostenibilidad de la acuicultura depende de integrar la salud animal, humana y ambiental bajo el paradigma de Una Salud. La vigilancia de la RAM, la investigación con datos transparentes y las políticas públicas basadas en evidencia son herramientas esenciales para proteger tanto la producción acuícola como los ecosistemas que la sustentan.

Producción de híbridos de surubí rayado (*Pseudoplatystoma reticulatum*) por mandi'i (*Pimelodus maculatus*), periodo de adaptación a alimento inerte y sobrevivencia de alevines en estanques externos.**Vargas, M¹ Barrios, C¹.**¹Facultad de Ciencias Veterinarias**Resumen**

La piscicultura paraguaya enfrenta importantes desafíos para el cultivo intensivo del surubí rayado (*Pseudoplatystoma reticulatum*), principalmente debido a su hábito carnívoro estricto, la dificultad de adaptación al alimento balanceado, el canibalismo intracohorte y la elevada sensibilidad al estrés. En este contexto, el presente estudio evaluó la producción de híbridos obtenidos mediante el cruce de hembras de surubí rayado (*P. reticulatum*) y machos de mandi'i (*Pimelodus maculatus*), comparando su adaptación al alimento inerte y su supervivencia con respecto a ejemplares puros de surubí. La reproducción se realizó mediante inducción hormonal y fecundación artificial, estableciéndose dos tratamientos: un grupo puro (*P. reticulatum* × *P. reticulatum*) y un grupo híbrido (*P. reticulatum* × *P. maculatus*). Ambos grupos fueron sometidos a las mismas condiciones de incubación, alimentación larval con *Artemia* salina y posterior adaptación al alimento balanceado. Los híbridos aceptaron espontáneamente el alimento inerte en aproximadamente una semana, mientras que los ejemplares puros requirieron cerca de cuatro semanas de transición alimentaria. Asimismo, los híbridos mostraron menor agresividad y una notable reducción del canibalismo. Los resultados evidenciaron una marcada superioridad de los híbridos en términos de supervivencia. De 10.000 alevines sembrados, los híbridos alcanzaron una tasa de supervivencia del 27,6 %, mientras que los surubíes puros registraron apenas un 0,75 %, representando una supervivencia 36,7 veces mayor en favor del grupo híbrido. Estos hallazgos sugieren que la incorporación de características alimentarias del mandi'i contribuye significativamente a la rápida aceptación del balanceado y a la disminución de las pérdidas por canibalismo. Se concluye que la hibridación entre surubí rayado y mandi'i constituye una estrategia prometedora para optimizar la producción acuícola de pimelódidos en Paraguay, al mejorar la adaptación alimentaria y aumentar considerablemente la supervivencia de los alevines durante las etapas tempranas de cultivo.

Palabras clave: Hibridación, adaptación, sobrevivencia.

Evaluación del rendimiento y valor nutricional del maíz (*Zea mays*) asociado a la Piscicultura

Frutos, Sixto. *Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción. Email: sfrutos@vet.una.py*

Resumen.

El objetivo de esta investigación fue determinar el rendimiento y el valor nutricional del maíz (*Zea mays*) como Hidroforraje asociado a la piscicultura con Tilapia (*Oreochromis niloticus*) el mismo se realizó en Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNA. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), donde los tratamientos evaluados fueron T1 Acuaponía y T2 Hidroponía. La unidad experimental utilizó 6 bandejas de 35 por 45cm por tratamiento, en las cuales se distribuyeron un total de 1,5kg de semillas por bandeja respectivamente. Las variables evaluadas fueron: rendimiento del maíz como forraje verde por m², porcentaje (%) de proteína y valor energético del forraje. Los resultados nos indicaron que el mejor rendimiento de materia verde por m² se obtuvo con el T1 (acuaponía), con un resultado de 24.51 kg±1,2, mientras que la (hidroponía) para la T2 se obtuvo 14.54 kg±2,7, encontrándose diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

En cuanto a la cantidad de proteína, el mejor resultado se obtuvo con el T2 (agua potable sin aditivo) de 30.42%, mientras que el T1 registró un resultado de 20.08%. En cuanto al valor energético, el T2 presentó mejores resultados con 288.59Kcal, y el T1 208.9 Kcal. Por los resultados obtenidos en cuanto a la producción de biomasa, es recomendable la T1 (acuaponía), ya que el volumen es un factor muy importante, por otro lado, sus valores en cuanto a proteína y valor energético se encuentran dentro lo establecido como aceptable al momento de ofrecer al animal.

Palabras Claves: Forraje verde, hidroponía, Maíz (*Zea mays*), riego, Agua Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Agua potable.

Abstract

The objective of this research was to determine the yield and nutritional value of corn (*Zea mays*) as hydroponic forage associated with tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish farming. The study was conducted at the Department of Fisheries and Aquaculture of the Faculty of Veterinary Sciences, UNA. A completely randomized design (CRD) was used, with the treatments evaluated being T1 Aquaponics and T2 Hydroponics. The experimental unit used six 35 x 45 cm trays per treatment, in which a total of 1.5 kg of seeds were distributed per tray. The variables evaluated were: corn yield as green forage per m², percentage (%) of protein, and energy value of the forage. The results indicated that the best yield of green matter per m² was obtained with T1 (aquaponics), with a result of 24.51 kg ± 1.2, while T2 (hydroponics) yielded 14.54 kg ± 2.7, a statistically significant difference ($p < 0.05$). Regarding protein content, the best result was obtained with T2 (potable water without additives) at 30.42%, while T1 registered a result of 20.08%. As for energy value, T2 showed better results with 288.59 kcal, and T1 with 208.9 kcal. Based on the results obtained for biomass production, T1 (aquaponics) is recommended, since volume is a very important factor. Furthermore, its protein and energy values are within the established acceptable range for animal feed.

Keywords: Green Forage, hydroponics, Maize (*Zea mays*), irrigation, Water Tilapia (*Oreochromis niloticus*), Drinking water.

Inducción Hormonal del *Colossoma macropomum* utilizando un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH).

Díaz, Álvaro¹; Garcia, América¹; Arosemena, Cilini²; Ríos, Evelyn²; López-Campos, Marluribel³.

¹ Estación Dulceacuícola Richard Preto Malca de Divisa, Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP).

² Dirección de Investigación y Desarrollo, sede central (ARAP).

³ Laboratorio de Achotines (ARAP). adiaz@arap.gob.pa.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue validar el uso de la Hormona Liberadora de Gonadotropina FSH y LH en la reproducción inducida de *Colossoma macropomum*. Se comparó el protocolo de la Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP) con el del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), con el fin de determinar el proceso óptimo de reproducción, ya que la principal limitante es su difusión reproductiva en ambientes controlados.

La metodología de dosificación se aplicó a dos hembras y dos machos en cada protocolo (ARAP-IIAP), de la siguiente manera:

ARAP se les aplicó una dosis de 0.5 ml/kg, dividida en dos aplicaciones del 50 % cada una en hembras. A los machos se les aplicó una dosis total y única (100 %) de 0.5 ml/kg al momento de la segunda dosis de las hembras.

IIAP se les aplicó una dosis de 1 ml/kg, distribuida en un 10 % inicial y un 90 % final. Los dos machos de este grupo fueron inyectados con el 50 % de una dosis de 1 ml/kg en cada aplicación.

En ambos protocolos, el intervalo entre la primera y la segunda dosis fue de 12 horas. Durante el proceso, se evaluó la dosis hormonal, la zona de inyección (peritoneal / dorsal) y el tiempo de aplicación, además de monitorear constantemente la temperatura del agua.

En cuanto al comportamiento de los reproductores, ARAP-protocolo los reproductores (hembra y macho) permanecieron juntos a partir de la segunda dosis, mientras IIAP-protocolo permanecieron juntos desde la primera aplicación de hormona. Tras el desove y la expulsión del semen, los huevos fueron pesados, fertilizados e hidratados antes de ser trasladados a una tina de incubación de 4.26 m³, donde se observó constantemente la división celular, a través de microscopía y estereoscopía. Después de la absorción del saco vitelino, las larvas fueron alimentadas con batidos de yema de huevo cocida a los tres días post eclosión (dpe); 8 dpe; fueron contabilizadas y sembradas en estanque de tierra de aproximadamente 400 m².

La validación y comparación de estos protocolos permiten estandarizar el manejo hormonal y reproductivo de la especie, superando las barreras biológicas de su reproducción en cautiverio.

Palabras clave: Hormona liberadora de Gonadotropina, reproducción inducida, *Colossoma macropomum*, día post eclosión (dpe).

Importancia de las Microalgas en el Escalamiento de Cultivo del Pargo de Mancha (*Lutjanus Guttatus*). Proyecto IDDS 2024-041 (adiaz@arap.gob.pa)

Díaz Alvaro^{1*}, López-Campos Malurisbel¹, Martínez Alexandra¹, Ríos Evelyn¹, Cano R. Amado¹, Arosemena Cilini¹, Vega Ángel², Cusatti Susana³.

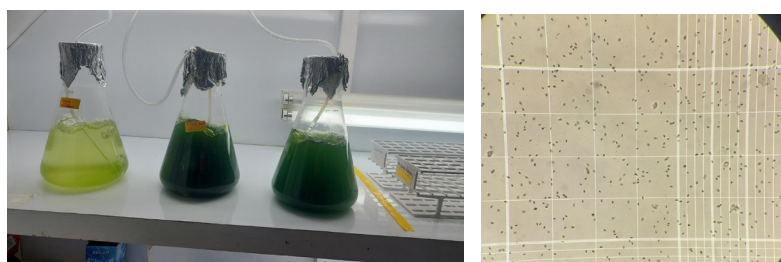
¹ Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP), ² Universidad de Panamá (UP), ³ Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT).

Palabras claves: Acuicultura marina, Escalamiento de microalgas, *Lutjanus guttatus*.

Resumen

Las microalgas constituyen el eslabón fundamental en la cadena alimentaria acuática. En la acuicultura marina del pargo de mancha (*Lutjanus guttatus*), la producción sostenible y masiva de microalgas vivas de alta calidad nutricional es el cuello de botella indispensable para garantizar la supervivencia larval y el éxito del escalamiento comercial de la especie en Panamá. Hemos estructurado la metodología de cultivo de este suministro en tres fases de escalamiento: la Fase 1, de aislamiento y mantención en laboratorio en condiciones controladas utilizando placas de Petri y matraces Erlenmeyer; la Fase 2, de escalamiento intermedio a volúmenes de 20 a 200 litros en carboys y columnas con aireación constante para maximizar la densidad celular; y la Fase 3, de producción masiva en tanques exteriores de gran volumen para el sustento continuo de las larvas.

Actualmente mantenemos cepas de *Nannochloropsis oculata*, *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis* sp. , *Tetraselmis chuii*, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis*, *Thalassiosira weissflogii* y *Nannochloropsis* sp. Las cepas de reserva se preservan en medio de cultivo f2 modificado con 1.5% de agar, esterilizado a 121°C por 20 minutos, mediante la técnica de rayado por agotamiento en zig-zag e incubación a baja intensidad lumínica para ralentizar el metabolismo. Para el inóculo inicial en tubos de ensayo, se vierten de 10 a 15 ml de medio líquido estéril y se transfieren colonias jóvenes de placas Petri; estos cultivos se agitan dos veces al día para favorecer el intercambio de gases. El monitoreo de la densidad celular (células/ml) y la salud del fitoplancton se efectúa mediante el conteo en Cámara de Neubauer. Este monitoreo se realiza durante todo el proceso de cultivo de microalgas.



La producción estandarizada de microalgas, mediante el control preciso de cepas en laboratorio y su escalamiento masivo, es indispensable para optimizar la supervivencia larvaria de *Lutjanus guttatus* en Panamá. El éxito del proceso radica en mantener la pureza genética de los cultivos y asegurar un monitoreo riguroso de su densidad celular.

Nutrición funcional, inmunonutrición y estrategias bioactivas en acuicultura moderna

Pablo Salgado

Coordinador académico UNAB - Chile

La intensificación de los sistemas acuícolas ha permitido satisfacer la creciente demanda mundial de proteína de origen acuático; sin embargo, también ha incrementado los desafíos asociados a salud animal, bienestar, sostenibilidad y eficiencia productiva. En este escenario, la nutrición funcional ha emergido como una herramienta estratégica capaz de ir más allá del aporte de nutrientes esenciales, permitiendo modular procesos fisiológicos, inmunológicos y metabólicos que influyen directamente en el desempeño productivo y la resistencia frente a enfermedades. La incorporación de compuestos bioactivos en las dietas de peces ofrece nuevas oportunidades para fortalecer la respuesta inmune, mejorar la capacidad antioxidante, modular favorablemente la microbiota intestinal y reducir la dependencia de antimicrobianos, contribuyendo al desarrollo de sistemas de producción más resilientes y sostenibles.

La presente conferencia revisa avances recientes en nutrición funcional e inmunonutrición aplicada a la acuicultura, abordando el potencial de ingredientes funcionales derivados de subproductos agroindustriales vegetales, estrategias de encapsulación de compuestos bioactivos y nuevos enfoques basados en inmunidad nutricional. Como caso de estudio, se presentan resultados obtenidos en salmónidos, particularmente en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), especie de gran relevancia para la salmonicultura en Chile y que constituye un modelo de interés para evaluar nuevas herramientas nutricionales orientadas a la salud y productividad.

Se presentan resultados obtenidos mediante la utilización de extractos antioxidantes derivados de orujo de uva y pomasa de tomate, evaluando su efecto sobre la capacidad antioxidante plasmática mediante ORAC y diversos parámetros fisiológicos. Los resultados demostraron que los extractos ricos en polifenoles provenientes del orujo de uva son capaces de modular la capacidad antioxidante circulante de los peces, evidenciando el potencial de estos subproductos vegetales como ingredientes funcionales para la alimentación acuícola. Asimismo, se discuten estudios que incorporan extractos de orujo de uva microencapsulados en dietas con altos niveles de ingredientes vegetales, observándose efectos positivos sobre la capacidad antioxidante y el desempeño productivo de los peces.

Como segunda línea temática, se presenta el desarrollo de una estrategia innovadora para enfrentar la piscirickettsiosis, principal enfermedad bacteriana de la salmonicultura chilena, basada en el concepto de inmunidad nutricional. Esta aproximación utiliza deferiprona, un quelante de hierro administrado vía oral, con el objetivo de limitar la disponibilidad de este micronutriente esencial para *Piscirickettsia salmonis*. Los resultados obtenidos muestran efectos promisorios sobre la viabilidad celular durante desafíos *ex vivo* y permiten avanzar hacia el desarrollo de dietas funcionales no antibióticas orientadas al control de enfermedades infecciosas.

En conjunto, los antecedentes y resultados presentados destacan el potencial de la nutrición funcional como una herramienta integradora capaz de vincular salud animal, sostenibilidad e innovación tecnológica. Finalmente, se discuten perspectivas futuras relacionadas con alimentación de precisión, microbiota intestinal, biomarcadores nutricionales y el desarrollo de nuevas estrategias nutricionales para una acuicultura más eficiente, sustentable y resiliente.

Palabras clave: nutrición funcional, inmunonutrición, compuestos bioactivos, antioxidantes, piscirickettsiosis.

Perfil hematológico de peces de producción como indicador de bienestar y salud

Departamento de Pesca y Acuicultura, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

Introducción

Actualmente la acuicultura requiere herramientas diagnósticas confiables que permitan evaluar de manera temprana la salud y el bienestar de los peces de producción. El perfil hematológico constituye uno de los biomarcadores más utilizados debido a que refleja rápidamente las respuestas fisiológicas, inmunológicas y metabólicas frente a factores ambientales, nutricionales y de manejo. Diversos estudios han demostrado que los parámetros hematológicos constituyen indicadores sensibles de alteraciones fisiológicas, inmunológicas y metabólicas asociadas al estrés, enfermedades y condiciones de manejo (Tavares-Dias y Moraes, 2004; Fazio, 2019). La hematología aplicada permite detectar cambios subclínicos antes de la aparición de signos clínicos evidentes, favoreciendo la toma oportuna de decisiones sanitarias y productivas. Asimismo, variables como hematocrito, hemoglobina, leucocitos y glucosa sanguínea han sido utilizadas ampliamente como biomarcadores del bienestar animal en sistemas acuícolas intensivos (Wedemeyer, 1996; Houston, 1997).

El objetivo general del trabajo fue analizar la utilidad del perfil hematológico como indicador de bienestar y salud en peces de producción de importancia acuícola, destacando su aplicación en el monitoreo sanitario y la gestión productiva; y los objetivos específicos fueron; Analizar parámetros hematológicos, relacionar alteraciones sanguíneas con estrés y enfermedad y presentar alteraciones sanguíneas con estrés y enfermedad.

Metodología

Se realizó una revisión y análisis de parámetros hematológicos obtenidos en especies cultivadas en Paraguay, incluyendo Surubí Híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* × *Pseudoplatystoma reticulatum*), Pacú (*Piaractus mesopotamicus*) y Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*). Se evaluaron variables de la serie roja (eritrocitos, hematocrito, hemoglobina e índices eritrocitarios), serie blanca (leucocitos totales y diferenciales) y trombocitos. Además, se consideraron indicadores metabólicos relacionados con el estrés, particularmente la glucosa plasmática. Los resultados fueron interpretados en función de factores fisiológicos, ambientales y de manejo presentes en los sistemas de producción.

Resultados

Los análisis realizados evidenciaron que el perfil hematológico responde de manera sensible a las condiciones de cultivo. En Surubí Híbrido se observaron valores elevados de hematocrito, hemoglobina, heterófilos, monocitos y trombocitos, compatibles con respuestas fisiológicas asociadas al estrés y a una mayor demanda metabólica. En cuanto al Pacú, los parámetros eritrocitarios se mantuvieron dentro de rangos compatibles con buen estado sanitario, aunque se detectaron modificaciones leucocitarias indicativas de adaptación al sistema de cultivo. En tilapia nilótica, el 81,48% de los ejemplares presentó hiperglucemia, considerada un importante biomarcador de estrés agudo relacionado con la manipulación y el muestreo. En conjunto, los hallazgos demostraron que las alteraciones hematológicas permiten identificar tempranamente procesos de estrés, inflamación y posibles desequilibrios fisiológicos antes de la aparición de signos clínicos evidentes.

Conclusiones

El perfil hematológico constituye una herramienta diagnóstica eficaz para la evaluación del bienestar y la salud de los peces de producción. Los parámetros sanguíneos permiten detectar de forma temprana alteraciones fisiológicas e inmunológicas relacionadas con factores ambientales y de manejo, contribuyendo al monitoreo sanitario y a la optimización de los sistemas acuícolas. Asimismo, se destaca la necesidad de generar valores de referencia regionales para especies tropicales cultivadas, con el fin de fortalecer la interpretación de resultados y mejorar la sostenibilidad de la producción acuícola.

Palabras clave: hematología de peces, acuicultura, bienestar animal, biomarcadores, salud de peces.

Bibliografía

Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500, 237–242.

Houston, A. H. (1997). Are the classical hematological variables acceptable indicators of fish health? *Transactions of the American Fisheries Society*, 126, 879–894.

Tavares-Dias, M., & Moraes, F. R. (2004). *Hematologia de Peixes Teleósteos*. Ribeirão Preto: Villimpress.

Wedemeyer, G. A. (1996). *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. New York: Chapman & Hall.

Martins, M. L., Moraes, F. R., Fujimoto, R. Y., Onaka, E. M., & Bozzo, F. R. (2004). Hematological alterations in farmed fish associated with parasitic infections. *Aquaculture*, 237, 471–481.

Validación de Método Analítico para determinación de cloranfenicol en camarón y pescado por Lc-Ms/Ms

Validation of Analytical Method for determination of chloramphenicol in shrimp and fish By Lc-Ms/Ms

Dr. Alfredo Montes Niño¹, André Danioti²

¹*Laboraotrio Microbóticos Paraguay S.R.L, Paraguay.*

²*Microbóticos Análisis Laboratoriais, Brasil*

Correo autor correspondencia: amontesninio@microbóticos.com.p

Resumen

El cloranfenicol (CAF) es un antibiótico de amplio espectro prohibido en animales destinados a consumo humano en numerosos países debido a su potencial tóxico para la salud humana, incluyendo anemia aplásica. La presencia de este compuesto en productos de acuicultura como camarón y pescado representa un riesgo sanitario relevante en la cadena productiva. En el presente trabajo se describe la validación de un método analítico para la determinación de cloranfenicol en camarón y pescado mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), utilizando Cloranfenicol-D5 como estándar interno. La extracción se realizó con acetato de etilo, seguida de partición con hexano y análisis en sistema UPLC-MS/MS Waters TQD con columna Kinetex C18 (2,1 × 50 mm; 2,6 µm). Se evaluaron los parámetros de especificidad, selectividad, efecto matriz, linealidad, veracidad/recuperación, repetibilidad, reproducibilidad, capacidad de decisión (CC α), capacidad de detección (CC β), estabilidad en el auto inyector y robustez. La curva de calibración mostró linealidad en el rango de 0,15 a 0,90 µg/kg (R = 0,9931). La recuperación promedio fue de 102–104% en los niveles estudiados (0,30; 0,45 y 0,60 µg/kg). Los coeficientes de variación de repetibilidad y reproducibilidad fueron inferiores al 10%, cumpliendo los criterios establecidos. El método demostró ser apto para su uso previsto, cumpliendo con los requisitos de la ISO/IEC 17025.

Palabras clave: cloranfenicol; LC-MS/MS; validación analítica; camarón; pescado.

1. Introducción

El cloranfenicol (CAF) es un antibiótico de amplio espectro originalmente descubierto en 1947, que fue ampliamente utilizado en medicina humana y veterinaria durante décadas. Sin embargo, su uso en animales de producción para consumo humano ha sido prohibido en la Unión Europea, Brasil y numerosos países, debido a sus efectos adversos en la salud humana, en particular la anemia aplásica irreversible (Vass et al., 2008). No obstante, la presencia de este compuesto ha sido reportada en productos de origen animal, incluidos camarón y pescado procedentes de sistemas de acuicultura intensiva (Turnipseed & Andersen, 2008).

La acuicultura representa uno de los sectores productivos de mayor crecimiento a nivel mundial, con la producción de camarón y pescado encabezando los volúmenes globales. La aplicación indiscriminada de antibióticos en sistemas acuicultivos, incluyendo compuestos prohibidos como el cloranfenicol, genera riesgo de residuos en el producto final, lo que constituye un problema de inocuidad alimentaria y comercio internacional (FAO, 2020).

Para garantizar la inocuidad de los productos pesqueros y de acuicultura, es imprescindible contar con métodos analíticos validados que permitan detectar y cuantificar residuos de cloranfenicol a niveles iguales o inferiores al Límite Mínimo de Desempeño Requerido (LMDR) de 0,3 µg/kg establecido por instrumentos normativos internacionales como la Decisión 2002/657/CE de la Comisión Europea.

La cromatografía líquida de ultra eficiencia acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS) es actualmente la técnica analítica de referencia para la determinación de residuos de fármacos en alimentos de origen animal, brindando alta selectividad, sensibilidad y velocidad de análisis (Schneider et al., 2015). El uso de estándares internos isotópicamente marcados, como Cloranfenicol-D5, optimiza la exactitud del método al compensar variaciones en la extracción y el efecto de la matriz.

El objetivo del presente trabajo es describir y validar un método de análisis de cloranfenicol en camarón y pescado por LC-MS/MS, con el fin de demostrar su aptitud para la inspección y el control oficial de residuos en productos de acuicultura.

2. Materiales Y Métodos

2.1 Patrones y reactivos

Se utilizaron los siguientes estándares analíticos: Cloranfenicol (Dr. Ehrenstorfer; pureza 99,8%; lote G974527) y Cloranfenicol-D5 (Sigma; pureza 99,7%; lote BCBZ2944) como estándar interno. Los solventes (acetato de etilo, hexano, metanol y agua Milli-Q) fueron de grado HPLC. Las muestras empleadas fueron camarón y pescado libres de residuos (blancos analíticos), verificados previamente.

2.2 Preparación de la muestra

Se pesaron 2 g de muestra homogeneizada (camarón o pescado) en tubo Falcon de 15 mL. Las muestras fueron fortificadas con Cloranfenicol a concentraciones de 0,15; 0,30; 0,45; 0,60; 0,75 y 0,90 µg·kg⁻¹, y con Cloranfenicol-D5 a 0,60 µg·kg⁻¹. Se adicionaron 5 mL de acetato de etilo, se mezcló en vórtex por 1 min y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min a 20°C. El sobrenadante fue transferido a un tubo de vidrio y evaporado en baño termóstico a 50°C bajo flujo de aire o nitrógeno. El residuo fue retomado con 0,35 mL de metanol:agua (1:1), y se adicionaron 0,5 mL de hexano. Tras agitación suave y centrifugación (3500 rpm; 5 min; 20°C), se descartó la fase hexano y se inyectaron 10 µL en el sistema cromatográfico.

2.3 Condiciones cromatográficas

El análisis se realizó en sistema UPLC-MS/MS Waters TQD. Se utilizó columna Kinetex C18 (2,1 × 50 mm; 2,6 µm). La fase móvil consistió en agua (A) y metanol (B), en gradiente, con flujo de 0,4 mL/min, temperatura de columna de 45°C y volumen de inyección de 10 µL. El tiempo de corrida total fue de 2,2 min. La detección se realizó en modo MRM (múltiple reacción de monitoreo): Cloranfenicol: m/z 321,1 > 257,1 y 321,1 > 152; Cloranfenicol-D5: m/z 326,1 > 157,1.

Tabla 1. Gradiente cromatográfico.

Tiempo (min)	%A (Agua)	%B (Metanol)
0,0	90	10
0,3	90	10
1,7	10	90
1,90	10	90
1,95	90	10
2,2	90	10

2.4 Parámetros de validación

La validación se realizó conforme los requisitos de la ISO/IEC 17025, la Decisión 2002/657/CE, el DOQ-CGRE-008 (rev. 04). Se evaluaron los siguientes parámetros: especificidad (tiempo de retención e ion-ratio), selectividad (comparación de blancos y blancos fortificados en el menor nivel calibrado), efecto matriz (pruebas F y T), linealidad ($r \geq 0,98$ en 6 niveles), veracidad/recuperación (6 réplicas en 3 niveles: 1,0; 1,5 y $2,0 \times \text{LMDR}$), precisión bajo condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, capacidad de decisión ($\text{CC}\alpha$) y detección ($\text{CC}\beta$) según ISO 11843, estabilidad en el auto inyector (prueba t), y robustez mediante el diseño de Youden con 7 factores.

3. Resultados

3.1 Especificidad y selectividad

El tiempo de retención del cloranfenicol fue de 1,39 min ($\text{CV} = 0,22\%$; criterio: $< 2,5\%$). El ion-ratio entre las transiciones $321,1 > 257,1$ y $321,1 > 152$ presentó un coeficiente de variación de $8,59\%$ (criterio: $< 25\%$). Los blancos de matriz no mostraron señales interferentes superiores al 30% de la señal del analito en el nivel más bajo calibrado ($0,15 \mu\text{g/kg}$), ni superiores al 5% del promedio del estándar interno.

3.2 Efecto matriz

El efecto de matriz fue evaluado mediante pruebas F y T en los 6 niveles de la curva. Se detectó influencia de matriz única y puntual en el nivel de $0,9 \mu\text{g/kg}$ mediante el test F ($F_{\text{calculado}} = 6,59 > F_{\text{tabulado}} = 5,05$); sin embargo, el test T fue negativo en todos los niveles ($T_{\text{calculado}} < 1,812$). El método utiliza curva de calibración en matriz blanca fortificada (CCMBF), lo que compensa el efecto matriz en la cuantificación.

3.3 Linealidad

La curva de calibración mostró comportamiento lineal en el rango de $0,15$ a $0,90 \mu\text{g/kg}$, con coeficiente de correlación $R = 0,9931$ (criterio: $R > 0,98$), pendiente de 2,28 y término independiente de $-0,051$.

Tabla 2. Parámetros de linealidad del método para Cloranfenicol.

Parámetro	Valor obtenido	Criterio
Coeficiente angular	2,28	–
Coeficiente lineal	-0,051	–
Coeficiente de correlación (R)	0,9931	> 0,98
Rango lineal de trabajo	0,15 – 0,90 µg/kg	–

3.4 Veracidad / Recuperación

Las recuperaciones medias fueron del 103,00% (CV = 4,12%) a 0,30 µg/kg; 102,08% (CV = 4,27%) a 0,45 µg/kg; y 103,52% (CV = 3,94%) a 0,60 µg/kg; todas dentro del criterio de aceptación de 50 a 120%.

Tabla 3. Recuperación media de Cloranfenicol en los niveles de fortificación estudiados.

Nivel (µg/kg)	Recuperación media (%)	CV (%)	Criterio (%)
0,30 (1,0×LMDR)	103,00	4,12	50 – 120
0,45 (1,5×LMDR)	102,08	4,27	50 – 120
0,60 (2,0×LMDR)	103,52	3,94	50 – 120

3.5 Precisión

Bajo condiciones de repetibilidad, los CV medios fueron 8,19%; 5,32% y 6,24% para los niveles de 0,30, 0,45 y 0,60 µg/kg, respectivamente (criterio: CV < 23,33%). Bajo condiciones de reproducibilidad (3 analistas, 3 días, 2 matrices), los CV fueron 5,50%; 7,87% y 5,59% para los mismos niveles (criterio: CV < 35,0%).

3.6 Capacidad de decisión (CC α) y detección (CC β)

Se obtuvieron valores de CC α = 0,039 µg/kg y CC β = 0,096 µg/kg, ambos muy por debajo del LMDR de 0,30 µg/kg, confirmando la aptitud del método para confirmar la presencia del analito a concentraciones clínicamente relevantes.

3.7 Estabilidad en el auto inyector

Las muestras permanecieron estables en el auto inyector a 15°C durante al menos 38 h 51 min (t calculado = 1,23 < t tabulado = 2,015).

3.8 Robustez

El diseño de Youden con 7 factores (volumen de extracción, tiempo de centrifugación, temperatura de secado, volumen de resuspensión, volumen de hexano, flujo y volumen de inyección) mostró que ninguno de los factores evaluados afectó significativamente el resultado final, con efectos individuales dentro del intervalo de $\pm 0,040$ (DP $\times\sqrt{2}$). El método demostró ser robusto en las condiciones analizadas.

Tabla 4. Resumen de parámetros de validación del método para Cloranfenicol.

Parámetro	Resultado obtenido	Criterio	Evaluación
Especificidad (TR)	CV = 0,22%	CV < 2,5%	Conforme
Especificidad (ion-ratio)	CV = 8,59%	CV < 25%	Conforme
Selectividad	Sin interferentes > 30%	< 30% señal analito	Conforme
Linealidad	R = 0,9931	R > 0,98	Conforme
Recuperación 0,30 µg/kg	103,00%	50 – 120%	Conforme
Recuperación 0,45 µg/kg	102,08%	50 – 120%	Conforme
Recuperación 0,60 µg/kg	103,52%	50 – 120%	Conforme
Repetibilidad (CV medio)	5,32 – 8,19%	< 23,33%	Conforme
Reproducibilidad (CV)	5,50 – 7,87%	< 35,0%	Conforme
CC α	0,039 µg/kg	< 0,30 µg/kg	Conforme
CC β	0,096 µg/kg	< 0,30 µg/kg	Conforme
Estabilidad auto inyector	t calc = 1,23	< t tab = 2,015	Conforme
Robustez (Youden)	Sin factores críticos	Efectos < DP $\times\sqrt{2}$	Conforme

4. Discusión

Los resultados obtenidos en la validación demuestran que el método LC-MS/MS desarrollado es apto para la determinación de cloranfenicol en camarón y pescado a los niveles de interés regulatorio. La alta especificidad alcanzada mediante la detección en modo MRM con dos transiciones y el uso de estándar interno isotópicamente marcado es consistente con lo reportado en la literatura para métodos de confirmación de residuos de este antibiótico en matrices de origen acuicultivo (Schneider et al., 2015).

La linealidad obtenida (R = 0,9931) en el rango de 0,15 a 0,90 µg/kg es coherente con los requerimientos normativos europeos y del MAPA, demostrando que el método es capaz de cuantificar el analito desde la mitad del LMDR hasta tres veces dicho valor, garantizando así una amplia cobertura analítica para el control de residuos.

Los valores de recuperación (102–104%) y la baja variabilidad (CV < 5%) obtenidos en los tres niveles de fortificación son superiores a los frecuentemente reportados para matrices complejas de origen animal, lo que refleja la eficiencia del proceso de extracción con acetato de etilo y la eficacia de la partición con hexano para eliminar interferentes lipófilos. La veracidad del método se ve reforzada por el factor de corrección próximo a 1,0 en los tres niveles (0,966–0,980).

La precisión bajo condiciones de reproducibilidad inter-día e inter-analista (CV < 8%) es relevante para la implementación en laboratorios de control oficial, donde la variabilidad operativa es inevitable. Los valores obtenidos son inferiores a los límites establecidos por la Decisión 2002/657/CE, incluso a la concentración de 0,45 µg/kg, que representó el nivel con mayor variabilidad.

Los valores de CC α (0,039 µg/kg) y CC β (0,096 µg/kg) muestran que el método puede tomar decisiones de conformidad con alta confianza estadística bien por debajo del LMDR de 0,30 µg/kg, lo cual es fundamental para la protección del consumidor y el cumplimiento de los requisitos del PNCRC/MAPA y los protocolos internacionales de control de residuos en productos acuicultivos. La evaluación de robustez confirmó que variaciones menores en los parámetros operativos no comprometen el desempeño del método, lo que facilita su transferencia entre analistas e instrumentos.

5. Conclusiones

El método de determinación de cloranfenicol en camarón y pescado por LC-MS/MS fue validado satisfactoriamente en todos los parámetros evaluados, cumpliendo con los criterios de aceptación establecidos por la normativa internacional (Decisión 2002/657/CE; ISO/IEC 17025). Las principales fortalezas del método son: alta sensibilidad con $CC\alpha = 0,039 \mu\text{g/kg}$ y $CC\beta = 0,096 \mu\text{g/kg}$, muy por debajo del LMDR; excelente recuperación (102–104%) con baja variabilidad ($< 5\%$); precisión adecuada tanto en condiciones de repetibilidad como de reproducibilidad; robustez frente a variaciones operativas menores; y estabilidad de muestras procesadas en el auto inyector por al menos 38 horas. El método se considera apto para su aplicación rutinaria en programas de vigilancia y control oficial de residuos de cloranfenicol en productos de acuicultura, contribuyendo a la inocuidad de la cadena productiva de camarón y pescado.

Agradecimientos

Los autores agradecen al equipo del laboratorio por su colaboración en la ejecución de los ensayos de validación, y a las instituciones que financian los programas de control de residuos en productos de origen animal en Brasil.

Referencias Bibliográficas

- European Commission. (2002). Commission Decision 2002/657/EC of 12th August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Communities, L221, 8–36.
- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2011). Manual de Garantia da Qualidade Analítica: Resíduos e Contaminantes em Alimentos. SDA/LANAGRO, Brasil.
- MAPA. (2019). Instrução Normativa Nº 5, de 23 de abril de 2011. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal – PNCRC. Brasília, DF.
- Schneider, M. J., Lehotay, S. J., & Lightfield, A. R. (2015). Validation of a streamlined multiclass, multiresidue method for determination of veterinary drug residues in bovine muscle by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(12), 4423–4435. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8386-3>
- Turnipseed, S. B., & Andersen, W. C. (2008). Veterinary drug residues. In S. Otles (Ed.), *Methods of Analysis of Food Components and Additives* (2nd ed.). CRC Press.
- Vass, M., Hruska, K., & Franek, M. (2008). Nitrofurant antibiotics: A review on the application, prohibition and residual analysis. *Veterinarni Medicina*, 53(9), 469–500.

Calidad de agua en piscicultura, seguimiento clave.

Casos: Larvicultura de peces en sistemas de biofloc

Luis Felipe Collazos Lasso

Ingeniero en Producción Acuicola, MSc, Dr. Profesor Asociado Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, grupo de investigación IALL, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6034-0037>

E-mail: lcollazos@unillanos.edu.co

Los sistemas convencionales en piscicultura, como los estanques en tierra presentan condiciones operativas básicas de manejo en cuanto a medición y vigilancia de la calidad del agua. La interacción de los parámetros está mediada por el ingreso de nutrientes al sistema por el suministro de alimento, para el caso del nitrógeno (N) va a depender del nivel de proteína, el cual para especies de aguas calientes está entre el 22 - 45 % PB dependiendo de la etapa de vida, del cual el 15,5 % es N y de este, entre el 70 - 80% es aportado al medio en forma de excreción y alimento no consumido (Avnimelech, 2015). Los aportes de N y de fósforo (P), sumado a la luz, dan condiciones para que organismos fotoautótrofos colonicen el sistema. Los procesos de las microalgas de fotosíntesis y respiración pueden ocasionar fluctuaciones de oxígeno y pH, lo cual puede exacerbarse si el agua o la fuente de la que se abastece el cultivo no tiene reservas alcalinas que mitiguen estas oscilaciones; lo anterior es común en aguas con bajas concentraciones de iones, pH, alcalinidades, durezas y conductividades eléctricas (Vinatea, 2025).

A medida que ingresa más alimento al sistema no solo se puede ampliar las fluctuaciones de oxígeno y pH, también interactúan otras variables, como por ejemplo el posible aumento del amoníaco presente en el nitrógeno total por aumento de pH y temperatura, o la floración de microorganismos no deseados como las cianobacterias por desbalances en las relaciones N/P.

Teniendo en cuenta lo anterior, la interacción de parámetros y el riesgo del sistema únicamente se puede evidenciar si se mide, y se debe entender que la interpretación de parámetros no es lineal. La calidad de agua tiene un impacto directo en la salud de los organismos de cultivo, como ejemplo tenemos que, en el caso de las tilapias, Barato (2024) reporta que el incremento de las temperaturas del agua (hipertermia), asociadas a bajos pH y bajas concentraciones de oxígeno (hipoxia) aumentan el riesgo de mortalidades por estreptococosis (*S. agalactiae*).

A todo lo anterior hay que sumarle un factor relevante del sistema, los lodos que se acumulan en el fondo de los estanques, esta materia orgánica si no es tratada puede llegar a generar condiciones adversas al cultivo. De manera general las concentraciones de oxígeno son muy bajas o nulas en esta zona, en este sentido es un ambiente anaerobio rico en coloides y materia orgánica, los procesos metabólicos de microorganismos se dan por reducción, con la producción de gases tóxicos como el metano, sulfuro de hidrógeno y amoníaco (Vinatea, 2025).

Ante las condiciones, expuestas existen diferentes estrategias que permiten regular las condiciones de calidad de agua, y de esta manera mantener en rangos adecuados los diferentes parámetros para el cultivo. El principal limitante en acuicultura es el oxígeno, y las concentraciones dependen de múltiples factores que involucran parámetros físicos, químicos y biológicos, y que a medida que las densidades de siembra aumentan, se incrementan la necesidad de instalar sistemas de aireación que incorporen y mantenga las concentraciones y saturaciones de oxígeno en el agua, este punto debe considerarse crucial en la intensificación de la piscicultura, pues puede llegar a ser el segundo mayor costo de producción, en este sentido la

estimación y los cálculos que busquen la mayor eficiencia, están enfocados en dos aspectos: el primero, calcular la demanda total de oxígeno DTO, cuanto respiran los peces, la columna de agua y si es el caso los lodos; y el segundo, la eficiencia del equipo de aireación que supla la DTO, medida en la tasa de transferencia de oxígeno y la eficiencia de aireación estándar (Vinatea, 2025; Boyd, 2015)

Diversas estrategias son empleadas en piscicultura, desde el uso de calcáreos para controlar proliferación de microalgas y mantener reservas alcalinas; hasta el uso de microorganismos (biotecnología) que ayuda a equilibrar la carga orgánica del sistema (biorremediación); por otra parte tecnologías como la simbiótica, la fitobiorremediación, incluso el uso de humedales artificiales remueven el exceso de nutrientes en el agua con impactos directos en los lodos ayudando a tener un ambiente sano para el cultivo de peces.

Los principios de calidad de agua en piscicultura son la base de cualquier tipo de sistema de cultivo, llámese convencional con pocos peces por área o volumen hasta los intensivos con altas biomasa por m³ y bajos recambios de agua. En este último caso, las altas biomasa o densidades se logran obtener en ambientes controlados, donde identificar, calcular y regular las diferentes condiciones de cultivo, permiten el éxito en la producción, como algunos ejemplos de modelos tenemos los sistemas de recirculación en acuicultura (RAS), los sistemas de biofloc, la acuicultura multitrofica integrada y la acuaponia, siendo que en esencia los principales limitantes en el cultivo se solventan a partir de subsidios tecnológicos, químicos, físicos y biológicos, cada componente calculado para una mayor eficiencia y productividad.

En piscicultura de precisión, el piscicultor pasa de ser un observador pasivo a un gestor activo. Bajo modelos de cultivo que aplican tecnologías como los sistemas de recirculación o de biofloc, cuyo objetivo es incrementar las densidades con bajos recambios de agua, la incertidumbre de no medir representa un costo financiero inaceptable, normalmente reflejado en mortalidades por anoxia o intoxicación por amoníaco o nitrito, lo cual disminuyen la rentabilidad. Bajo la premisa, de medir para ver e interpretar para actuar, la gestión basada o sustentada en evidencia transforma la responsabilidad operativa en una garantía de productividad. Al sustituir la intuición, por la certeza de la evidencia, el productor asegura que cada intervención técnica responde a un diagnóstico de la situación real del medio acuático y del sistema en sí, siendo esta la única vía que permite un ambiente sano de cultivo ante la complejidad física, química, biológica y tecnológica que gobierna el medio acuático.

A continuación, y como modelo de cultivo donde la medición e interpretación de parámetros de calidad de agua permite un cultivo adecuado en piscicultura, se presentan resultados en el cultivo de peces nativos en etapas tempranas con sistemas de biofloc.

Los sistemas de biofloc, se definen como un conglomerado de microorganismos: bacterio-plancton, fito y zooplancton, nematodos, ciliados, materia orgánica etc..., que en un ambiente rico en oxígeno logran aprovechar los nutrientes presentes en el agua (en especial el N y el P) productos de la excreción de los alimentos balanceados suministrados a las especies de cultivo, en un verdadero concepto de reciclaje de nutrientes.

Crab et al., (2007), en su documento técnicas para remoción de nitrógeno en acuicultura para una producción sustentable, resalta dos vías o rutas microbianas que logran disminuir las concentraciones de N, una de ellas la vía heterótrofa que logra remover el N en presencia carbono (C) orgánico a una alta relación C/N en un ambiente aerobio, la segunda vía es la nitrificación, por bacterias quimioautorofas, donde el N es oxidado a otras formas o especies de nitrógeno, como el nitrito (NO₂-) y posterior al nitrato (NO₃-), estos procesos requieren oxígeno y fuentes de carbono inorgánico bicarbonatos (HCO₃) medidas como alcalinidad, en este sentido Ebeling et al., (2006) presenta por estequiometría que las bacterias heterótrofas para remover 1 g de amonio, consume 3,57 g alcalinidad, 4,71 g O₂ y 15,17 g carbohidratos y producen 9,65 g CO₂ y 8,07 g VSS; por otra parte las vías de nitrificación para remover 1 g de amonio consumen 7,05 g alcalinidad y 4,18 g O₂ y producen 5,85 g CO₂, 0,976 g NO₃- y 0,20

g VSS. En estos sistemas a diferencia de los RAS no se promueve la exclusividad de ciertas comunidades bacterianas, contrario a esto y como lo plantea Avnimelech (2015) se da una interacción en las diferentes comunidades bacterianas, generando cierta dominancia a partir del ajuste en la relación C/N.

Previo al cultivo, el agua del sistema se tiene que estabilizar, durante este periodo se estimulan los procesos de nitrificación a partir de la adición de una fuente de nitrógeno y de carbono, mantener una alta saturación de oxígeno y si es necesario regular la alcalinidad a partir de la adición de calcáreos, los protocolos de estabilización tendientes a la larvicultura de peces con desarrollo indirecto o altriciales tienen un componente adicional que es fundamental y es estimular la producción de zooplancton, en este sentido un sistema de biofloc cuyo objetivo es la larvicultura de peces nativos debe cumplir dos premisas igual de importantes: mantener la calidad de agua en rangos de confort y generar alimento vivo; Collazos-Lasso et al., (2022) y Suarez-Contento et al., (2026) establecen las metodologías que definen los protocolos, la secuencia de remoción de N, las relaciones C/N tendientes a la producción y caracterización del zooplancton en sistemas de biofloc a diferentes relaciones C/N.

Una vez el sistema este estabilizado (NH3, NO2- y NO3- en rangos de confort para los peces) se puede realizar la siembra de las larvas, previa aclimatación, esta actividad no solo está relacionada con la temperatura y pH, también se deben tener en cuenta otros parámetros como lo es la alcalinidad, dureza y los sólidos; por ejemplo, el periodo de aclimatación de *Piaractus orinoquensis* es de 30 minutos (Collazos et al., 2021).

Es claro que las condiciones del floc van a estar estrechamente relacionadas con las relaciones C/N, las fuentes de carbono orgánico, los alcalinizantes etc..., y que dichas condiciones deben responder a las características de la especie de interés en el cultivo, en este sentido a continuación se presenta información de la respuesta y condiciones de calidad de agua en el cultivo de larvas de peces de aguas cálidas de interés en la piscicultura de Suramérica en sistemas de biofloc.

Tabla 1. Respuestas productivas de diferentes especies icticas de agua dulce, cultivadas en sus primeras etapas (larvas) en sistemas de biofloc

Tabla 1. Respuestas productivas de diferentes especies icticas de agua dulce, cultivadas en sus primeras etapas (larvas) en sistemas de biofloc

Especie	Densidad Larvas/L	Relación C/N	Fuente de carbono	% de proteína del biofloc	Días de cultivo	Amonio / NO ₂ ⁻ (mg/L)	Sobrevivencia (%)	Referencia
<i>Piaractus orinoquensis</i>	10	15	Melaza	42.1 ± 0.3	24	2.1 ± 0.8 / 1.1 ± 0.84	83.0 ± 6.4	Collazos et al., (2021)
<i>Piaractus orinoquensis</i>	30	15	Melaza	//	24	0,72 ± 0,7 / 0,61 ± 0,5	49,5 ± 7	Collazos et al., (2021b)
<i>Brycon amazonicus</i>	10	15	Melaza	//	10	0.79 ± 0.47 / 4.28 ± 4.55*	70,87 ± 1,4	Suarez et al., (2024)
<i>Brycon amazonicus</i>	10				10		59,9	Izel-Silva et al., (2024)
<i>Oreochromis sp</i>	5	9	Melaza		30	0,08 / 0,6	89,73 ± 3,9	Experiencias **
<i>Prochilodus magdalenae</i>	20	20	Melaza	38,59±0,66	20	1,16±1,19 / 0,10±0,26	71,63 ± 15,09	Triana et al (2021)
<i>Arapaima gigas</i>	2	15	Melaza	//	15	0.003 ±0,01 / 0,44 ±0.14	28,33 ± 10	Giraldo, (2023)
<i>Pterophyllum scalare</i>	25	10	Melaza	38.59±0.35	40	0.42±0.49 / 0.37±0.31 ***	59.05±3.30	Ueno-Fukura et al., (2020)
<i>Metynnis orinocensis</i>	10		Melaza		40	0.28±0.15 / 0.18±0.13	34.14±12.66	Ueno-Fukura et al., (2023)
<i>Pseudoplatystoma orinoquensis</i>	1	15	Melaza	//	18	< 1,5 / < 1	24	Experiencias****

* Salinidad del agua 2 g/L
** Alimento comercial del 48 % de proteína con inclusión de hormona “17 alpha Metil Testosterona” El porcentaje de reversión fue del 99%; pruebas realizadas con la empresa Compañía Piscícola Botero (Colombia)
*** N-NO2 (mg L-1) ^ N-NO3 (mg L-1)
**** Pruebas realizadas con la empresa LarviTech (Colombia)

Cultivar peces de manera intensiva en sistemas con bajo recambio de agua, requiere de conocimiento de la calidad de agua, y de los requerimientos de las especies en las diferentes etapas de cultivo, en este sentido es claro que las repuestas productivas presentadas en la tabla 1, evidencia como la información de un sistema de cultivo como el biofloc, es ajustada y aplicada al cultivo de larvas de peces resaltando las de desarrollo indirecto.

Bajo este contexto y como ya se mencionó: la premisa de medir para ver e interpretar para actuar, transforma al productor de un observador pasivo a un gestor activo que identifica problemas mediante la medición, comprende sus causas mediante la interpretación y garantiza la productividad mediante la acción informada, resaltando que el verdadero valor del conocimiento no es solo entenderlo, es aplicarlo.

Los resultados de la estabilización del biofloc tendientes a la producción y caracterización de zooplancton fueron financiados con recursos de la Dirección General de Investigaciones de la Universidad de los Llanos. Proyecto: C09-F01-003-2019.

Bibliografía.

Avnimelech Y. (2015). Biofloc technology - A practical guide book, 3rd ed. The World Aquaculture Society.

Barato P. (2024). Estreptococosis emergente en tilapia. Situación actual y manejo en Colombia y en el ámbito mundial. XXIX Jornada de Acuicultura IALL. Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos IALL. Universidad de los Llanos. ISBN 2389-959X.

Boyd, CE. (2015). Water Quality: An Introduction (2nd ed.). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-17446-4>

Collazos Lasso LF, Ueno Fukura M, Arias Castellanos JA. & Vinatea Arana LA. (2021b). Desempeño de larvas y juveniles de *Piaractus orinoquensis* cultivados a diferentes densidades en sistemas con tecnología biofloc TBF. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 19 (2), 201–213. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1864>

Collazos-Lasso LF, Castellanos JA, Fukura MU, Carrasco SCP, & Vinatea Arana LAV. (2021). Larvae and fry culture of white cachama (*Piaractus orinoquensis*) in biofloc systems at different carbon/nitrogen (C/N) ratios. Aquaculture Research, 00, 1–11. <https://doi.org/10.1111/are.15615>

Collazos-Lasso LF, Ueno-Fukura M, Arias-Castellanos JA. (2021). Survival of *Piaractus orinoquensis* larvae (Characiformes: Serrasalminidae) during acclimation to a culture system with bioflocs. AACL Bioflux 14(4):2327- 2334.

Collazos–Lasso LF, Ueno–Fukura M, Jiménez–Moreno (Q.E.P.D.) Y, Suárez–Contento L & Aya–Baquero E. (2022). Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 69(3). <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99968>

Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, Bossier P & Verstraete W. (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture, 270, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.006>

Ebeling JM, Timmons MB & Bisogni J J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. Aquaculture, 257, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>

Giraldo O.A. (2023). densidades de siembra en larvicultura y alevinaje de *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829), en sistemas con tecnología biofloc. Tesis de Maestría en Acuicultura. Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos. Universidad de los Llanos.

Izel-Silva J, Brito Dos Santos R, Adelino de Medeiros P, Medeiros Suita S, Wasielesky W, Midori Sena Fugimura M, Gusmão Affonso E. 2023. *Brycon amazonicus* larviculture cannibalism is reduced in biofloc systems, *Aquaculture*, Volume 579, 2024, 740180, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740180>

Suarez-Contento LY, Ueno-Fukura M, Burbano-Horta AM, Álvarez-Perdomo N, Barreto-Montenegro J, Collazos-Lasso LF. (2025). Utilización de diferentes estrategias de primera alimentación en la larvicultura de *Brycon amazonicus* en sistemas con tecnología biofloc. Jornada XXX de Acuicultura –IALL- Universidad de los Llanos. pp 55 – 57. ISBN. 2389-959X.

Suarez-Contento L. Y., Collazos-Lasso L. F., Aya-Baquero E., Ueno-Fukura M., 2026 Characterization of zooplankton consumed by *Piaractus orinoquensis* larvae, in a system with biofloc technology at different carbon/nitrogen ratios. *AACL Bioflux* 19(2):790-799.

Triana Cruz DV. (2021). Cultivo de larvas y juveniles de bocachico *Prochilodus magdalenae*, en sistemas con tecnología biofloc. Tesis de Maestría en Sistemas Sostenibles de Producción. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de la Amazonia. Florencia – Caquetá, Colombia.

Ueno-Fukura M, Aya-Baquero E, Collazos-Lasso LF. (2020). Biofloc application in larviculture of *Pterophyllum scalare* at different stocking densities. *AACL Bioflux* 13(5):3028-3036.

Ueno-Fukura M, Suarez-Contento LY, Aya-Baquero E, Collazos-Lasso LF. (2023). Embryonic development and performance of *Metynnis orinocensis* larvae reared in systems with biofloc technology. *AACL Bioflux* 16(4):2088-2096

Vinatea ALA. (2025). Fundamentos y manejo de la calidad del agua en Acuicultura. Ver en español del libro *Qualidade da água em aquicultura, princípios e práticas*. 2010. Florianópolis. Editora de la Universidad Federal de Santa Catarina. Brasil.

Predicción genómica de la resistencia a *Piscirickettsia salmonis* en trucha arcoíris: integración de GWAS e imputación genómica

Charles Sánchez Rancancio

Introducción

La producción de salmónidos, particularmente de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), representa un pilar económico, aunque su sostenibilidad se ve amenazada por brotes de enfermedades infecciosas. Como destaca Rozas-Serri (2022), la piscirickettsiosis, causada por la bacteria *Piscirickettsia salmonis*, es el patógeno bacteriano más relevante en la industria en Chile. Ante la limitada eficacia de las vacunas y el riesgo de resistencia por el uso de antibióticos como el florfenicol, Yáñez y Martínez (2010) señalan que la selección genética es una estrategia alternativa sostenible y efectiva. El objetivo de este estudio fue evaluar la precisión de la predicción genómica (GP) para la resistencia a este patógeno mediante el uso de genotipos imputados a secuencia completa (WGS) y variantes priorizadas por estudios de asociación del genoma completo (GWAS).

Materiales y Métodos

Población y Desafío: Se utilizaron 2,130 juveniles pertenecientes a 102 familias de los cuales fueron inoculados intraperitonealmente con la cepa LF-89 de *P. salmonis*. Se registraron dos rasgos de resistencia: día de muerte (TD) y sobrevivencia binaria (BS) durante un periodo de 32 días. **Genotipado e Imputación:** Los peces fueron genotipados con el panel Affymetrix Axiom 57K SNPs. Siguiendo la metodología de Sargolzaei et al. (2014), se realizó la imputación a WGS utilizando a los 102 padres (secuenciados mediante tecnología DNBseq) como panel de referencia. Tras un riguroso control de calidad, se obtuvieron 488,979 variantes imputadas con una precisión. **Análisis Estadístico:** El GWAS se ejecutó con el software GCTA, empleando un modelo lineal mixto (MLM) para corregir la estructura poblacional, según lo descrito por Yang et al. (2011). Se compararon siete escenarios de predicción utilizando el método GBLUP (VanRaden, 2008) frente al modelo tradicional de pedigrí (PBLUP), evaluando el impacto de la priorización de variantes y la poda por desequilibrio de ligamiento (LD).

Resultados

Heredabilidad: Las estimaciones de heredabilidad fueron moderadas y consistentemente más altas en los modelos genómicos, oscilando entre 0.41 y 0.57 para TD, y entre 0.36 y 0.51 para BS. **GWAS y Genes Candidatos:** Se identificaron QTLs significativos en los cromosomas Omy02, Omy03, Omy25, Omy26 y Omy27 para TD, y en Omy26 para BS. El análisis con MAGMA (De Leeuw et al., 2015) permitió identificar 24 genes candidatos vinculados a la organización del citoesqueleto y la respuesta inmune, destacando genes como *SMTNL2* y *PITPNA* en el cromosoma Omy27. **Precisión de Predicción:** La validación cruzada demostró que todos los escenarios genómicos superaron al PBLUP. El escenario 57K_prio_LD (SNPs priorizados por GWAS y podados por LD) fue el más eficiente, logrando incrementos de precisión de un 52.5% para TD y un 45% para BS en comparación con el modelo de pedigrí.

Discusión y Conclusiones

La arquitectura genética de la resistencia a *P. salmonis* en trucha arcoíris es de naturaleza poligénica, lo que coincide con los hallazgos de Barría et al. (2019) para esta especie. La alta relevancia del cromosoma Omy27 como región de control genético de la resistencia ha sido validada en este estudio, confirmando la presencia de variantes funcionales conservadas.

Como indican Van Den Berg et al. (2016), el uso de datos WGS masivos sin un filtrado estratégico puede introducir ruido estadístico. En este sentido, nuestros resultados demuestran que la priorización de variantes basada en GWAS es la estrategia más robusta para maximizar la precisión de la selección. En conclusión, la integración de imputación genómica y priorización de variantes ofrece una herramienta poderosa para acelerar el progreso genético y mejorar la salud de las poblaciones en la industria acuícola.

Referencias:

Barría, A., Marín-Nahuelpi, R., Cáceres, P., López, M. E., Bassini, L. N., Lhorente, J. P., & Yáñez, J. M. (2019). Single-step genome-wide association study for resistance to *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(11), 3833–3841.

De Leeuw, C. A., Mooij, J. M., Heskes, T., & Posthuma, D. (2015). MAGMA: Generalized Gene-Set Analysis of GWAS Data. *PLoS Computational Biology*, 11(4), e1004219.

Rozas-Serri, M. (2022). Why Does *Piscirickettsia salmonis* Break the Immunological Paradigm in Farmed Salmon? Biological Context to Understand the Relative Control of *Piscirickettsiosis*. *Frontiers in Immunology*, 13, 856896.

Sargolzaei, M., Chesnais, J. P., & Schenkel, F. S. (2014). A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. *BMC Genomics*, 15(1), 478.

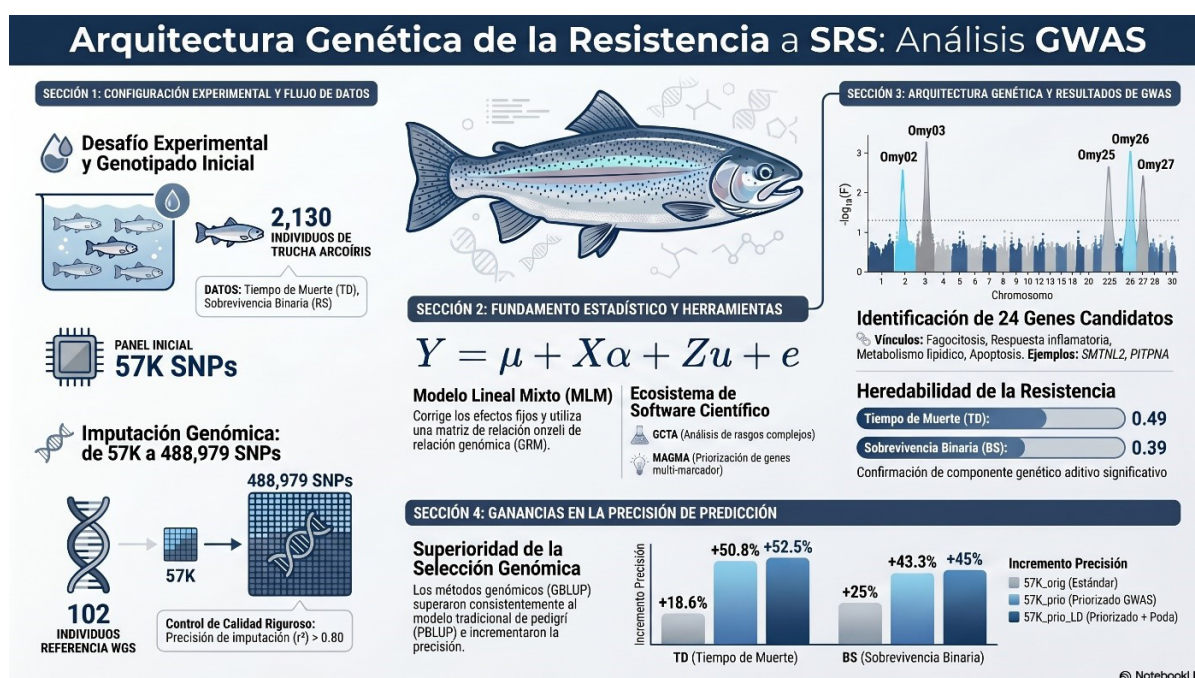
Van den Berg, I., Boichard, D., Guldbrandtsen, B., & Lund, M. S. (2016). Using sequence variants in linkage disequilibrium with causative mutations to improve across-breed prediction in dairy cattle: A simulation study. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(8), 2553–2561.

VanRaden, P. M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4414–4423.

Yáñez, J. M., & Martínez, V. (2010). Factores genéticos que inciden en la resistencia a enfermedades infecciosas en salmónidos y su aplicación en programas de mejoramiento. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 42(2), 1–13.

Yang, J., Lee, S. H., Goddard, M. E., & Visscher, P. M. (2011). GCTA: A tool for genome-wide complex trait analysis. *American Journal of Human Genetics*, 88(1), 76–82.

Resumen gráfico:



Prevención y Curación de Enfermedades en el Cultivo de Tilapia

Ing. Andrés Su

Resumen

La sanidad en el cultivo de tilapia depende de la interacción entre el estado fisiológico del pez, los patógenos y las condiciones ambientales. La prevención constituye la estrategia más eficaz para reducir pérdidas productivas y mejorar el bienestar de los peces.

Factores que Influyen en la Aparición de Enfermedades

Las enfermedades se desarrollan por la interacción entre el hospedador, los agentes patógenos y el ambiente. Factores como el tamaño de los peces, heridas por manipulación, calidad nutricional del alimento y disponibilidad de espacio influyen directamente sobre la susceptibilidad a enfermedades.

Manejo de la Calidad del Agua

La calidad del agua es fundamental para la salud de la tilapia. Se recomienda mantener oxígeno disuelto entre 6 y 10 ppm, temperatura entre 28 y 32 °C, amonio inferior a 0,1 ppm y controlar nitritos, nitratos y materia orgánica mediante recambios periódicos de agua y limpieza de los sistemas de cultivo.

Oxigenación del Sistema

La aireación puede realizarse mediante aireadores y bombas de agua, así como por medios naturales como el movimiento del agua y la presencia controlada de fitoplancton. La tilapia tolera concentraciones de oxígeno entre 0,3 y 20 ppm, aunque los mejores resultados productivos se obtienen entre 6 y 10 ppm.

Control de la Materia Orgánica

La acumulación de residuos favorece el desarrollo de microorganismos patógenos. Se recomienda realizar recambios de agua semanales, sifoneo de sedimentos y el uso de diseños de estanques que faciliten la eliminación de desechos.

Manejo de la Temperatura

La tilapia presenta un rango de tolerancia de 14 a 36 °C. La reproducción se suspende alrededor de 20 °C y la alimentación se reduce significativamente por debajo de 17 °C. La conservación del volumen de agua, el calentamiento solar y el desarrollo moderado del color del agua pueden contribuir al mantenimiento de temperaturas adecuadas.

Desinfección de Instalaciones

La desinfección preventiva puede realizarse mediante cal viva en estanques de tierra o mediante productos como cloro, dióxido de cloro, ácido acético y compuestos de amonio cuaternario en sistemas de concreto o geomembrana, respetando las dosis y tiempos de exposición recomendados.

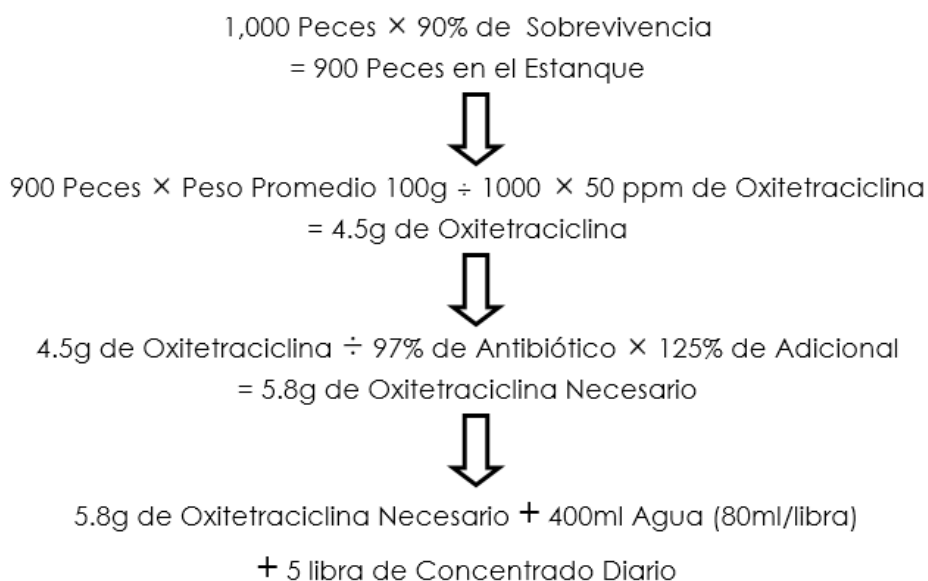
Principales Organismos Perjudiciales

Entre los problemas sanitarios más frecuentes se encuentran depredadores, parásitos, protozoarios, hongos, bacterias y virus. Destacan *Argulus* sp. (argulosis) y *Lernaea* sp. (gusano ancla), cuyos tratamientos suelen incluir compuestos como triclorfón o metrifonato bajo supervisión técnica especializada.

Uso de Alimentos Medicados

Cuando es necesario utilizar antibióticos, la dosis debe calcularse en función de la biomasa presente en el sistema. La preparación adecuada del alimento medicado permite una distribución uniforme del principio activo y mejora la eficacia del tratamiento.

Preparación de Alimento con Antibiótico



Conclusiones

La prevención de enfermedades en tilapia requiere un enfoque integral basado en la calidad del agua, la bioseguridad, la nutrición adecuada y el monitoreo constante de los peces. Un manejo preventivo eficiente reduce la necesidad de tratamientos y mejora la productividad de los sistemas acuícolas.

Producción de camarón de agua dulce en Paraguay: Evolución, resultados y desafíos de una alternativa acuícola emergente

Romero Rolón, et. al.

Resumen

Desde el año 2023, el Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, en conjunto con la Misión Técnica de la República de China (Taiwán), desarrolla en Paraguay tecnologías para la producción de camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*), con el objetivo de diversificar la acuicultura nacional. La investigación abarcó las etapas de producción larval, precría, cría y engorde, mediante el uso de agua salada artificial y sistemas de recirculación adaptados a las condiciones locales. Las zoeas fueron cultivadas en tanques de 500 L, con alimentación basada en *Artemia* salina y monitoreo permanente de parámetros fisicoquímicos, especialmente salinidad y nitrito. Posteriormente, las postlarvas fueron adaptadas gradualmente a agua dulce y alimentadas con balanceado con 40 % de proteína bruta. Los resultados preliminares registraron una sobrevivencia del 33 % durante la etapa larval y del 83,86 % en las fases de precría y cría, obteniéndose aproximadamente 50 postlarvas/L al finalizar el ciclo. Asimismo, en la etapa de engorde se evaluó el desempeño de balanceados comercial y artesanal, observándose resultados similares en cuanto a consumo y crecimiento. La alimentación suministrada al 3 % de la biomasa permitió alcanzar incrementos progresivos de peso durante el periodo experimental. Los resultados demuestran la viabilidad técnica de producir camarón de agua dulce en Paraguay mediante tecnologías adaptadas, pese a tratarse de un país sin acceso natural al mar. Además, la reutilización de agua salada artificial y la implementación de sistemas de biofiltración representan alternativas sostenibles y económicamente viables para el desarrollo de esta actividad acuícola emergente.

Palabras clave: acuicultura, *Macrobrachium rosenbergii*, agua salada artificial, recirculación, camarón de agua dulce.

Introducción

El cultivo de camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*) constituye una actividad acuícola de creciente importancia a nivel mundial debido a su elevado valor comercial, rápida adaptación a distintos sistemas productivos y alta demanda en el mercado internacional. Sin embargo, en Paraguay existen limitaciones significativas para el desarrollo de esta especie, principalmente relacionadas con la ausencia de acceso al agua salada natural, la escasa disponibilidad de alimentos balanceados específicos y la necesidad de adaptar tecnologías de cultivo a las condiciones ambientales locales. Con el propósito de diversificar la producción acuícola nacional, el Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción inició, en el año 2023, investigaciones orientadas al desarrollo de protocolos de producción de camarón de agua dulce mediante el uso de agua salada artificial, sistemas cerrados de recirculación y formulaciones artesanales de balanceado con potencial de producción a mayor escala.

La fase larval de *M. rosenbergii* representa uno de los principales desafíos técnicos del cultivo, debido a que requiere condiciones estrictas de salinidad, calidad de agua y suministro continuo de alimento vivo. El éxito en esta etapa determina, en gran medida, la viabilidad técnica y económica del sistema productivo. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue describir cronológicamente las etapas de producción de zoeas, postlarvas, precrías y crías de camarón de agua dulce en Paraguay, así como evaluar preliminarmente los parámetros

de sobrevivencia y el desempeño de balanceados comercial y artesanal durante la fase de engorde.

Materiales y Métodos

Lugar de estudio: El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Reproducción Artificial y en los estanques experimentales del Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, ubicados en San Lorenzo, Paraguay, durante el periodo 2023–2025.

Selección de reproductores y obtención de zoeas: La producción se inició con la selección de hembras ovadas de *Macrobrachium rosenbergii*. Las hembras fueron trasladadas al laboratorio y mantenidas en agua salada artificial hasta el desove. Aproximadamente 20 días después se produjo la eclosión de los huevos, liberándose un promedio de 3.000 zoeas por hembra.

Producción larval: Las zoeas fueron cultivadas durante 45 días en tanques circulares de 500 L, con una densidad inicial de 150 zoeas/L. Los tanques contaban con sistemas de aireación constante y calentadores, utilizados cuando las condiciones ambientales lo requerían.

Preparación del agua salada artificial: El agua salada artificial se preparó mediante la mezcla de agua dulce con sal marina en un tanque de 1.000 L. El sistema incluyó filtración física y biológica, luz ultravioleta y aplicación de probióticos.

Alimentación: Durante la etapa larval, la alimentación se realizó con *Artemia salina*, suministrada entre tres y cuatro veces al día.

Control de calidad del agua: Los parámetros de salinidad y nitrito fueron monitoreados diariamente. La salinidad se mantuvo entre 12 y 15 ppt. Cuando los niveles de nitrito alcanzaban valores críticos de 0,5 mg/L, se realizaban recambios de 200 L de agua. En concentraciones inferiores, los recambios variaban entre 50 y 100 L.

El agua retirada era filtrada y nuevamente enriquecida con probióticos antes de reincorporarse al sistema, permitiendo reutilizar el agua salada artificial durante varios ciclos consecutivos y reducir los costos de producción.

Adaptación de postlarvas: Al finalizar la etapa larval, las postlarvas fueron adaptadas progresivamente a agua dulce y alimentadas con balanceado en polvo con 40 % de proteína bruta.

Fase de precría, cría y engorde: Las precrías fueron trasladadas a estanques de cemento de 4 × 4 m ubicados en invernadero, equipados con sistemas de recirculación y aireación constante. Los organismos fueron alimentados tres veces al día con balanceado de alto contenido proteico, suministrado al 8 % de la biomasa total.

Posteriormente, los camarones fueron transferidos a estanques externos para continuar las fases de cría y engorde. Los estanques contaban con entrada y salida de agua, aireación permanente y cobertura con carpas para disminuir las variaciones térmicas ambientales. Durante esta etapa, la alimentación se ajustó entre el 3 % y el 5 % de la biomasa total.

En la fase de engorde se evaluó la ganancia de peso utilizando balanceado comercial y balanceado artesanal, simulando condiciones de producción semiintensiva bajo ambientes no controlados, manteniendo monitoreos periódicos de temperatura y calidad del agua.

Resultados y Discusión

Al finalizar el ciclo larval de 45 días se obtuvieron aproximadamente 50 postlarvas/L, estimándose una sobrevivencia del 33 % y una mortalidad del 67 % durante la etapa de zoeas.

Posteriormente, las precrias fueron trasladadas desde el laboratorio al invernadero para continuar su crecimiento en estanques de cemento con sistemas de recirculación y aireación constante. Luego de dos meses de cultivo intensivo, los organismos fueron transferidos a estanques externos para las etapas de cría y engorde, observándose un incremento progresivo del peso corporal.

La sobrevivencia estimada durante las fases de precría y cría fue de 83,86 %, resultado considerado favorable para las primeras experiencias de producción de esta especie en Paraguay.

En el ensayo alimentario, el comportamiento productivo de los camarones alimentados con balanceado comercial y artesanal fue similar en cuanto al consumo y crecimiento. Ambos grupos iniciaron con 150 ejemplares y fueron mantenidos durante 60 días con una densidad de siembra de 21,42 camarones/m³.

El grupo alimentado con balanceado comercial presentó un peso total inicial de 4.200 g. Después de 60 días, se cosecharon 51 ejemplares con un peso total de 1.088 g, registrándose una supervivencia final del 34 %.

Por su parte, el grupo alimentado con balanceado artesanal inició con un peso total de 4.100 g y un peso promedio individual de 27,33 g. Al finalizar el periodo experimental se obtuvieron 49 ejemplares con un peso total de 1.037 g y una supervivencia final del 32,6 %.

Los resultados obtenidos evidencian que la utilización de agua salada artificial reutilizable, junto con el monitoreo constante de la calidad del agua y el uso de sistemas de recirculación, permitió sostener el desarrollo larval y juvenil de *M. rosenbergii* en condiciones controladas.

Asimismo, los resultados del balanceado artesanal fueron favorables, posiblemente debido a la frescura de los ingredientes y a una mayor disponibilidad nutricional.

La producción de *Macrobrachium rosenbergii* en Paraguay representa un avance significativo para la diversificación de la acuicultura nacional. A pesar de las limitaciones derivadas de la condición mediterránea del país, el uso de agua salada artificial y sistemas de recirculación permitió completar exitosamente las diferentes etapas del ciclo productivo.

La sobrevivencia del 33 % durante la etapa larval coincide con dificultades reportadas en otros estudios, relacionadas con la sensibilidad de las zoeas a variaciones en la calidad del agua y al manejo alimenticio. En este sentido, el monitoreo constante de nitritos y salinidad resultó fundamental para reducir mortalidades y mantener condiciones adecuadas para el desarrollo larval.

Por otra parte, la reutilización del agua salada artificial mediante filtración y aplicación de probióticos representa una estrategia innovadora y económicamente viable para países sin acceso directo al mar.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, se observó que las temperaturas registradas durante el ensayo estuvieron por debajo del rango óptimo recomendado (28–30 °C), lo cual pudo afectar negativamente el crecimiento de los camarones. Del mismo modo, los valores de pH y nitrito indicaron condiciones de estrés fisiológico y limitaciones en la capacidad de carga del sistema. (ver cuadro 1)

De acuerdo con Siddiqui et al. (1997), el incremento de la densidad poblacional afecta directamente el crecimiento y la supervivencia de los organismos cultivados. Asimismo, Boyd y Tucker (1998), Cheng y Chen (2000) y Salvatierra (2025) señalan que el deterioro de la calidad del agua genera estrés oxidativo y disminuye la eficiencia de conversión alimenticia.

Comparando los resultados con los reportados por Salvatierra (2025), quienes evaluaron el desempeño biológico y productivo de *M. rosenbergii* en cultivos monosexo y mixto durante la fase de engorde, las diferencias observadas en biomasa final podrían atribuirse a factores ambientales, densidad de siembra, calidad fisicoquímica del agua, territorialidad y características biológicas de la especie.

En conjunto, estos resultados preliminares indican que el cultivo de camarón de agua dulce podría consolidarse como una alternativa productiva con potencial económico para Paraguay, siempre que continúen las investigaciones orientadas a optimizar la nutrición, el manejo sanitario y las densidades de cultivo.

Cuadro 1. Comparación de los parámetros físico-químicos del agua de los estanques según los grupos y el impacto en su crecimiento y engorde

Parámetro	Grupo BC (Impacto)	Grupo BA (Impacto)	Rango Óptimo Ideal
Temperatura	24- 26° Deficiente (Estrés térmico frío)	24-26 Deficiente (Crecimiento lento)	28 - 30°C
pH	6,2 – 6,4 Crítico (Acidosis/ Muda difícil)	6,2 – 6,4 Crítico (Baja mineralización)	7.5 - 8.5
Nitrito	0,25 – 0,5 mg/L Riesgo alto al día 60	0,25 – 0,5 mg/L Riesgo moderado/bajo	< 0.1 mg/L
Amonio	0,5 – 1,00 mg/L Inestable (Picos de toxicidad)	0,5 mg/L Estable (Controlado)	< 0.1 mg/L

Conclusión

La implementación de tecnologías adaptadas permitió obtener resultados satisfactorios en la producción experimental de camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*) en Paraguay. El uso de agua salada artificial, sistemas de recirculación y monitoreo constante de parámetros fisicoquímicos posibilitó completar exitosamente las etapas larvales y juveniles del cultivo.

Los porcentajes de sobrevivencia obtenidos evidencian un panorama prometedor para el desarrollo de esta actividad acuícola en el país, constituyendo una alternativa potencial para diversificar la producción y fortalecer la economía acuícola nacional.

No obstante, los resultados también demuestran la necesidad de continuar optimizando aspectos relacionados con la calidad del agua, la densidad de cultivo y la nutrición, con el fin de mejorar los índices de crecimiento y supervivencia durante la fase de engorde.

Bibliografía

- Boyd, C. E., & Tucker, C. S. (1998). Pond aquaculture water quality management. Springer.
- Cheng, W., & Chen, J. C. (2000). Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(4), 387–391.
- Díaz-Monge, F., Díaz, M., & Rodríguez, R. (2001). Producción larval de camarón de río nativo, *Macrobrachium americanum* en laboratorio. Centro de Estudios del Mar y Acuicultura.
- Miglio, M. (2023). Evaluación de la sobrevivencia y calidad larval de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) en un sistema de recirculación cerrado.
- New, M. B. (2002). Farming freshwater prawns: A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper No. 428. Food and Agriculture Organization.
- Salvatierra, J. (2025). Comparación del desempeño biológico y productivo de *Macrobrachium rosenbergii* en cultivos monosexo y mixto durante la fase de engorde.
- Siddiqui, A. Q., Al-Harbi, A. H., & Salman, N. A. (1997). Culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Saudi Arabia. *Aquaculture International*, 5, 555–562.
- Torres Virviescas, M., & Martínez Silva, L. (2001). Cultivo de camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*). INPA.

Evaluación de la Producción de *Cyprinus carpio* y *Australoheros facetus* en Sistemas Acuapónicos con *Nasturtium officinale* y *Mentha* spp. y Comparación con la Producción en Sistemas de Recirculación del Agua.

Evaluation of the Production of *Cyprinus carpio* and *Australoheros facetus* in Aquaponic Systems with *Nasturtium officinale* and *Mentha* spp. and Comparison with Production in Water Recirculation Systems.

Nicolás Martín LÓPEZ FERNÁNDEZ, Emiliano CHACÓN URRUELA y Daniel Rubén CARNEVIA GUERRERO.

Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Unidad académica de Acuicultura, Montevideo, Uruguay. - nicolas.m.lopez.86@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento de *Cyprinus carpio* (carpa común) y *Australoheros facetus* (castañeta) en sistemas acuapónicos con *Nasturtium officinale* (berro) y *Mentha* spp. (menta), comparándolo con un sistema de recirculación con filtro biológico convencional. Se sembraron juveniles de ambas especies en seis tanques de 500 L. En cada grupo, a dos tanques se les implementó un sistema acuapónico (uno con menta y otro con berro) y el tercero funcionó como control con filtro biológico. Se evaluó el crecimiento en longitud y peso, el índice de conversión alimenticia (ICA), la supervivencia y la producción de biomasa vegetal. Los resultados mostraron que *C. carpio* presentó mayor crecimiento y mejor ICA en acuaponia que en el sistema control, siendo superior el tratamiento con menta. En el caso de *A. facetus*, no se evidenciaron diferencias significativas entre los sistemas en el corto plazo evaluado (93 días). La supervivencia fue adecuada en todos los casos y se obtuvo una producción vegetal satisfactoria sin fertilización adicional. Se concluye que la acuaponia mejoró el desempeño productivo de las carpas, sugiriendo el potencial de esta tecnología para cultivos conjuntos en Uruguay.

Palabras clave: Acuaponia, *Cyprinus carpio*, *Australoheros facetus*, *Mentha* spp., *Nasturtium officinale*.

Abstract: The objective of this work was to evaluate the growth of *Cyprinus carpio* and *Australoheros facetus* in aquaponic systems with *Nasturtium officinale* and *Mentha* spp., comparing it with a recirculation system with a biological filter. Juveniles of both species were stocked in six 500 L tanks. In each set, two tanks were fitted with an aquaponic system and the third with a biological filter system. Growth, feed conversion ratio, and fish survival were evaluated, as well as plant biomass production. Results showed that *C. carpio* had higher growth and better feed conversion in aquaponics, especially with *Mentha* spp. For *A. facetus*, no differences were found between treatments. Water quality remained stable across systems. In conclusion, aquaponics improved the productive performance of *C. carpio* but did not show the same benefits for *A. facetus* in the short term.

Keywords: Aquaponics, *Cyprinus carpio*, *Australoheros facetus*, *Mentha* spp., *Nasturtium officinale*.

Introducción

La acuaponía se define, según la FAO, como la integración de un sistema de recirculación en acuicultura y la hidroponía en un mismo sistema de producción. Esta tecnología aprovecha los nutrientes derivados de los desechos metabólicos de los peces y del alimento no consumido para sostener el crecimiento de las plantas. (Goddek et al., 2019). Esta tecnología permite el cultivo de vegetales en medios libres de suelo, aprovechando diversos sitios (Somerville et al., 2014). En una unidad acuapónica, el agua circula por un biofiltro donde bacterias nitrificantes transforman el amoníaco tóxico en nitritos y luego en nitratos, los cuales son asimilables por las plantas (Somerville et al., 2014; Shafeena, 2016). Este proceso de nitrificación es fundamental para la salud de los peces y el crecimiento vegetal (Somerville et al., 2014).

Las plantas retiran estas sustancias nitrogenadas del medio acuático, mejorando la calidad del agua (Perdomo et al., s.f.). Entre las ventajas de este sistema se encuentran el ahorro de agua por la recirculación (Yep y Zheng, 2019) y la reducción del impacto ambiental al evitar efluentes con metabolitos que causan eutrofización (Khandaker y Kotzen, 2018; Somerville et al., 2014). En Uruguay, la implementación de peces en sistemas hidropónicos existentes podría optimizar recursos y eliminar la necesidad de fertilizantes sintéticos.

Para este estudio se eligió a *Cyprinus carpio* por ser una especie modelo resistente (Teixeira de Mello et al., 2011a) y a *Australoheros facetus*, un pez autóctono con gran potencial para la producción intensiva (López et al., 2019).

Como componentes vegetales se utilizaron berro (*Nasturtium officinale*), valorado por su contenido nutricional (Klimek-Szczykutowicz et al., 2018), y menta (*Mentha spp.*), planta medicinal y económica de amplia distribución (Anwar et al., 2019).

Objetivo General: Evaluar la producción de los sistemas acuapónicos de *C. carpio* y *A. facetus* con *Mentha spp.* y *N. officinale*.

Materiales y Métodos

Diseño Experimental:

Se acondicionaron 6 tanques de dolmenit de 500 L, llenados con 450 L de agua de OSE (suministro de agua potable local) y equipados con aireación constante mediante piedras porosas. Cada tanque contó con una bomba regulada a 1000 L/Hr que conducía el agua hacia dos cajones de plástico (0,24 m² cada uno) instalados en serie sobre los tanques. Estos cajones contenían canto rodado como sustrato para soporte vegetal y filtración biológica. El sistema se estabilizó durante 7 días antes de la siembra el 14/09/20.

Peces y Alimentación:

Se distribuyeron tres tanques para carpas y tres para castañetas. En cada especie se asignó: un sistema con menta, uno con berro y uno control (solo filtro biológico). Los peces se alimentaron con ración balanceada industrial (36,48% proteína) al 5% de su biomasa, dividida en dos

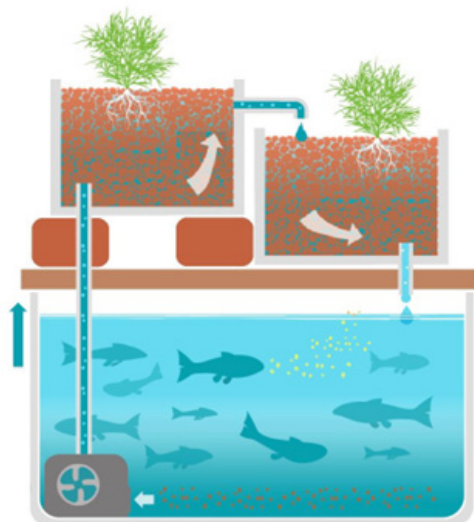


Figura 1. Nuestro sistema acuapónico

tomas diarias. Para reducir el estrés durante los muestreos quincenales, se utilizó Eugenol (40 mg/L) como sedante. Al finalizar, se calculó el índice de conversión alimenticia (ICA = alimento consumido / ganancia de peso).

Vegetales: Se sembraron tallos frescos de menta y berro el 21/09/22 (Día 0). Se realizaron cosechas periódicas registrando el peso fresco total. Para evaluar la fijación de nitrógeno (correlacionada con la materia seca), las muestras se secaron en horno a 60°C durante 72 horas.

Calidad del Agua: Se monitorearon semanalmente la temperatura, amoníaco/amonio y nitritos mediante kits reactivos. En la segunda mitad del ensayo se añadieron nitratos, pH, dureza (GH y KH) y cloro.

Análisis Estadístico: Se utilizaron pruebas de Kruskal-Wallis y ANOVA (Statgraphic Centurion) con un nivel de confianza del 95% para comparar crecimiento, ICA, supervivencia y parámetros hídricos.

Resultados

Desempeño de los Peces

Carpa Común (*C. carpio*): Las carpas mostraron una clara ventaja en los sistemas acuapónicos. El crecimiento promedio en longitud fue mayor en el tanque con menta (4,90 cm) seguido por el de berro (4,13 cm), frente a los 3,31 cm del control. Al eliminar valores atípicos (outliers), las diferencias entre los tres sistemas resultaron estadísticamente significativas ($P=0,0002$). En cuanto al peso, el sistema con menta sobresalió (ganancia de 27,86 g) respecto al de berro (15,98 g) y al control (13,65 g). El ICA fue notablemente mejor en acuaponia (3,13 con menta y 3,62 con berro) que en el filtro biológico (6,09), donde necesitaron casi el doble de alimento para ganar el mismo peso.

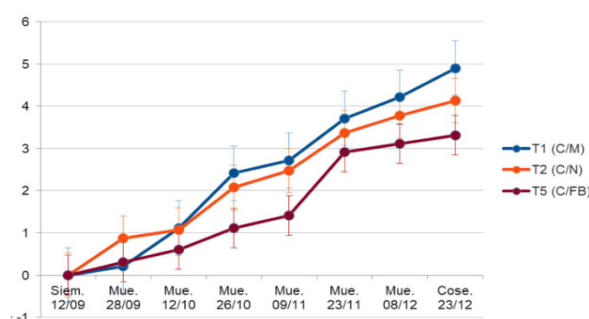


Figura 2. Gráfica de crecimiento promedio de *C. carpio* en longitud (cm).

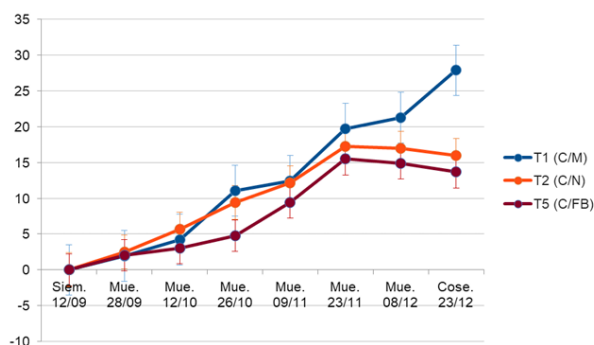


Figura 3. Gráfica de ganancia de peso promedio (g) de *C. Carpio*

Castañeta (*A. facetus*): No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento entre sistemas. La ganancia de longitud osciló apenas entre 1,29 y 1,42 cm. El ICA fue elevado en todos los casos (promedio 7,95), destacando negativamente el tanque con menta (ICA=11,06), lo cual se atribuyó a comportamientos reproductivos y agresividad observados a mitad del ensayo.

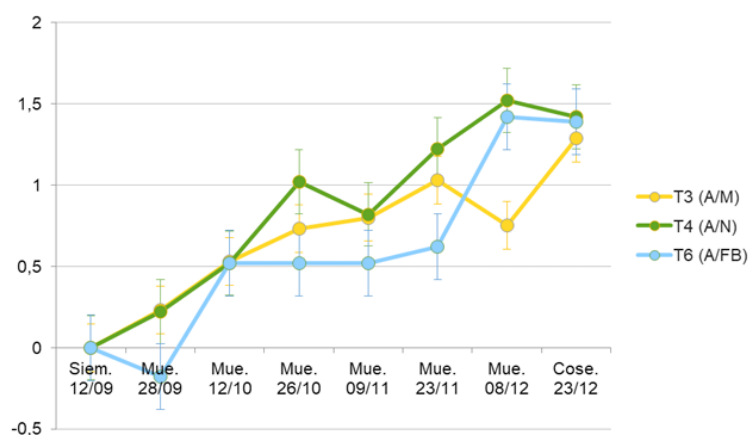


Figura 4. Gráfica de crecimiento promedio de *A. facetus* en longitud (cm).

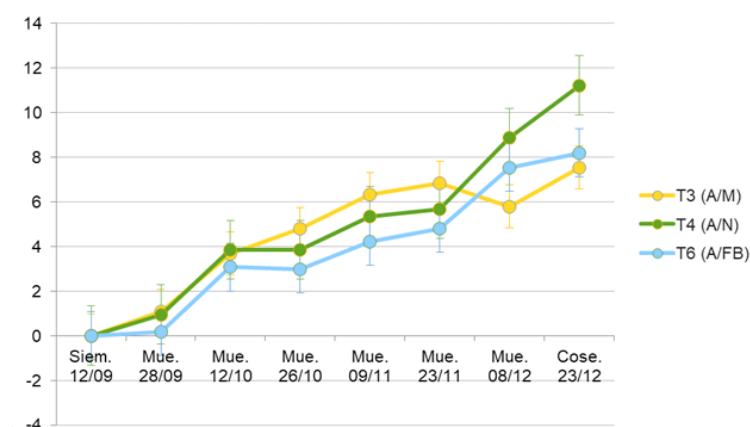


Figura 4. Gráfica de ganancia de peso promedio (g) de *A. facetus*.

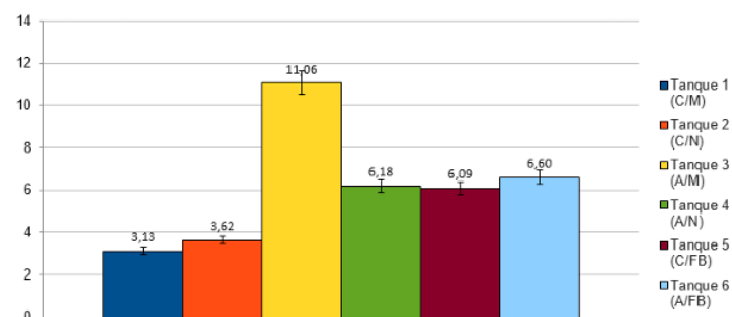


Figura 5. Gráfica del índice de conversión alimenticia por sistema.

Supervivencia: Fue adecuada en todos los tratamientos (superior al 80%). En las castañetas, la supervivencia fue del 100% en dos sistemas y del 90% en el de menta.

Producción Vegetal

La menta produjo 5874 g totales en 93 días, con un rendimiento de materia seca del 15,98%. El berro alcanzó 4734 g totales con un 6,74% de materia seca. La producción de berro se vio limitada por ataques de hormigas cortadoras y aves, que requirieron métodos orgánicos de control y la instalación de mallas protectoras. No obstante, ambas plantas demostraron prosperar usando únicamente el agua de los peces.

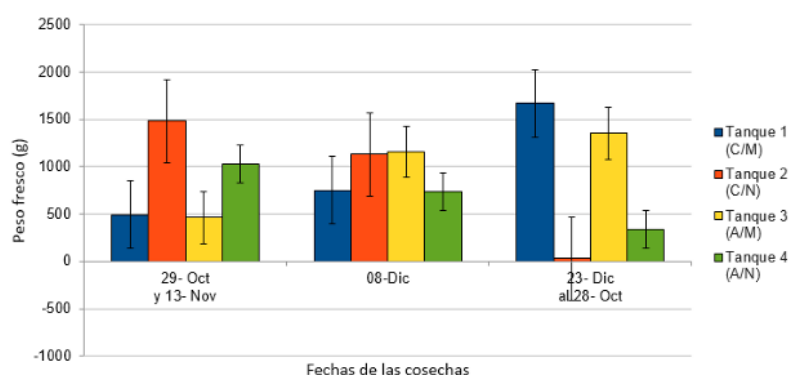


Figura 6. Gráfica de producción de vegetales a lo largo del ensayo.

Calidad del Agua

El amoníaco se mantuvo indetectable en todos los sistemas. Los nitritos presentaron promedios bajos (0,09 a 0,86 mg/l), muy por debajo de los niveles tóxicos. Se observó que las podas vegetales elevaron temporalmente el pH y la temperatura al aumentar la incidencia solar sobre los tanques. La dureza temporal se mantuvo próxima al nivel óptimo para carpas (12-13 °d) en el sistema con menta.

Discusión

El mayor crecimiento de las carpas en acuaponia coincide con lo reportado por Rahimi et al. (2021) y Oladimeji et al. (2020), quienes asocian la presencia de vegetales con un mejor rendimiento productivo y bienestar en peces. El tipo de planta influyó en este estudio; la menta, al producir mayor materia seca, pudo retirar más compuestos nitrogenados, favoreciendo el desarrollo de *C. carpio* (Shete et al., 2016). Aunque estudios como los de Ajijah et al. (2020) vinculan este crecimiento a una mejora drástica de la calidad del agua, en nuestro ensayo no se evidenciaron diferencias químicas extremas entre sistemas que expliquen plenamente esta ventaja.

En comparación con otros autores, Shete et al. (2016) obtuvieron crecimientos mayores en carpas (7,06 cm en 2 meses) bajo temperaturas de 24-26°C, mientras que nuestro promedio fue de 15,4°C, lo que limitó el metabolismo de los peces. Para las carpas con berro, Irhayyim et al. (2020) reportaron una ganancia de peso (26,62 g) ligeramente superior a la nuestra (19,98 g).

Respecto a *A. facetus*, la falta de diferencias significativas podría deberse a su crecimiento lento, sugiriendo que 3 meses son insuficientes para evaluar esta especie nativa penas domesticada. Además, el comportamiento reproductivo observado en el sistema con menta pudo

desviar energía del crecimiento, afectando su ICA (11,06) en comparación con otros cíclidos como la tilapia que presentan valores de 1,71 (Sabah et al., 2020).

Finalmente, la ausencia de diferencias en supervivencia indica que tanto la acuaponia como el filtro biológico mantuvieron condiciones adecuadas, similar a lo observado por Monsees et al. (2019).

Conclusiones

1. Los sistemas acuapónicos incrementaron significativamente el crecimiento y la eficiencia alimentaria de *Cyprinus carpio* en comparación con los sistemas de recirculación tradicionales.
2. *Australoheros facetus* no mostró beneficios productivos de la acuaponia en el corto plazo evaluado, aunque demostró una excelente adaptación y supervivencia (hasta 100%) en sistemas intensivos.
3. La integración con menta resultó superior para el desempeño de las carpas, posiblemente debido a su mayor capacidad de absorción de nutrientes.
4. La producción vegetal de menta y berro fue satisfactoria sin fertilización adicional, validando la sostenibilidad del sistema acuapónico en las condiciones locales.
5. Se recomienda para futuros estudios mayor duración experimental y realizar mejoramiento genético en la castañeta para potenciar su uso comercial.

Agradecimientos

Agradecemos a nuestras familias y parejas, Andrea Fonseca y Annie Arrillaga, por su apoyo incondicional. Al Dr. Daniel Carnevia por su tutoría y guía. A la unidad académica de Acuicultura (Fvet, UdelaR), especialmente a la Dra. Maite Letamendía y los Dres. Perretta y Quartiani. Al Ing. Santiago Monteverde por su apoyo técnico. Destacamos especialmente la memoria de Heber Da Costa, cuya calidez y ayuda diaria fueron fundamentales en el laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Ajjah, N., et al. (2020). Utilization of tofu wastewater as a cultivation medium for *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis*, IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 483 012027
- Anwar, F., et al. (2019). *Mentha*: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals. *Phytotherapy Research*, 33, 2548-2570.
- Candarle, P. (2016). Técnicas de Acuaponia. *Cenadac*, (8), 1-47.
- Flores, L., y Madrid, J. (2013). Comparación de la producción de lechuga en acuaponía con tilapia (Tesis de grado). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Goddek, S., et al. (2019). *Aquaponics food production systems*. Cham: Springer Nature.
- Irhayyim, T., et al. (2020). Nutrient removal efficiency and growth of watercress (*Nasturtium officinale*) in integrated recirculating aquaponic systems for rearing common carp. *Water*, 12, 1419.

- Khandker, M., y Kotzen, B. (2018). The potential for combining living wall and vertical farming systems with aquaponics. *Aquaculture Research*, 49, 1454-1468.
- Klimek-Szczykutowicz, M., et al. (2018). Chemical composition and biotechnological studies of *Nasturtium officinale* (watercress). *Fitoterapia*, 129, 283-292.
- López, N., et al. (2019). Crecimiento durante el alevinaje de *Australoheros facetus* cultivado en tanques. XI Jornadas Técnicas Facultad de Veterinaria, Udelar.
- Meyer, D. (2004). Introducción a la acuicultura. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.
- Monsees, H., et al. (2019). Lettuce production in decoupled aquaponic systems. *PLoS ONE*, 14, 1-23.
- Oladimeji, S. A., et al. (2020). Aquaponics production of catfish and pumpkin: Comparison with conventional production systems. *Food Science and Nutrition*, 8, 2307-2315.
- Perdomo, C., et al. (s.f.). Nitrógeno. Montevideo: Facultad de Agronomía, Udelar.
- Rahimi, S. A., et al. (2021). The growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) co-cultured with different vegetable plants in aquaponics system. *Depik*, 10, 30-34.
- Sabah, S., et al. (2020). Evaluation of mint and sweet basil herbs production integrated into aquaponic *Tilapia* production system. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 82, 563-573.
- Shafeena, T. (2016). Smart aquaponics system: challenges and opportunities. *European Journal of Advances in Engineering and Technology*, 3, 52-55.
- Shete, A. P., et al. (2016). Optimization of hydraulic loading rate in aquaponic system with Common carp and Mint. *Aquacultural Engineering*, 72, 53-57.
- Shete, A. P., et al. (2017). Evaluation of different hydroponic media for mint (*Mentha arvensis*) with common carp juveniles. *Aquaculture International*, 25, 1291-1301.
- Somerville, C., et al. (2014). Introduction to aquaponics. Small-scale aquaponic food production. Rome, FAO.
- Teixeira de Mello, F., et al. (2011a). Cyprinodontiformes: Carpa común. En *Peces de agua dulce del Uruguay*. Montevideo: CURE-UDELAR-MGAP.
- Yep, B., y Zheng, Y. (2019). Aquaponic trends and challenges: A review. *Journal of Cleaner Production*, 228, 1586-1599.

Ingredientes no convencionales en dietas para peces: experiencias colombianas en eficiencia nutricional, reducción de costos y alineación con los principios de la acuicultura sostenible

Mariana Catalina Gutiérrez Espinosa

Zootecnista, Esp., MSc. en Acuicultura, Dra en Ciencias Agrarias

Centro de Estudio e Investigación en Acuicultura – CEIAC; Consultora FAOCO, Colombiamarianaacgutierreze@gmail.com

Resumen

La acuicultura colombiana ha mostrado un crecimiento sostenido en los últimos años, consolidándose como un sector estratégico para la seguridad alimentaria y el desarrollo rural. En 2025, la producción nacional alcanzó 240.163 toneladas de carne de pescado y camarón de cultivo, con un consumo per cápita de 11,3 kg/persona/año, un incremento del 21,2% respecto a 2024, aportando el 3,3% del PIB agropecuario y generando más de 72.000 empleos directos y 216.000 indirectos (MADR, 2025). *Piaractus brachypomus* (cachama blanca), con el 17% de la producción nacional, es la especie omnívora tropical por excelencia del sistema productivo del pequeño acuicultor colombiano, presente en los Llanos Orientales, la Amazonia, el Caribe y la región Andina.

En este contexto, los costos de alimentación, que representan entre el 40% y el 80% de los costos totales de producción en la acuicultura de pequeña escala, constituyen el principal reto para la competitividad del productor de pequeña escala (Gutiérrez-Espinosa & Merino, 2021). La dependencia de insumos convencionales como harina y aceite de pescado importados, cuya producción mundial viene en declive desde 1994 (FAO, 2020), junto con materias primas de alto costo como la soya, ha impulsado la búsqueda de alternativas locales que permitan reducir costos y avanzar hacia sistemas más sostenibles.

Con apoyo de la AUNAP y la FAO, entre 2015 y 2019 se desarrolló un proyecto orientado a construir capacidades en comunidades de acuicultores de recursos limitados para la elaboración de dietas artesanales de bajo costo con ingredientes locales. El proyecto operó en cinco regiones del país: Meta (Lejanías y El Dorado), Córdoba (Montería), Antioquia (San Carlos), Santander (El Carmen de Chucurí) y Amazonas (Leticia, Resguardo Indígena Ticuna Arara), trabajando específicamente con *Piaractus brachypomus* (cachama blanca). Se caracterizaron nutricionalmente mediante análisis de laboratorio más de veinte ingredientes vegetales y agroindustriales de amplia disponibilidad regional: hojas de yuca dulce (*Manihot esculenta*, 25,3–29,1% de proteína bruta), matarratón (*Gliricidia sepium*, 21,85%), botón de oro (*Tithonia diversifolia*, 24,71%), nacedero o quiebrabarrigo (*Trichanthera gigantea*, 23,64%), bore (*Alocasia macrorrhiza*, 19,32%), torta de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*, 51,23%), bejuco peludo (*Calopogonium mucunoides*, 26,27%), maní forrajero (*Arachis pintoi*, 26,52%), lemna (*Lemna minor*) y cacota de cacao (*Theobroma cacao*), entre otros (Gutiérrez-Espinosa & Merino, 2021).

Se formularon y validaron dietas artesanales adaptadas a los ingredientes disponibles localmente, todas con niveles de proteína bruta entre 31% y 33%, comparables con los concentrados comerciales. La elaboración fue realizada por los propios productores con equipos simples: secador solar construido con madera y plástico, molino para maíz, picapasto y molino de carne para la peletización, sin necesidad de infraestructura industrial.

Los resultados fueron contundentes. En el ensayo de crecimiento realizado en Meta, las cachamas alimentadas con la dieta elaborada con materias primas alternativas locales no presentaron diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) en peso final respecto a las alimentadas con concentrado comercial, demostrando que es posible sustituirlo sin afectar el crecimiento de la especie. En Córdoba, la composición proximal del filete de cachamas con dieta artesanal fue equivalente a la del concentrado comercial: 56,7% frente a 56,4% de proteína bruta respectivamente. Adicionalmente, consumidores reportaron mejor sabor, suavidad y textura en los peces con dieta artesanal. El impacto económico más significativo fue la reducción de los costos de producción en más del 30% en todas las comunidades participantes (Gutiérrez-Espinosa & Merino, 2021).

Estas experiencias se alinean directamente con las Directrices Voluntarias para la Acuicultura Sostenible de la FAO (2025), que plantean una visión de sistemas agroalimentarios más productivos, eficientes, resilientes y socialmente responsables. En Colombia, la valorización de ingredientes considerados residuos o malezas responde al principio de uso sostenible de los recursos y gestión responsable de ecosistemas. El trabajo participativo con comunidades indígenas, campesinas y asociativas materializa los ejes de equidad, inclusión y desarrollo de capacidades que las Directrices consagran como temas transversales. La reducción de la dependencia de insumos importados responde a la meta de resiliencia económica y climática, disminuyendo la vulnerabilidad del sector frente a las fluctuaciones globales de precios.

La aplicabilidad de estos aprendizajes en Paraguay es directa. La identificación participativa de materias primas locales disponibles en cada territorio, su caracterización nutricional básica, la adaptación metodológica a las especies nativas cultivadas y la transferencia de metodologías artesanales de bajo costo, articuladas con políticas públicas inclusivas, pueden replicar el modelo colombiano, fortaleciendo la seguridad alimentaria y la sostenibilidad del sector acuícola regional. La innovación en nutrición acuícola mediante ingredientes locales no convencionales no es únicamente una alternativa económica para los productores de pequeña escala: es una estrategia integral y demostrada para avanzar hacia una acuicultura sostenible, competitiva y territorialmente adaptada en América Latina.

Palabras clave: cachama blanca, *Piaractus brachyomus*, alimentos balanceados artesanales, ingredientes no convencionales, , Directrices FAO

Referencias

- Gutiérrez-Espinosa, M. C., & Merino, M. C. (2021). Manual práctico para la preparación de alimentos balanceados artesanales para piscicultura. AUNAP – FAO. Bogotá, Colombia.
- FAO. (2025). Directrices Voluntarias para la Acuicultura Sostenible. Roma: FAO. <https://www.fao.org/in-action/gsa/es>
- FAO. (2024). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. La transformación azul en acción. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://doi.org/10.4060/cd0683es>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). (2025). Boletín de la cadena de la acuicultura – IV trimestre 2025. Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuícolas. Bogotá: MADR.

Enterobacterias aisladas de tortugas dulceacuícolas en cautiverio en Mariano Roque Alonso – Paraguay

Joerg Richard Vetter^{1*}, Ariane Montserrat Daumas Álvarez², Dalila López³, Liliana Cañete⁴

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Recursos Faunísticos y Medio Natural, San Lorenzo – Paraguay. ²JBS, Friboi, Diamantino, MT - Brasil. ³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Microbiología e Inmunología, San Lorenzo – Paraguay.

⁴VetLab SRL, Asunción – Paraguay. - jvetter@vet.una.py

Resumen

El estudio aborda la presencia de bacterias en tortugas dulceacuícolas, destacando que estas forman parte de su microbiota normal, aunque algunas pueden ser potencialmente patógenas. Estas bacterias habitan principalmente el tracto digestivo y la cloaca, y su presencia puede representar un riesgo tanto para los animales como para la salud humana, debido a su potencial zoonótico. La degradación de los ecosistemas acuáticos por actividades humanas favorece la proliferación de estos microorganismos. El objetivo fue identificar enterobacterias cloacales en tortugas en cautiverio en Mariano Roque Alonso, Paraguay. Se analizaron muestras de 41 tortugas mediante cultivos convencionales y pruebas bioquímicas. El 92,7% presentó crecimiento bacteriano. Las bacterias más frecuentes fueron *Shigella* spp. (39,5%), *Citrobacter freundii* (18,4%) y *Proteus vulgaris* (13,2%), seguidas por otras como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Los resultados coinciden parcialmente con estudios previos, aunque varían en frecuencia debido a factores como el ambiente y las condiciones de cautiverio. Algunas bacterias identificadas tienen relevancia en salud pública por su alta patogenicidad y resistencia antimicrobiana. A pesar de que los animales estaban clínicamente sanos, se evidenció la presencia de microorganismos oportunistas, lo que resalta su importancia como posibles fuentes de zoonosis y como indicadores de contaminación ambiental.

Palabras clave: Chelidae, enterobacterias, zoonosis.

Abstract

The study addresses the presence of bacteria in freshwater turtles, highlighting that these microorganisms are part of their normal microbiota, although some may be potentially pathogenic. These bacteria mainly inhabit the digestive tract and cloaca, and their presence may pose a risk to both animal and human health due to their zoonotic potential. The degradation of aquatic ecosystems caused by human activities favors the proliferation of these microorganisms. The objective was to identify cloacal enterobacteria in captive turtles from Mariano Roque Alonso, Paraguay. Samples from 41 turtles were analyzed using conventional cultures and biochemical tests. Bacterial growth was observed in 92.7% of the samples. The most frequent bacteria were *Shigella* spp. (39.5%), *Citrobacter freundii* (18.4%), and *Proteus vulgaris* (13.2%), followed by others such as *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. The results partially agree with previous studies, although frequencies vary due to factors such as environment and captivity conditions. Some identified bacteria are relevant to public health due to their high pathogenicity and antimicrobial resistance. Although the animals appeared clinically healthy, the presence of opportunistic microorganisms highlights their importance as potential sources of zoonoses and as indicators of environmental contamination.

Keywords: Chelidae, enterobacteria, zoonosis.

Introducción

Las bacterias son microorganismos procariotas, unicelulares y de pequeño tamaño, que pueden encontrarse ampliamente distribuidas en la naturaleza. En el caso de las tortugas dulceacuícolas, estas bacterias colonizan de manera habitual tanto el tracto digestivo como la cloaca, formando parte de su microbiota normal. Sin embargo, dentro de ésta microbiota, pueden existir bacterias con potencial patógeno, capaces de provocar infecciones gastrointestinales, especialmente en individuos inmunosuprimidos.

Las tortugas dulceacuícolas viven en uno de los ambientes más degradados: el agua. El creciente desarrollo urbano y agrícola, la modificación de las características naturales del curso de las aguas, la deforestación y el vertido de aguas residuales urbanas e industriales, representan la principal causa de destrucción de ecosistemas, incluyendo al de las tortugas dulceacuícolas (Malmqvist y Rundle 2002). Estudios anteriores en tortugas dulceacuícolas reportan la presencia de bacterias con potencial patogénico, como: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* spp., y *Proteus mirabilis* (Rojas Guillén, 2018).

La presencia de estas bacterias no solo representa un riesgo para la salud de las tortugas mismas, sino también para las personas que mantienen contacto con ellas o con sus desechos. Esta situación adquiere especial relevancia desde la perspectiva de la salud pública, ya que algunas de estas bacterias pueden transmitirse al ser humano y ocasionar enfermedades zoonóticas. De hecho, los patógenos zoonóticos, incluyendo bacterias, virus y parásitos, son responsables de un importante número de enfermedades emergentes y reemergentes a nivel mundial. La transmisión puede producirse por contacto directo, a través de alimentos contaminados, agua o incluso por la vía ambiental.

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) ha enfatizado el concepto de “Una sola Salud”, reconociendo la interdependencia entre la salud humana, animal y ambiental. En este sentido, el estudio de la microbiota cloacal en tortugas dulceacuícolas cobra especial importancia, ya que estos animales habitan ambientes acuáticos que, en muchos casos, se encuentran gravemente contaminados. Factores como la urbanización, la actividad agrícola, la deforestación y el vertido de residuos urbanos e industriales han contribuido a la degradación de los ecosistemas acuáticos (Malmqvist y Rundle, 2002), afectando directamente a las especies que los habitan.

Por todo lo mencionado anteriormente, el objetivo del trabajo fue identificar las enterobacterias cloacales de tortugas dulceacuícolas en cautiverio en Mariano Roque Alonso, Paraguay.

Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras de 41 tortugas dulceacuícolas, sin distinción de especie, sexo o edad, en un centro de rescate en la ciudad de Mariano Roque Alonso, en el mes de mayo del 2025.

Para la obtención de la muestra se insertó un hisopo estéril suavemente en la cloaca de cada tortuga, realizando movimientos circulares y rotaciones durante aproximadamente 5 a 7 segundos, para recolectar la mayor cantidad de material posible. Una vez recolectado, el hisopo fue introducido en un medio de transporte y fue almacenado a 4°C hasta su remisión al laboratorio. Se utilizó una ficha clínica estructurada, diseñada específicamente para registrar datos generales de cada animal (especie, sexo, condición corporal), así como observaciones clínicas relevantes al momento del muestreo.

Una vez en el laboratorio, se tomaron los hisopos y se cultivaron las muestras en agar Mac-Conkey, selectivo y diferencial para Enterobacterias, utilizando la técnica de estrías por agotamiento para la obtención de colonias aisladas, que se incubó por 24 horas a 37°C. Poste-

riormente se realizaron las pruebas bioquímicas de rutina de las colonias sospechosas para la identificación de Género y especie de las Enterobacterias. Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron: Triple azúcar de hierro (TSI), Citrato de Simmons, Urea, SIM (SH2, Indol, Movilidad), LIA (lisina descarboxilasa). Cada prueba fue inoculada con una colonia pura, por medio del ansa en aguja, y se realizaron estrías en el pico de flauta.

Resultados

Fueron muestreadas 41 tortugas dulceacuícolas de 7 especies distintas, a saber: *Acanthochelys pallidipectoris*, *A. macrocephala*, *Hydromedusa tectifera*, *Phrynops geoffroanus*, *P. hilarii*, *Mesoclemmys vanderhaegei* y *Kinosternon scorpioides*, todas especies nativas. Las mismas se encontraban en un centro de rescate de la ciudad de Mariano Roque Alonso, en el Departamento Central. Del total, 38 tortugas (92,7%) presentaron crecimiento bacteriano, mientras que 3 (7,3%) no lo hicieron. Las bacterias aisladas, según frecuencia, se presentan en la Tabla 1.

Bacteria	Nº de aislados	Positivos (%)
<i>Shigella</i> spp.	15	39,5
<i>Citrobacter freundii</i>	7	18,4
<i>Proteus vulgaris</i>	5	13,2
<i>Citrobacter koseri</i>	4	10,5
<i>Hafnia alvei</i>	3	7,9
<i>Klebsiella pneumonia</i>	2	5,3
<i>E. coli</i>	1	2,6
<i>Citrobacter</i> spp.	1	2,6

Tabla 1. Especies patógenas y especies zoonóticas identificadas en las cloacas de tortugas dulceacuícolas

Los hallazgos del presente estudio sugieren que la bacteria más frecuente en cloaca de tortugas dulceacuícolas del centro de rescate es *Shigella* spp., seguido por *Citrobacter freundii* y *Proteus vulgaris*. Otras bacterias halladas en menor proporción corresponden a: *Citrobacter koserii*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter* spp., *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Discusión

Los resultados, en cuanto a la identificación de especies, coinciden con un trabajo realizado en Perú, con 30 animales bajo cuidado humano, se aislaron cinco especies de bacterias con potencial patógeno: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella* spp. y *Proteus mirabilis* (Rojas Guillen, 2018).

Otro trabajo, realizado en Brasil pero con tortugas terrestres, reportó el aislamiento de: *Escherichia* spp. (67%), *Klebsiella* spp. (54%), *Bacillus* spp. (42%), *Citrobacter* spp. (33%), *Staphylococcus* spp. (29%) y *Corynebacterium* spp. (15%) (Pessoa, 2009). Si bien algunas bacterias aisladas coinciden, no así en su frecuencia. Estas diferencias podrían darse por localización geográfica, género y especie de tortugas, estado sanitario, estado de cautiverio, medios de cultivo utilizados para el aislamiento de cada bacteria y las bacterias buscadas de manera específica.

Entre los hallazgos destacados del presente trabajo se encuentra *Klebsiella pneumoniae*, que tiene mayor relevancia, ya que es considerada de importancia en salud pública puesto que

es una bacteria con una patogenicidad muy alta, pudiendo hasta causar la muerte de quien la contrae. Esta bacteria es conocida por desarrollar resistencia a múltiples antimicrobianos y puede causar diversas afecciones. Si bien está más asociada a infecciones hospitalarias, afectando en su mayoría a pacientes inmunocomprometidos, y puede causar esteatosis hepática, también es considerada parte de la microbiota cloacal, y se presenta de manera natural en ambientes acuáticos, puede alcanzar concentraciones elevadas en ambientes ricos en nutrientes, como heces o alimentos contaminados.

En cuanto a la *Shigella* spp., esta tiene potencial zoonótico, y los seres humanos son portadores biológicos de la misma. La infección puede ocurrir a través de alimentos que estuvieron en contacto con heces contaminadas, además de que mosquitos pueden ser vectores. En humanos, un episodio de infección por *Shigella* spp. puede conferir inmunidad por varios años, aunque puede haber crisis recurrentes. La diseminación de *Shigella* spp. siempre proviene de una fuente humana.

Hallada en un 13%, *Proteus vulgaris* también representa una enterobacteria oportunista potencialmente patógena, que forma parte de la microbiota natural de varias especies. Afectando principalmente a inmunocomprometidos, el género *Proteus* spp. está más asociado a piedras en riñón y vejiga (Drzewiecka, 2016). Al-Bahry et al. (2012) interpretaron la presencia de *P. vulgaris* multirresistente a diferentes antibióticos en fluidos de oviductos de tortugas marinas como indicadores de polución en el golfo arábico, y, en contraste, en Costa Rica, *P. vulgaris* es considerada parte de la microbiota natural de las tortugas acuáticas.

Citrobacter freundii (18%) es un coco Gramnegativo que se halla normalmente en el suelo, agua y tracto intestinal de varios animales, incluyendo quelonios (Ridgley, 2001). Las manifestaciones clínicas en humanos pueden variar desde el tracto respiratorio hasta gastrointestinales. Es un microorganismo de importancia epidemiológica debido a que ya se identificaron cepas resistentes a Carbapenems (Arana et al., 2017; Räisänen et al., 2021; Yao et al., 2021).

A pesar de que las tortugas presentaban un estado general saludable y permanecían en condiciones de cautiverio, el aislamiento de las bacterias mencionadas previamente permite inferir la presencia de microorganismos oportunistas en estos ejemplares. Este hallazgo reviste importancia, ya que dichos agentes poseen el potencial de generar procesos infecciosos bajo circunstancias predisponentes, además de constituir una posible fuente de zoonosis para las personas que mantienen contacto directo o indirecto con los animales, como también servir de indicador ambiental, por la presencia de microorganismos en el agua.

Conclusiones

El presente trabajo reporta el aislamiento de ocho enterobacterias en muestras obtenidas de tortugas dulceacuícolas, de varias especies nativas. Los resultados coinciden con otros trabajos realizados con tortugas, si bien la frecuencia de los aislamientos es variable. Los resultados obtenidos sugieren la presencia de una microbiota diversa en tortugas dulceacuícolas, si bien mantiene un potencial zoonótico.

Referencias bibliográficas

- Al-Bahry, S. N., Al-Zadjali, M. A., Mahmoud, I. Y., & Elshafie, A. E. (2012). Biomonitoring marine habitats in reference to antibiotic resistant bacteria and ampicillin resistance determinants from oviductal fluid of the nesting green sea turtle, *Chelonia mydas*. *Chemosphere*, 87(11), 1308-1315.
- Arana, D. M., Ortega, A., González-Barberá, E., Lara, N., Bautista, V., Gómez-Ruiz, D., ... & Spanish Antibiotic Resistance Surveillance Programme Collaborating Group. (2017). Carbape-

nem-resistant *Citrobacter* spp. isolated in Spain from 2013 to 2015 produced a variety of carbapenemases including VIM-1, OXA-48, KPC-2, NDM-1 and VIM-2. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(12), 3283-3287.

Drzewiecka, D. (2016). Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial Ecology*, 72(4), 741–758. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6>

Malmqvist, B., & Rundle, S. (2002). Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental conservation*, 29(2), 134-153.

Pessoa, CA. (2009). Avaliação da microbiota bacteriana e fúngica presente na cloaca de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio e análise do potencial risco à saúde humana. 96 f. Maestría en Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Räisänen, K., Sarvikivi, E., Arifulla, D., Pietikäinen, R., Forsblom-Helander, B., Tarkka, E., ... & Lyytikäinen, O. (2021). Three clusters of carbapenemase-producing *Citrobacter freundii* in Finland, 2016–20. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 76(10), 2697-2701.

Ridgley, F. (2001). Sepsicemic cutaneous ulcerative disease of chelonians. Sakamoto K, editor. Indiana animal disease diagnostic Laboratory (addL).

Rojas Guillen, EF. (2018). Enterobacterias potencialmente patógenas en la tortuga taricaya (*Podocnemis unifilis*) de un zoológico de la ciudad de Iquitos. Tesis de grado: Universidad Alas Peruanas; Lima, Peru.

Yao, Y., Falgenhauer, L., Falgenhauer, J., Hauri, A. M., Heinmüller, P., Domann, E., ... & Imirzalioglu, C. (2021). Carbapenem-resistant *Citrobacter* spp. as an emerging concern in the hospital-setting: results from a genome-based regional surveillance study. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 744431.

Criopreservación y evaluación Preliminar de semen de Surubí Atigrado (*Pseudoplatystoma reticulatum*)

Departamento de Pesca y Acuicultura, Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad Nacional de Asunción (FCV-UNA), Paraguay.

El surubí atigrado, *Pseudoplatystoma reticulatum*, es una especie nativa de alto valor para la acuicultura sudamericana. La criopreservación seminal constituye una herramienta estratégica para la reproducción asistida y conservación genética; sin embargo, existen escasos protocolos desarrollados para especies nativas del Paraguay. El objetivo del presente trabajo fue crioconservar semen de surubí atigrado y evaluar el semen descongelado utilizando un crioconservante comercial de uso bovino bajo condiciones experimentales. Se utilizó un macho reproductor inducido hormonalmente con gonadotropina coriónica humana y domperidona. Diez horas posteriores a la inducción se realizó la colecta seminal, manteniéndose las muestras a 4 °C hasta su evaluación. La motilidad se activó con agua y la viabilidad seminal se determinó mediante tinción con eosina-nigrosina. Posteriormente, el semen fue diluido (1:4) con crioconservante comercial suplementado con yema de huevo, envasado en pajuelas de 0,5 ml y almacenado en nitrógeno líquido. La descongelación se realizó a 35 °C durante 60 segundos y se efectuó una fertilización experimental de 50 g de ovocitos. El volumen seminal obtenido fue de 22 ml, valor similar al reportado por Atencio et al. (2016) para especies del género *Pseudoplatystoma*, mientras que Padilla-Sánchez et al. (2023) registraron volúmenes inferiores en la misma especie. La viabilidad espermática observada fue de 86 %. La motilidad se activó inmediatamente al contacto con agua y presentó una duración inferior a un minuto, comportamiento característico de teleósteos de agua dulce, coincidiendo con los tiempos de activación descritos por Atencio et al. (2007) y Padilla-Sánchez et al. (2023). La fertilización mostró un alto porcentaje de fecundación; sin embargo, no se registró eclosión larval, sugiriendo la necesidad de optimizar las condiciones del protocolo de criopreservación. En conclusión, fue posible realizar la colecta y criopreservación de semen de *Pseudoplatystoma reticulatum* bajo condiciones experimentales, constituyendo un avance preliminar para el desarrollo de biotecnologías reproductivas aplicadas a especies nativas de interés acuícola en Paraguay.

Palabras clave: criopreservación seminal; *Pseudoplatystoma reticulatum*; acuicultura; reproducción asistida; motilidad espermática.

Tabla N° 1. Características macroscópicas y microscópicas evaluadas.

Parámetro evaluado	Resultado observado
Volumen seminal	22 ml
pH seminal	7,0
Viabilidad espermática	86 %
Movimiento rápido progresivo	≥30 %
Movimiento lento	≈ 20 %
Tiempo de motilidad activa	< 1 minuto
Activación espermática con agua	positiva
Fertilización con semen crioconser- vado	80%
Eclosión con semen crioconservado	no se observo



Bibliografía

Sanchez, M. P. (2023). Sperm quality and cryopreservation in teleost: effect of seminal plasma component and climate change.

Medina-Robles, V. M., Guarnizo-Pineda, M., Ramírez-Merlano, J. A., Otero-Paternina, A. M., Mira, T., Pacheco-Murillo, R., ... & Cruz-Casallas, P. E. (2007). Caracterización y ensayos preliminares de crioconservación seminal de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*-Linnaeus, 1766). *memorias XIII Jornada de Acuicultura. Villavicencio: Universidad de los Llanos.*

Atencio-García, V., Espinosa-Araujo, J., Salas Villalba, J., Dorado, M. P., Pertúz-Buelvas, V., & Prieto-Guevara, M. (2016). Evaluación del semen crioconservado de bagre rayado *Pseudoplatystoma magdaleniatum* con dimetilsulfóxido. In *Conferencia Latinoamericana de Acuicultura.*

Evaluación del efecto de dietas con distintos niveles de proteína sobre la conversión alimenticia, ganancia diaria de peso y la tasa de supervivencia en alevines de salmón de río (*Brycon orbignyanus*).

Tsan Ping Wang, Bárbara María Brítez Argüello, Robert Pan.

Introducción Y Justificación

Paraguay cuenta con dos ríos principales que lo atraviesan: el río Paraguay y el río Paraná. Ambas cuencas poseen una extensión considerable, aguas limpias y una ecología de peces de agua dulce diversa y abundante. (Quiros et al., 2007)

Sin embargo, desde 1998, la sobrepesca y la falta de políticas de manejo sostenible han provocado una drástica disminución de los recursos pesqueros en estos ríos. Como consecuencia, los precios de los productos pesqueros en el mercado se han mantenido elevados, llegando a ser de 2 a 5 veces superiores al precio de la carne vacuna por kilogramo. Además, la limitada infraestructura de cadena de frío en el país dificulta la conservación de la frescura del pescado, lo cual restringe su disponibilidad a consumidores de alto poder adquisitivo y mercados específicos, limitando el desarrollo del sector pesquero.

A pesar de estas limitaciones, Paraguay cuenta con recursos hídricos dulces naturales y libres de contaminación. En ausencia de una salida al mar, la acuicultura de agua dulce se perfila como una alternativa estratégica para superar desafíos alimentarios y económicos. En los últimos diez años, distintos sectores del país han comenzado a enfocarse en el potencial de la acuicultura, lo que ha dado lugar al desarrollo de programas de reproducción y cultivo artificial del salmón de río (*Brycon orbignyanus*). (FAO, 2023)

El salmón de río es uno de los recursos ícticos más importantes de las aguas paraguayas. No obstante, debido a la sobreexplotación pesquera, sus poblaciones silvestres estuvieron en peligro crítico. Afortunadamente, gracias al esfuerzo continuo del Centro Nacional de Producción de Alevines de Paraguay, a finales del año 2023 se logró con éxito la reproducción artificial de los primeros alevines, y los esfuerzos de reproducción continúan avanzando positivamente.

Objetivo

Analizar el efecto de dietas con diferentes niveles de proteína sobre el rendimiento de crecimiento del salmón de río (*Brycon orbignyanus*), mediante una evaluación sistemática de la ganancia diaria de peso, tasa de sobrevivencia, el índice de conversión alimenticia y el desarrollo morfológico de los ejemplares.

Materiales Y Método

El estudio se llevó a cabo en el Centro Nacional de Producción de Alevines (MAG), ubicado en la ruta PY 02, en el km 74,5 de la ciudad de Eusebio Ayala, departamento de Cordillera, República del Paraguay. Los alevines utilizados en esta investigación corresponden a juveniles de salmón de río (*Brycon orbignyanus*), obtenidos mediante reproducción artificial a finales del año 2024 en el Centro Nacional de Producción de Alevines (MAG). Los ejemplares, con una longitud aproximada de 2 a 4 cm y en buen estado de salud, fueron distribuidos aleatoriamente en tanques experimentales para su observación.

Tabla 1. Tamaño inicial de los alevines (muestreo aleatorio)

Variable	Muestra		Promedio
	1	2	
Peso (g)	0,96	1,29	1,13
Longitud (cm)	4,4	4,6	4,5

Se utilizaron estanques circulares de cultivo con un diámetro de un metro y una profundidad de 50 cm, con un volumen de agua aproximado de 0.5 toneladas. El agua se renovó diariamente mediante sinfoneo del fondo, y la temperatura del agua siguió las variaciones naturales del entorno. El experimento se dividió en 2 grupos, cada grupo recibió diferentes niveles de proteína, el primer grupo recibió 28 % y el segundo grupo 45% de proteína.

En cada tanque se colocaron 43 alevines de salmón de río (la cantidad fue seleccionada considerando la reproducción y disponibilidad de la tanda correspondiente). La duración del experimento fue de 60 días. Todos los tanques estuvieron expuestos a las mismas condiciones de iluminación y temperatura. Se midieron periódicamente parámetros de calidad del agua (pH, oxígeno disuelto, amoníaco, entre otros) para mantener la salud de los peces. La alimentación diaria consistió en suministrar un 10% del peso corporal total de los peces, ajustado después de cada medición, hasta finalizar el experimento.

Recolección de datos: Cada dos semanas se midieron la longitud y el peso de los peces, registrando la tasa de supervivencia (TS), la ganancia diaria de peso (GDP) y el índice de conversión alimenticia (ICA).

Las fórmulas utilizadas fueron:

- Tasa de supervivencia (TS):

$$TS = \frac{\text{Número de individuos vivos al final del experimento}}{\text{Número de individuos al inicio del experimento}} \times 100\%$$

- Ganancia diaria de peso (GDP)

$$GDP = \frac{\ln(\text{Biomasa final}) - \ln(\text{Biomasa inicial})}{\text{Número de días de experimento}} \times 100\%$$

- Índice de conversión alimenticia (ICA):

$$ICA = \frac{\text{Cantidad total de alimento suministrado}}{\text{Biomasa final} - \text{Biomasa inicial}}$$

Resultados y Discusión

Tabla 2. Resultados por grupo

Grupo	Primer grupo (28%)	Segundo grupo (45%)
Tasa de supervivencia (%)	74.42	95.35
Ganancia diaria de peso	7.20	7.80
Índice de conversión alimenticia	1.00	1.07

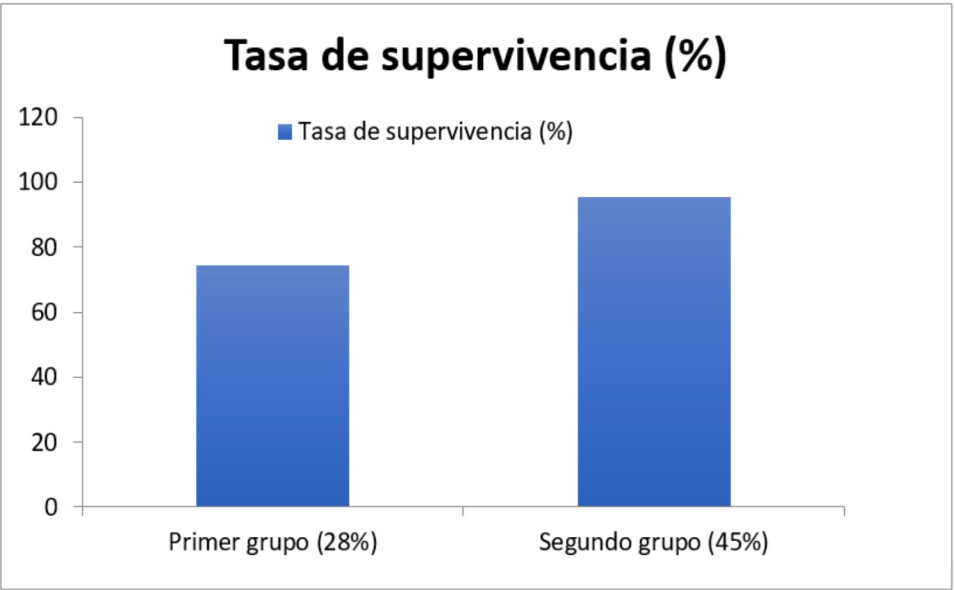


Gráfico 1. Tasa de sobrevivencia en grupo 1 y grupo 2.

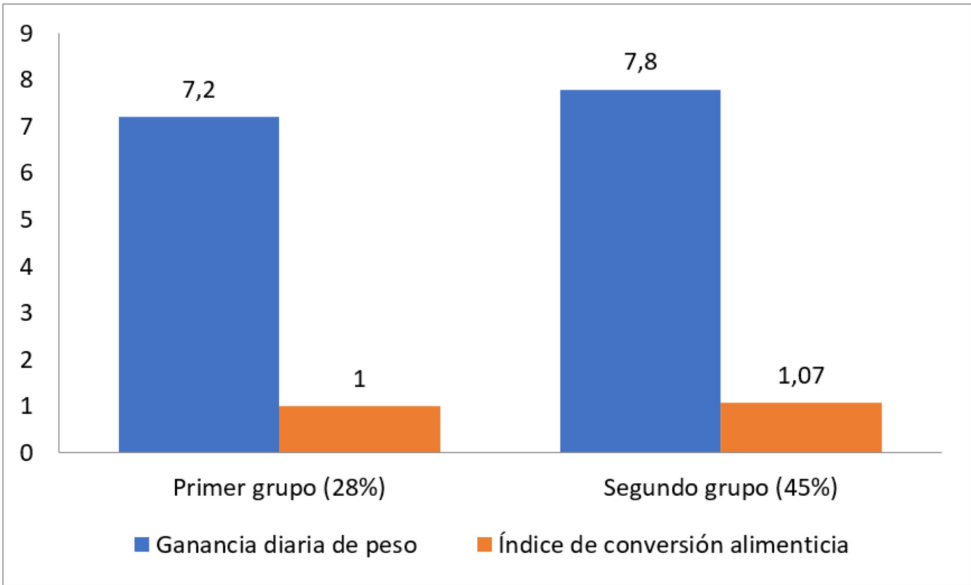


Gráfico 2. Comparación de la ganancia diaria de peso e índice de conversión alimenticia para grupo 1 y grupo 2.

La tasa de supervivencia fue mejor en el grupo 2 siendo de 95.35%, mientras que el grupo 1 solo sobrevivieron el 74.42 % de los ejemplares, esto puede deberse a que especies carnívoras necesitan dietas altas en proteína para sostener su tasa metabólica y alcanzar una alta supervivencia (Ediwarman et al. 2025).

En cuanto a la ganancia diaria de peso el grupo 2 obtuvo ligeramente mejores resultados, siendo la ganancia diaria de peso 7.20 en el grupo 1 y 7.80 en el grupo 2. Estos resultados concuerdan con los resultados de (AOAC, 1997; Baishya et al., 2012), que los mejores pesos corporales se dan en dietas con alta proteína.

En este experimento, el primer grupo (con dieta al 28% de proteína) mostró el mejor índice de conversión alimenticia, con un FCR de 1.00, lo que indica que por cada gramo de peso ganado, se consumió en promedio 1 gramo de alimento, reflejando una alta eficiencia en la utilización del alimento. En comparación, al grupo dos que obtuvo FCR de 1.07.

Conclusión

La alta concentración de proteína en la dieta favorece el crecimiento de los peces; sin embargo, la eficiencia en la utilización del alimento puede verse reducida, posiblemente debido a un exceso proteico que ocasiona desperdicio metabólico o desequilibrios en la relación energía-proteína. Asimismo, las variaciones observadas en el índice de conversión alimenticia podrían estar relacionadas con diferencias en el comportamiento alimentario y en las condiciones de cultivo, por lo que se recomienda realizar estudios futuros más detallados sobre consumo, digestibilidad y balance energético.

En conclusión, el nivel de proteína dietaria ejerce un efecto significativo sobre el crecimiento y la supervivencia de los peces, aunque la proporción óptima debe considerar no solo el rendimiento productivo, sino también la eficiencia alimenticia y los costos de producción. Si bien las dietas con mayor contenido proteico promueven un crecimiento más acelerado, no necesariamente representan la alternativa más eficiente ni económicamente viable. Por ello, dietas con niveles moderados de proteína, acompañadas de un manejo adecuado, pueden ofrecer un mejor equilibrio entre crecimiento, supervivencia y sostenibilidad productiva.

Anexos



Figura 1. Inyección para la reproducción del salmón de río.

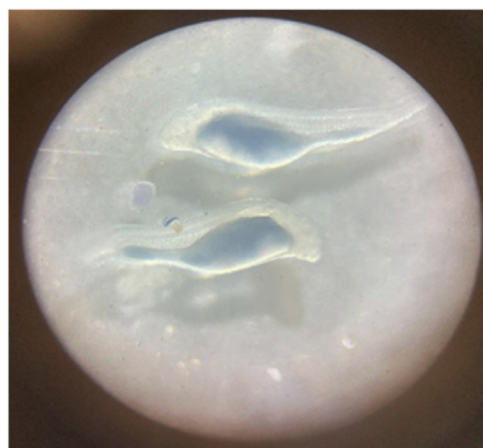


Figura 2. Primer día después de la fecundación e incubación.

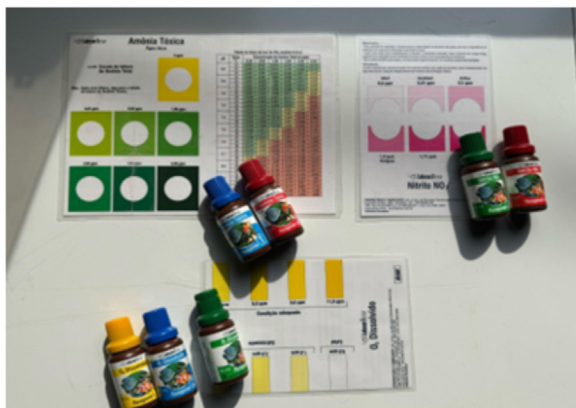


Figura 3. Kit de prueba para el análisis de la calidad del agua



Estadísticas de cría experimental

Referencias Bibliográficas

- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, Arlington.
- Baishya, S., Phukan, B., Rajbongshi, A., & Bordoloi, R. (2012). Growth Performance of Snakeskin Gourami, *Trichogaster pectoralis* (Regan, 1910) Using Different Dietary Protein Levels. *Environment and Ecology*, 30(3), 554- 557.
- Ediwarman, Kurniasih, T., Adiyana, K., Thesiana, L., Panigoro, N., Mundayana, Y., Puspainingsih, D., Rasidi, Setiadi, E., Setijaningsih, L., Yamin, M., Sutisna, E., & Kusdiarti. (2025). Nutritional optimization for zero water exchange aquaculture: A study of dietary protein levels for *Pangasionodon hypophthalmus*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 34(5), 5539–5549. <https://doi.org/10.15244/pjoes/191600>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). The state of world fisheries and aquaculture 2023. FAO.
- Quiros, R., Bechara, J. A., & Resende, E. K. (2007). Fish diversity and ecology, habitats and fisheries for the un-dammed riverine axis Paraguay-Paraná-Río de la Plata (Southern South America). *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 10(2), 187–200.

The implications of Vitamin C on the performance of tilapia fry in RAS

Tiago Pael do Amaral¹, Rita de Cassia Gonçalves Marques², Nayara Carina de Oliveira², Fabiana Cavichiolo¹, Juliana Rosa Carrijo Mauad³, Daniele Menezes Albuquerque¹ (danielealbuquerque@ufgd.edu.br)

¹Universidade Federal da Grande Dourados, Faculty of Agricultural Sciences, Aquaculture Laboratory, Dourados, Brazil

²Universidade Federal da Grande Dourados, Faculty of Exact Sciences and Technologies, Dourados, Brazil

³Universidade Federal da Grande Dourados, Faculty of Biological and Environmental Sciences, Aquaculture Laboratory, Dourados, Brazil

Abstract

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) requires dietary vitamin C in recirculating aquaculture systems (RAS). This study evaluated if dietary vitamin C (0, 10, and 20 mg.kg⁻¹) improves zootechnical performance and morphophysiological indices of fingerlings in RAS. Over 56 days, 360 fingerlings were distributed in a completely randomised design to monitor water quality, growth, and body indices. Data were analysed with ANOVA and Tukey's test (5%). Results showed critical dissolved oxygen levels (97.4% of measurements < 5 mg L⁻¹), uninfluenced by supplementation. Feed intake increased with vitamin C but did not improve weight gain, biomass, or growth. Survival was highest at 10 mg.kg⁻¹ (86%) and decreased at 20 mg.kg⁻¹ (79%). The hepatosomatic index increased slightly (1.69% to 1.90%), while the viscerosomatic index decreased (9.87% at 10 mg.kg⁻¹), both without statistical significance. The tested doses did not significantly enhance zootechnical performance, likely due to chronic hypoxia or insufficient dosage. The survival pattern suggests a biphasic effect, beneficial at 10 mg.kg⁻¹ but potentially toxic at 20 mg.kg⁻¹ for fingerlings. Future studies should test equidistant doses under optimised oxygen conditions.

Keywords: adjuvants; ascorbic acid; water recirculation system; fish nutrition.

1. Introduction

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) has established itself as a key species in modern aquaculture, ranking fourth in global production ⁽¹⁾ due to its economic and nutritional importance. Its popularity stems from its unique biological characteristics, its zootechnical, economic and environmental advantages, and its adaptability to different farming systems ⁽²⁾. However, intensive production exposes fish to various stressors, such as high population density ⁽³⁾, fluctuations in water quality ⁽⁴⁾ and the presence of contaminants such as heavy metals, pesticides and bacteriological agents ⁽⁵⁾. These conditions unbalance the antioxidant status of fish, inducing chronic oxidative stress ⁽⁶⁾. When this imbalance persists, energy is redirected to detoxification and cell repair rather than growth or weight gain ⁽⁷⁾. In addition, excess free radicals cause tissue damage in the liver, gills, and kidneys, limiting nutrient absorption ⁽⁸⁾.

Given the above, tilapia has a unique vulnerability, which is the inability to synthesise vitamin C, resulting from the evolutionary loss of the enzyme L-gulonolactone oxidase (GULO) ^(9,10). This nutritional dependency requires precise supplementation, especially in intensive systems, where oxidative stress can be intensified.

Vitamin C is an essential micronutrient for fish, acting as a cofactor in collagen synthesis, immune response, and neutralisation of free radicals induced by environmental stresses^(5,11). In recirculating aquaculture systems (RAS), which are notable for their water reuse and flexible installation, greater environmental control can be achieved. This type of system is suitable for intensive production, even with prolonged confinement⁽¹²⁾. However, despite the benefits, fish are exposed to unique challenges such as hypoxia, nitrogen accumulation, and oxidative stress^(13,14).

Vitamin C (L-ascorbic acid phosphate) requirements for tilapia fry have been studied across a wide range (79 to 500 mg kg⁻¹) in traditional systems, demonstrating potential to optimise growth, immune status, and resistance to pathogens such as *Aeromonas sobria*^(15,16). However, the optimal dosage is highly variable and specific. For Nile tilapia fry undergoing sex reversal, the reported optimal dose is extremely high (15,000 mg kg⁻¹) to maximise survival and resistance to salt stress⁽¹⁷⁾. In contrast, tilapia juveniles require 150 mg kg⁻¹ to optimise survival against *Aeromonas hydrophila*⁽¹⁸⁾, while Cobia (*Rachycentron canadum*) juveniles require 400 mg kg⁻¹ to mitigate the lethality of extreme heat stress⁽¹⁹⁾. For bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) tadpoles in low-temperature cultivation, the optimal dose is 600 mg kg⁻¹, according to a study conducted in a recirculating aquaculture system (RAS)⁽²⁰⁾. Given this, these studies demonstrate that the appropriate dosage critically depends on the species and its life stage^(14,21,22), zootechnical objective and farming system^(18,23,24).

The existing literature focuses on high vitamin C doses for tilapia in traditional systems, but recent evidence from Miranda et al.⁽²⁵⁾ suggests that supplementation up to 200 mg kg⁻¹ may be unnecessary under baseline conditions. There is a gap regarding the use of substantially lower doses (10 to 20 mg kg⁻¹) in Recirculating Aquaculture Systems (RAS). In these intensive, controlled systems^(12,20), water purification and biosecurity result in a lower pathogen load⁽²⁶⁾. This condition reduces the demand for antioxidants, such as vitamin C, which are typically mobilized in large quantities by the immune system to fight infections^(27,28). Thus, minimal doses of 10 to 20 mg kg⁻¹ might be sufficient to maintain immunity and basic functions in fry within such controlled environments.

The viability of these reduced doses will be investigated through zootechnical performance, including weight gain, growth rate, and survival. These parameters are fundamental to productive success and are linked to physiological health and feed management optimization^(29,30). Additionally, the hepatosomatic (HSI) and viscerosomatic (VSI) morphophysiological indices will be examined, reflecting body condition and nutrient utilization⁽³¹⁾. The HSI indicates liver activity and energy storage, while the VSI is associated with visceral fat reserves and feed efficiency^(31,32). The joint evaluation of these indices is vital for measuring the impact of diets or additives in fish-meal or water and understanding the physiological consequences of the treatments.v

Given the above, the objective of this study is to evaluate whether increasing the dosage of vitamin C (10 and 20 mg kg⁻¹) improves zootechnical performance, hepatosomatic index (HSI) and viscerosomatic index (VSI) of Nile tilapia farmed in RAS.

2. Materials and methods

2.2 Location and specimens

A stocking density of 30 fishes per experimental unit was adopted, corresponding to a density considered suitable for juvenile Nile tilapia reared in recirculating aquaculture systems, allowing adequate space availability, water circulation, and reduction of competitive interactions during the experimental period.

The experiment was conducted at the UFGD Aquaculture Laboratory, using 360 Nile tilapia fry (GIFT strain; 0.5 g). The fish were randomly distributed into 12 experimental units in a recirculating aquaculture system (RAS). This system featured mechanical and biological filtration, with a 4 m³/h flow rate maintained by a submersible pump. Before the trial began, the fish underwent acclimatization with daily monitoring of water parameters. Continuous aeration was provided throughout the experimental period using air diffusers connected to an air blower system to maintain dissolved oxygen concentrations suitable for Nile tilapia culture in RAS conditions.

2.3 Experimental Design

The design was completely randomised, with three treatments (0, 10 and 20 mg.kg⁻¹ of ascorbic acid monophosphate) with four replicates each. Commercial extruded feed with a particle size of 3 mm containing 32% crude protein was used. This feed was homogenised with vitamin C, for which an aqueous solution of ascorbic acid monophosphate was prepared in advance. The fish were fed manually five times a day (8 a.m., 10 a.m., 12 p.m., 2 p.m. and 4 p.m.) with an average duration of 30 minutes per feeding. The boxes were siphoned daily after each feeding to remove faeces and any feed residues so as not to compromise water quality. After incorporation of vitamin C into the feed, the diets remained at rest for approximately 30 minutes before feeding to ensure homogeneous distribution and adherence of the supplement to feed particles. The 3 mm particle size was selected according to the mouth size and ingestion capacity of the fry during the experimental phase. No modification in particle size was necessary during the experiment because fish maintained adequate feed acceptance throughout the cultivation period.

Feed supply was adjusted throughout the experimental period according to fish growth and apparent satiety, aiming to minimize feed waste and maintain water quality. The nutritional composition of the diet remained unchanged during the 56 experimental days. Feed intake was estimated based on the total amount of feed offered daily to each experimental unit, considering apparent satiety and observation of residual feed after feeding management.

Water quality parameters such as temperature, dissolved oxygen, pH and conductivity were monitored twice a day using devices such as MO 900® digital probes for dissolved oxygen (mg/L) and temperature (°C), AK38® for electrical conductivity, and Ph-009(i)a® pH meters for monitoring hydrogen ion potential (pH).

2.4 Biometrics

Biometric evaluations were carried out every 14 days over the 56-day experimental period. During each sampling event, the fish were carefully captured using hand nets and transferred to a container containing 4 L of water from the culture system and three drops of Eugenol® to minimize handling stress and facilitate anesthesia. All experimental procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Use of the Federal University of Grande Dourados (UFGD), following the ethical guidelines established by CONCEA (33).

After anesthesia, fish were individually weighed using a semi-analytical balance with an accuracy of ±0.01 g (High-precision Electronic Scales®). During intermediate biometric samplings, the fish were returned to their respective experimental units after measurements, minimizing interference in stocking density and maintaining experimental uniformity throughout the study.

At the end of the experimental period, five fish from each experimental unit were randomly selected for morphophysiological analyses. These fish were measured for total length using a graduated ruler (± 1 mm) and subsequently euthanized by spinal cord section. After euthanasia, the total viscera, liver, and intestine were collected and individually weighed to determine the body indices.

In addition, the following zootechnical performance parameters were evaluated, such as final weight gain (final biomass/final number of fish), biomass gain (final biomass – initial biomass), feed conversion (FC) = feed consumption/total weight gain, average daily weight gain = (final weight – initial weight) / time (days), specific growth rate (feed conversion/days of experiment) and survival = $(100 \times (\text{initial number of tilapia} - \text{final number of tilapia})) / \text{initial number of tilapia}$.

2.5 Body indices of fish

After euthanasia, for morphophysiological analyses, a ventral incision was made to extract the viscera, separating the liver and intestine. The tissues were weighed individually using a ± 0.01 g scale and the indices were calculated according to Deng et al. (2024) ⁽³⁴⁾, given by: viscerosomatic index (VSI, %) = (viscera weight / live weight) $\times 100$ and hepatosomatic index (HSI, %) = (liver weight / live weight) $\times 100$.

2.6 Data analysis

Water quality parameters (DO, pH, temperature, and conductivity) were evaluated under different vitamin C supplementation levels (0, 10, and 20 mg.kg⁻¹) and periods (morning and afternoon), using CONAMA ⁽³⁵⁾ standards as a reference. The effect of time and concentrations was tested via ANOVA, after verification of normality and homogeneity assumptions using Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. For zootechnical performance and hepatosomatic and viscerosomatic indices, ANOVA and Tukey's test were applied for mean comparisons, with assumptions validated by Shapiro-Wilk and Levene's tests. All analyses were processed in R software version 4.3.3 ⁽³⁶⁾. Results were graphically visualized with adjusted means and confidence intervals using the ggplot2 package ⁽³⁷⁾.

3. Results

3.1 Water quality parameters

Water quality parameters remained within suitable levels for tilapia (23 to 28 °C) according to Leonard and Skov ³⁸; however, dissolved oxygen levels were critical, remaining below the 5 mg/L limit established by CONAMA ³⁵ for 97.4% of the time due to negative thermal influence, particularly in the afternoon. The pH showed slight acidification correlated with increasing temperature, while electrical conductivity, though variable, decreased in more acidic waters; notably, none of these parameters were affected by vitamin C supplementation or the tested treatments.

3.2 Zootechnical Performance

Vitamin C supplementation did not significantly affect feed intake ($F_{2,9} = 0.295$, $p = 0.752$), but there was a tendency for higher intake at doses of 10 and 20 mg.kg⁻¹ (Figure 1B). Despite higher feed intake at high doses, this intake did not translate into biomass gain ($F_{2,9} = 1.301$; $p =$

0.319; Figure 1A), daily weight ($F_{2,9} = 1.301$; $p = 0.319$; Figure 1E) or final weight ($F_{2,9} = 2.828$; $p = 0.319$; Figure 1F), suggesting metabolic inefficiency. Paradoxically, growth was significantly affected as vitamin C doses were increased to 10 and 20 mg.kg^{-1} , with individuals growing only 1.73% and 1.76%, respectively ($F_{2,8} = 13$; $p < 0.00306$), unlike the control, which showed 1.9% more growth (Figure 1D).

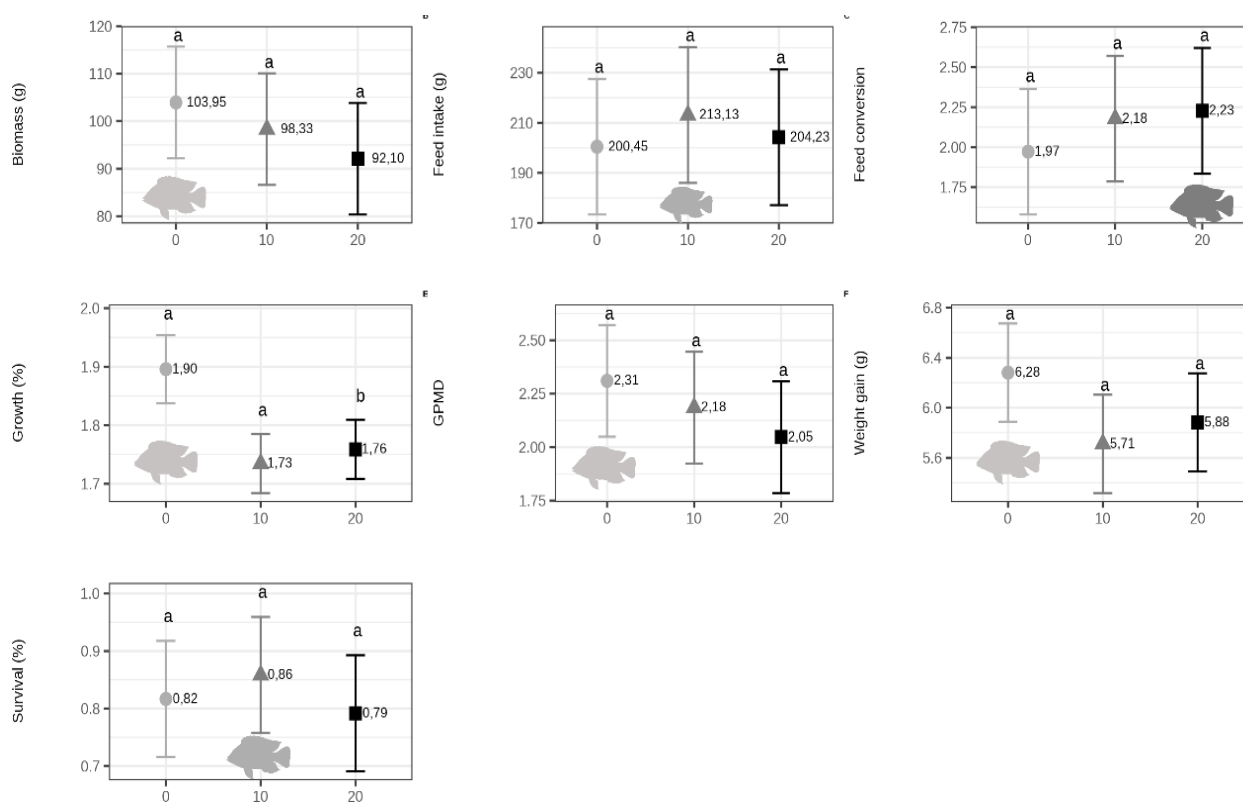


Fig. 1. Zootechnical performance of tilapia with different concentrations of vitamin C supplementation, such as: 0 – control (circle), 10 mg.kg^{-1} (triangle) and 20 mg.kg^{-1} (square), which can also be seen by the gradient from light to dark grey, the same applies to fish. Source: The authors, 2025.

Although not statistically significant ($F_{2,9} = 0.57$; $p = 0.585$), survival was higher at the 10 mg.kg^{-1} dose (86%), but when the dose was increased to 20 mg.kg^{-1} , there was a 7% decrease (Figure 1G).

3.3 Morphophysiological indices: Liver and viscera

The hepatosomatic index (HSI) increased from 1.69% (control) to 1.90% (20 mg.kg^{-1}) with vitamin C supplementation, although without significant difference ($F_{2,55} = 1.782$, $p = 0.179$; Figure 2A). In turn, the viscerosomatic index (VSI) showed greater accumulation of visceral fat in the control group (10.32%) compared to the treatments with 10 mg.kg^{-1} , a reduction of 0.45%, and 20 mg.kg^{-1} with a reduction of 0.14%. However, these differences were also not significant ($F_{2,55} = 0.448$; $p = 0.641$; Figure 2B).

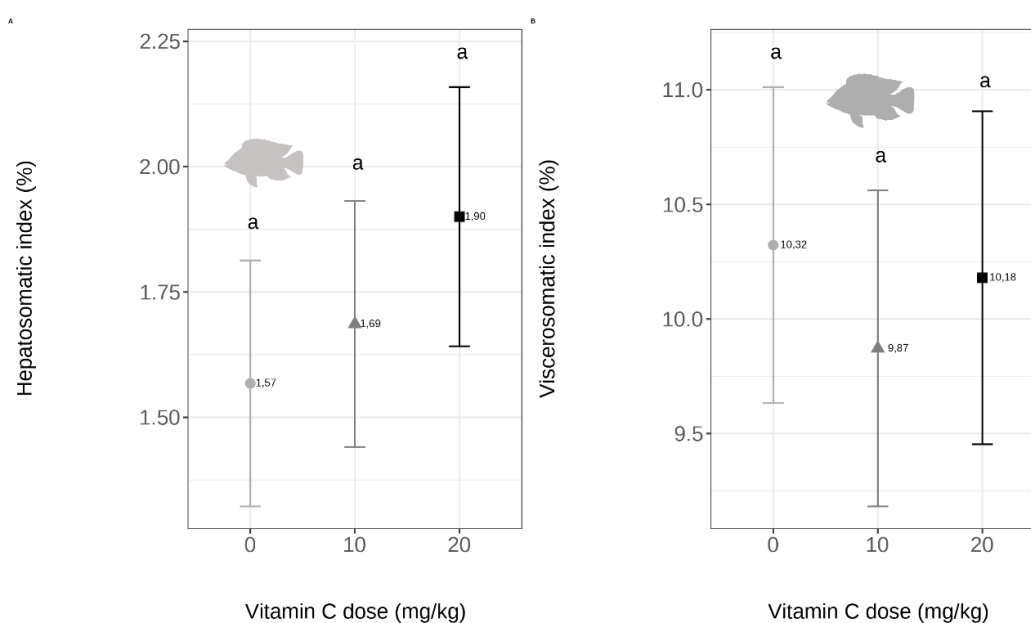


Fig. 2. Hepatosomatic index (A) and viscerosomatic index (B) of tilapia with different concentrations of vitamin C supplementation, such as 0 – control (circle), 10 mg.kg⁻¹ (triangle) and 20 mg.kg⁻¹ (square), which can also be visualised by a gradient from light to dark grey. Source: The authors, 2025.

4. Discussion

Although dissolved oxygen levels remained below the recommended threshold for Nile tilapia during most of the experimental period, all treatments were exposed to the same environmental conditions within the RAS system. Therefore, differences observed among treatments are associated with dietary vitamin C supplementation rather than variations in water quality between treatments.

Thermal stability contrasted with persistent hypoxia, a factor that may have limited metabolism and masked the efficacy of vitamin C Zhang et al.¹¹. This chronic hypoxia scenario can reduce growth and increase oxidative stress in the RAS system^{14, 39, 40}. Additionally, the average pH (6.11) remained below the ideal for the species⁽⁴¹⁾. The lack of vitamin C effect on water physico-chemistry was expected due to its metabolic role⁽⁴²⁾, but the interaction between hypoxia and thermoregulation warrants further investigation.

Regarding zootechnical performance, the discrepancy between higher feed intake and lower growth indicates metabolic inefficiency at the tested doses. Xu et al.⁽²⁰⁾ and Thuy et al.⁽⁴³⁾ suggest that positive effects require much higher doses (≥ 190 or 400 mg.kg⁻¹), while Perera and Bhujel⁽¹⁷⁾ report toxicity as low as 20 mg.kg⁻¹. Our data corroborate Miranda et al.⁽²⁵⁾ regarding the lack of benefits at moderate doses without oxidative stress. Unlike Pebriani et al.⁽³⁾, who mitigated high-density effects with vitamin C, our control group was superior. This divergence may occur because our fish were fry, with lower competition for space and lower waste production.

Metabolic limitation due to low DO⁽⁴⁴⁾ may have exacerbated energy deficiency. Although water heat stress was not evident, even observing that higher temperatures result in higher pH and consequently lower conductivity, the fish were not under stress, as water quality parameters

were within the range tolerated by the species, so vitamin C demand may have been reduced, since its antioxidant role is more critical under heat stress ⁽¹⁸⁾. The study by Miranda et al.²⁵, which also found no benefits of ascorbic acid on performance, suggests that supplementation may be unnecessary when fish are raised under ideal water quality and low stress conditions, a scenario similar to our study.

Another factor that may have influenced this metabolic inefficiency is our basal feed, which contained natural sources of vitamin C (from fish meal and vegetable by-products), which may have supplied basic needs ⁽¹⁰⁾, and the excess may have even hindered feed conversion. The study by Yu et al.²³ found that supplementation with vitamin C alone was inadequate, highlighting the need for combination with other antioxidants. In addition, Miranda et al.²⁵ observed that the highest dosage tested (200 mg.kg⁻¹) resulted in lower feed intake, indicating a possible self-regulation mechanism or change in palatability that may contribute to inefficient nutrient utilisation.

Regarding survival, this pattern suggests the existence of an optimal dosage for survival below or close to 20 mg.kg⁻¹, since the benefit observed at 10 mg.kg⁻¹ was not maintained with the increase in dose. According to Perera and Bhujel¹⁷, the drop in survival at 20 mg.kg⁻¹ suggests a biphasic effect, i.e., it is beneficial at moderate doses but toxic in excess for tilapia. Le et al.¹⁸ demonstrate that vitamin C helps the immune system, as a moderate dose of 10 mg.kg⁻¹ can activate the enzyme lysozyme, which acts in defence against diseases and can fight free radicals, improving fish health and increasing survival rates. However, increasing the vitamin C dose to 20 mg.kg⁻¹ may have been toxic to the fry, causing stress and nutritional imbalance, which reduces survival rates.

It is worth noting that Miranda et al.²⁵ also did not observe any effect of ascorbic acid supplementation (0-200 mg.kg⁻¹) on fry survival, reinforcing that under controlled conditions and in a short experimental period (14 days), supplementation may not be decisive for this parameter. According to Pebriani et al.³, stocking density affects zootechnical parameters such as survival. The authors report that the best survival rate was achieved at a density of 15 fish/aquarium (86.67%), followed by a density of 35 fish/aquarium (75.24%), demonstrating that factors such as crowding stress, when uncontrolled, can negate the benefits of vitamin C.

The increase in the hepatosomatic index (HSI) at higher vitamin C doses may indicate hepatic metabolism activation, including lipogenesis and glycogen synthesis ⁽⁴⁵⁾. As an enzymatic co-factor, vitamin C intensifies energy storage, potentially causing organ hypertrophy or steatosis ^(46,47). This metabolic support aims to meet early growth demands, as reflected by the elevated HSI. Alternatively, Gao et al. ⁽⁴⁸⁾ suggest that excess vitamin C may induce oxidative stress.

The reduction in the viscerosomatic index (VSI) may reflect the action of vitamin C on fatty acid β -oxidation via carnitine synthesis ⁽¹⁹⁾. Ascorbic acid acts as an essential cofactor in L-carnitine biosynthesis ^(49,50), the molecule responsible for transporting fatty acids into the mitochondria. Thus, supplementation optimizes the use of lipids as an energy source, redirecting them toward ATP production. This mechanism prevents visceral fat accumulation, as previously demonstrated in tilapia ⁽⁵⁰⁾.

Our findings, taken together, suggest a redirection of nutrients to the hepatic metabolism of tilapia fry as vitamin C doses increase, to the detriment of feed conversion efficiency during the initial growth phase. Physiologically, the worsening of feed conversion at higher doses is associated with lower weight gain and a reduction in carcass lipid content, indicating accelerated lipid oxidation. At the same time, the increase in nitrogen-free extract (NFE) in the carcass suggests a change in the energy utilisation profile. This picture is consistent with the hypothesis

that excess vitamin C may affect the digestion and absorption of other nutrients, channelling resources into metabolic maintenance processes rather than somatic growth ^(9,17).

5. Conclusions

Vitamin C supplementation at doses of 10 and 20 mg.kg⁻¹ did not improve the zootechnical performance of Nile tilapia fry reared in a recirculating aquaculture system. Although survival tended to increase at 10 mg.kg⁻¹, higher supplementation levels negatively affected growth performance, suggesting possible metabolic inefficiency under the evaluated conditions. Since all treatments were maintained under the same environmental conditions, including chronic low dissolved oxygen levels, the observed responses are associated with dietary supplementation levels. Future studies should evaluate lower vitamin C concentrations under optimized oxygen conditions to better define nutritional requirements during the fry stage.

6. Acknowledgements

The authors thank the Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) and the Aquaculture Laboratory for technical and structural support during the development of this study.

7. References

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Rome: FAO; 2024. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0683en>
- Emam W, Lambert H, Brown C. The welfare of farmed Nile tilapia: a review. *Front Vet Sci*. 2025;12:13. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1234567>
- Pebriani DAA, Negara IKW, Wijayanti NPP, Sudaryatma PE, Wiradana PA. Effect of vitamin C supplementation on the survival rate and histopathological changes of gills and kidneys of tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected by *Aeromonas hydrophyla*. *J Aquac Fish Health*. 2024;13(2):159-70. Disponível em: <https://doi.org/10.1234/jafh.2024.12345>
- Siddique MAB, Mahalder B, Haque MM, Ahammad AKS. Impact of climatic factors on water quality parameters in tilapia broodfish ponds and predictive modeling of pond water temperature with ARIMAX. *Heliyon*. 2024;10(18):e37717. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37717>
- Ahmed MBM, Abdel-Rahman GN, Ali MEM, Saleh EM, Morsy OM, Elgohary MR, et al. Potential health risk assessment for heavy metals in Tilapia fish of different spatiotemporal monitoring patterns in Kafr El-Shaikh and El-Faiyum Governorates of Egypt. *Toxicol Rep*. 2023;10:487-97. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.02.001>
- Bal A, Panda F, Pati SG, Das K, Agrawal PK, Paital B. Modulation of physiological oxidative stress and antioxidant status by abiotic factors especially salinity in aquatic organisms. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2021;241:108971. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108971>
- Aly SM, Abd Allah OA, ElBanna NI, Abdel-Naeim NS, Abdelnaeim NS, Fathi M. Comparative evaluation of antioxidant status, stress, and hepatorenal biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in In-Pond raceway and traditional aquaculture systems. *Fish Physiol Biochem*. 2025;51(4):119-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10695-025-01278-4>

- Madesh S, Gopi S, Sau A, Rajagopal R, Namasivayam SKR, Arockiaraj J. Chemical contaminants and environmental stressors induced teratogenic effect in aquatic ecosystem – A comprehensive review. *Toxicol Rep.* 2024;13:101819. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101819>
- Sherif AH, Khalil RH, Talaat TS, Baromh MZ, Elnagar MA. Dietary nanocomposite of vitamin C and vitamin E enhanced the performance of Nile tilapia. *Sci Rep.* 2024;14(1):15648. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66304-5>
- Kaewda J, Boonanuntanasarn S, Sangsawad P, Manassila P, Nakharuthai C. Enhancement of Growth, Antioxidant Activity, and Immunity in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Through Recombinant *Bacillus subtilis* Expressing L-Gulonolactone Oxidase. *Antioxidants.* 2025;14(1):50. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox14010050>
- Zhang L, Zhang L, Liang H, Huang D, Ren M. Effects of Taurine and Vitamin C on the Improvement of Antioxidant Capacity, Immunity and Hypoxia Tolerance in Gibel Carp (*Carassius auratus gibelio*). *Antioxidants.* 2024;13(10):1169. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox13101169>
- Zimmermann S, Kiessling A, Zhang J. The future of intensive tilapia production and the circular bioeconomy without effluents: Biofloc technology, recirculation aquaculture systems, BIO-RAS, partitioned aquaculture systems and integrated multitrophic aquaculture. *Rev Aquac.* 2023;15(1):22-31. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/raq.12744>
- Li H, Cui Z, Cui H, Bai Y, Yin Z, Qu K. A review of influencing factors on a recirculating aquaculture system: Environmental conditions, feeding strategies, and disinfection methods. *J World Aquac Soc.* 2023;54(3):566-602. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jwas.12945>
- Refaey MM, Zghebr FE, Mansour AT, Mehri AI. Effect of different aquaculture systems on chronic hypoxia tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: growth rate, physiological responses, oxidative stress biomarkers, and flesh quality. *Aquacult Int.* 2025;33(2):130-45. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01500-7>
- Mustafa A, Belavilas M, Hossain R, Mishu I. Immunological effects of vitamin c and zinc on tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to cold water stress. *PLoS One.* 2024;19(9):e0311078. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0311078>
- Ibrahim RE, Ahmed SAA, Amer SA, Al-Gabri NA, Ahmed AI, Abdel-Warith AWA, et al. Influence of vitamin C feed supplementation on the growth, antioxidant activity, immune status, tissue histomorphology, and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquac Rep.* 2020;18:100545. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100545>
- Perera AD, Bhujel RC. Potential role of L-ascorbic acid with Field cricket (*Gryllus bimaculatus*) meal in diets of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during sex reversal and nursing. *Isr J Aquac.* 2021;73:1-17. Disponível em: <https://doi.org/10.46989/001c.21514>
- Le MH, Hua DNT, Dinh KV, Manh NV. Dietary vitamin C can alleviate the lethal effects of extreme temperature on juveniles of cobia *Rachycentron canadum*. *Fish Aquat Sci.* 2025;28(2):120-33. Disponível em: <https://doi.org/10.47853/FAS.2025.e11>
- Navarro RD, Martins TPA, Pereira MM. Vitamin C dietary supplementation influence tadpoles of bullfrog *Lithobates catesbeianus* reared in low water temperature. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2021;58:e168438. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.168438>
- Thuy NT, Dinh KV, Manh NV, Trang TS. Determining the optimal range of vitamin C for ear-

ly red drum (*Sciaenops ocellatus*) juveniles. *Fish Aquat Sci.* 2023;26(9):525-34. Disponível em: <https://doi.org/10.47853/FAS.2023.e46>

Javanmardi S, Rezaei Tavabe K, Rafiee G, Moradi S, Sivaji D. Assessment of vitamin C different levels in aquaponic system on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and saffron (*Crocus sativus*): growth performances, hematology, serum biochemistry, and digestive enzyme activity. *Aquacult Int.* 2022;30(4):2145-63. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00884-w>

Bergstedt JH, Pfalzgraff T, Skov PV. Hypoxia tolerance and metabolic coping strategies in *Oreochromis niloticus*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2021;257:110956. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.110956>

Yu H, Mushtaq M, Razzaq S, Ali U, Khan M, Rahman A, et al. Effects of dietary organic selenium, vitamin C, and vitamin E supplementation on growth performance, serum biochemistry, and antioxidant status in juvenile *Hypophthalmichthys molitrix*. *Front Mar Sci.* 2025;12:1555994. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1555994>

Xu C, Yu H, Li L, Li M, Qiu X, Fan X, et al. Effects of Dietary Vitamin C on the Growth Performance, Biochemical Parameters, and Antioxidant Activity of Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) Postsmolts. *Aquac Nutr.* 2022;2022:6866578. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/6866578>

Miranda JPS, Ferreira AHC, Araújo AF, Rodrigues EM, Gomes AV, Freitas AKS. Ácido ascórbico em rações para alevinos de tilápias do nilo. *Cienc Anim.* 2025;35(1):21-32. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v35e1-78901P>

Arumugam M, Jayaraman S, Sridhar A, Venkatasamy V, Brown PB, Abdul Kari Z, et al. Recent Advances in Tilapia Production for Sustainable Developments in Indian Aquaculture and Its Economic Benefits. *Fishes.* 2023;8(4):176. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fishes8040176>

Biller JD, Takahashi LS. Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *An Acad Bras Cienc.* 2018;90(4):3403-14. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180312>

Shastak Y, Pelletier W. Vitamin A in Fish Well-Being: Integrating Immune Strength, Antioxidant Capacity and Growth. *Fishes.* 2024;9(8):330. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fishes9080330>

Nakayama CL, Silva LFS, Santos FAC, Boaventura TP, Favero GC, Palheta GDA, et al. Zootechnical Performance and Some Physiological Indices of Tambaqui, *Colossoma macropomum* Juveniles during Biofloc Maturation and in Different Feed Regimes. *Agriculture.* 2022;12(7):1025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture12071025>

David-Ruales C, Machado Fracalossi D, Collazos-Lasso F. Zootechnical Parameters and Enzyme Activity in the Species *Brycon moorei* (Steindachner 1878). *Fishes.* 2023;8(12):592. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fishes8120592>

Sim YJ, Cho SH, Kim KW, Jeong SM. Effect of substituting fish meal with various by-product meals of swine-origin in diet on olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquac Rep.* 2023;33:101844. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101844>

Sallam GR, El Basuini MF, Alhoshy M, Al-Absawey MA, Habib YJ, Elhetawy AIG, et al. Strategic application of biofloc technology for optimizing physiological homeostasis and reproductive efficiency in red tilapia (*Oreochromis spp.*) broodstock under long-term rearing conditions.

- Aquacult Int. 2025;33(6):464-78. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01500-8>
- CONCEA. Órgão: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação/Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diário Oficial da União, No 67, de 2 de Maio de 2023. 2023. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-concea-n-67-de-2-de-maio-de-2023-480854235>
- Deng Q, Feng Z, Xiang J, Wu H, Yang X, Zhang Z, et al. Comparative Analysis of Intestinal Morphology and Gut Microbiota of *Spinibarbus sinensis* Under Different Aquaculture Systems. *Biology*. 2024;13(11):869. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology13110869>
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, No 357, de 17 de Março de 2005. 2005. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing; 2025. Disponível em: <https://www.R-project.org/>
- Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York; 2016. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>
- Leonard JN, Skov PV. Capacity for thermal adaptation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects on oxygen uptake and ventilation. *J Therm Biol*. 2022;105:103206. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103206>
- Mengistu SB, Mulder HA, Benzie JAH, Komen H. A systematic literature review of the major factors causing yield gap by affecting growth, feed conversion ratio and survival in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Rev Aquac*. 2020;12(2):524-41. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/raq.12345>
- Roy SM, Choi H, Kim T. Review of state-of-the-art improvements in recirculating aquaculture systems: Insights into design, operation, and statistical modeling approaches. *Aquaculture*. 2025;605:742545. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742545>
- Wambua DM, Home PG, Raude JM, Ondimu S. Environmental and energy requirements for different production biomass of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in recirculating aquaculture systems (RAS) in Kenya. *Aquac Fish*. 2021;6(6):593-600. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.01.001>
- Barros MM, Pezzato LE, Kleemann GK, Hisano H, Rosa GJ. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev Bras Zootec*. 2002;31(6):2149-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000900001>
- Xu C, Yu H, Li L, Li M, Qiu X, Fan X, et al. Effects of Dietary Vitamin C on the Growth Performance, Biochemical Parameters, and Antioxidant Activity of Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) Postsmolts. *Aquac Nutr*. 2022;2022:6866578. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/6866578>
- Youssuf H, Soror EI, Shehab A, El-daim AM, Abo-Gamil ZH, Ahmed-Farid O, et al. Amelioration of hypoxia and cold stress in Nile tilapia: comparative effect of *Chlorella vulgaris* and its nanoparticle dietary supplementation on performance, antioxidant, hepatic functions, and meat quality. *Aquacult Int*. 2025;33(1):1-15. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01739-2>
- Xie N, Zhang J, Jiang M, Meng X, Dong L, Lu X, et al. Effects of lipid levels on growth perfor-

mance and glucose and lipid metabolism of adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high carbohydrate diets. *Aquac Rep.* 2025;40:102639. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102639>

Siagian DR, Jusadi D, Ekasari J, Setiawati M. Dietary α -lipoic acid supplementation to improve growth, blood chemistry, and liver antioxidant status of African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquacult Int.* 2021;29(5):1935-47. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00730-5>

Mechaly AS, Elizur A, Escobar-Aguirre S, Hirt-Chabbert J, Inohuye-Rivera RB, Knibb W, et al. Advances in Reproduction, Nutrition and Disease Research in the Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*) Aquaculture. *Rev Aquac.* 2025;17(3):e70034. Disponible em: <https://doi.org/10.1111/raq.70034>

Gao J, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S, Mamauag RE. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. *Aquaculture.* 2014;422-423:84-90. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.003>

Rebouche C. Ascorbic acid and carnitine biosynthesis. *Am J Clin Nutr.* 1991;54(6):1147S-1152S. Disponible em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.6.1147s>

Dos Santos Sanchez MS, Rodrigues ML, Pessini JE, Bittencourt F, Boscolo WR, Signor A. Assessment of the relative bioavailability between betaine and L-carnitine for Nile tilapia. *Aquacult Int.* 2025;33(1):80-92. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01501-6>

Análisis de dos métodos de extracción de ADN a partir de muestras de tejidos del híbrido intergenérico (surubí híbrido).

Analysis of two methods of DNA extraction from tissue samples of the intergeneric hybrid (surubí hybrid).

Liz Aurora Castro Rojas^{1*}; Viviana María Ríos Morínigo²; Rodrigo Celedonio Romero Rolón²; Elvio Gayozo Melgarejo³; Miguel Ángel Vargas Arrellaga²; Carmen Eugenia Barrios²; Ruth Natasha Vargas Flores⁴; Rubén Darío Duré Meza⁵; Liu Heng-Hsin⁶

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Dpto. Genética y Zootecnia.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Dpto. de Pesca y Acuicultura.

³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Dpto. de Biología.

⁴Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Estudiante de grado.

⁵ Universidad Católica “Nuestra Señora de la Asunción”, Facultad de Ciencias de la Salud.

⁶Misión Técnica de la República de China (Taiwán).

Correo electrónico: *lcastro@vet.una.py

Resumen

El aislamiento de ADN genómico es un paso fundamental para la aplicación de las diferentes técnicas moleculares. Los protocolos de extracción deben permitir un buen rendimiento y calidad a partir de muestras biológicas no invasivas. El objetivo de esta investigación fue comparar dos métodos de extracción a partir de muestras de tejidos de tres regiones corporales del híbrido intergenérico (surubí híbrido). Fueron analizadas aleta adiposa, branquias y aleta caudal de un total de ocho ejemplares, totalizando 24 muestras. Los protocolos de extracción utilizados fueron resina Chelex-100 y precipitación salina y las variables analizadas fueron concentración, pureza y calidad del ADN obtenido. Los resultados demostraron que se obtuvo mejor rendimiento y calidad de ADN con el método de precipitación salina. En tanto, la pureza, no presentó diferencias entre ambos métodos. Respecto al tipo de tejido, la extracción salina no mostró variaciones de concentración entre las branquias y la aleta caudal, aunque esta última exhibió una calidad superior. En conclusión, el método de precipitación salina a partir de muestras de aleta caudal constituye una alternativa para la obtención de ADN en esta especie.

Palabras clave

Calidad de ADN, Chelex-100, precipitación salina, siluriformes, piscicultura.

Abstract

Genomic DNA isolation is a fundamental step for the application of different molecular techniques. Extraction protocols must allow for good yield and quality from non-invasive biological samples. The objective of this research was to compare two extraction methods using tissue samples from three body regions of the intergeneric hybrid (hybrid surubí catfish). Adipose fin, gills, and caudal fin were analyzed from a total of eight specimens, yielding 24 samples. The extraction protocols used were Chelex-100 resin and saline precipitation, and the variables

analyzed were concentration, purity, and quality of the DNA obtained. The results showed that better yield and quality of DNA were obtained with the saline precipitation method. Purity, however, showed no differences between the two methods. Regarding tissue type, saline extraction showed no concentration variations between the gills and the caudal fin, although the latter exhibited superior quality. In conclusion, the saline precipitation method using caudal fin samples constitutes an alternative for obtaining DNA in this species.

Keywords

DNA quality, Chelex-100, saline precipitation, siluriform, fish farming.

Introducción

La obtención de material genético de alta calidad es un paso esencial en los estudios de genética y biología molecular (Ruggieri et al., 2016). En este contexto, en el proceso de purificación de los ácidos nucleicos son indispensables las siguientes etapas: disrupción tisular, desnaturalización de nucleoproteínas, inactivación de nucleasas y eliminación de contaminantes e inhibidores de la reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Tan y Yiap, 2009). A lo largo del tiempo se han diseñado distintas técnicas de extracción para garantizar una óptima cantidad y calidad de ADN. Por un lado, los métodos tradicionales que se basan en la utilización de solventes orgánicos, siendo el fenol-cloroformo el más utilizado, debido a que presenta una alta pureza y cumple con los requisitos de múltiples experimentos. Sin embargo, presenta ciertas limitaciones, como la efectividad, la preparación de soluciones y el tiempo de procesamiento de las muestras, que puede ir desde unas horas hasta varios días por los numerosos pasos que deben realizarse. Además, las trazas de fenol pueden potencialmente dificultar la amplificación por PCR (Willard et al., 1998). Por otro lado, se encuentran los kits comerciales de extracción con matrices inorgánicas o perlas magnéticas, los cuales precisan menos tiempo de procesamiento (variando de 1 a 2 horas); no obstante, su costo relativamente alto y la necesidad de equipamiento de laboratorio limitan su aplicación (Alejos, Aragón y Cornejo, 2014; Gui et al., 2022).

Por lo tanto, se necesitan métodos de extracción más sencillos, prácticos y rentables. El método de precipitación salina, llamado también *salting-out*, es una técnica de extracción de ADN descrita originalmente por Miller, Dykes y Polesky en 1988 (Dairawan y Preetha, 2020). Este se basa en la utilización de altas concentraciones de sales (como NaCl 6M), para precipitar las proteínas y separar el ADN. Las ventajas de este protocolo radica en la alta calidad del ADN obtenido, a su vez, una mayor eficiencia en términos de tiempo y costo, y el uso de reactivos que no son tóxicos (Miller et al., 1988). En el año 2011 Xiong, Ligun y Chen patentaron un método de extracción utilizando Chelex-100 (Dairawan y Preetha, 2020). La resina Chelex-100 actúa como un agente quelante con alta afinidad por iones metálicos polivalentes; esta rompe las membranas celulares de un número limitado de células, liberando su ADN mediante ebullición y protegiéndolo de la degradación a través de iones metálicos quelados (Yang et al., 2024). Entre los beneficios de este método se incluye que es rápido, sencillo y no requiere el uso de disolventes orgánicos ni la preparación o transferencia extensas de muestras (Mao et al., 2013). Además, existe un menor riesgo de contaminación y pipeteo incorrecto, ya que el procedimiento solo implica el uso de un único microtubo y pocos pasos de manipulación (Woodard, Howard y Down, 1993). Una vez garantizada la calidad del ADN genómico extraído, se pueden evitar gastos innecesarios de recursos financieros y tiempo, favoreciendo el desarrollo de técnicas moleculares exitosas, como la PCR, la secuenciación y la clonación molecular (Ruggieri et al., 2016).

El objetivo de estudio fue comparar el método de Chelex-100 y precipitación salina a partir de muestras de tejidos de tres regiones corporales (aleta adiposa, branquias y aleta caudal) del híbrido intergenérico denominado surubí híbrido, resultante del cruzamiento entre *Pseudoplatystoma reticulatum* y *Pimelodus maculatus* criados en estanques en el Departamento de Pesca y Acuicultura, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Materiales y Métodos

Muestras

En este estudio, se analizaron un total de 24 muestras obtenidas de tres regiones corporales diferentes (aleta adiposa, branquias y aleta caudal) de 8 ejemplares de surubí híbrido (Figura 1). Las muestras de tejido fueron recolectadas en el año 2024, previa eutanasia de los peces, en el Departamento de Pesca y Acuicultura. Todas las muestras se encontraban conservadas a -20°C en microtubos con etanol al 96-100%, como parte del banco de tejidos del Laboratorio del Departamento de Genética y Zootecnia de la Facultad de Ciencias Veterinarias.

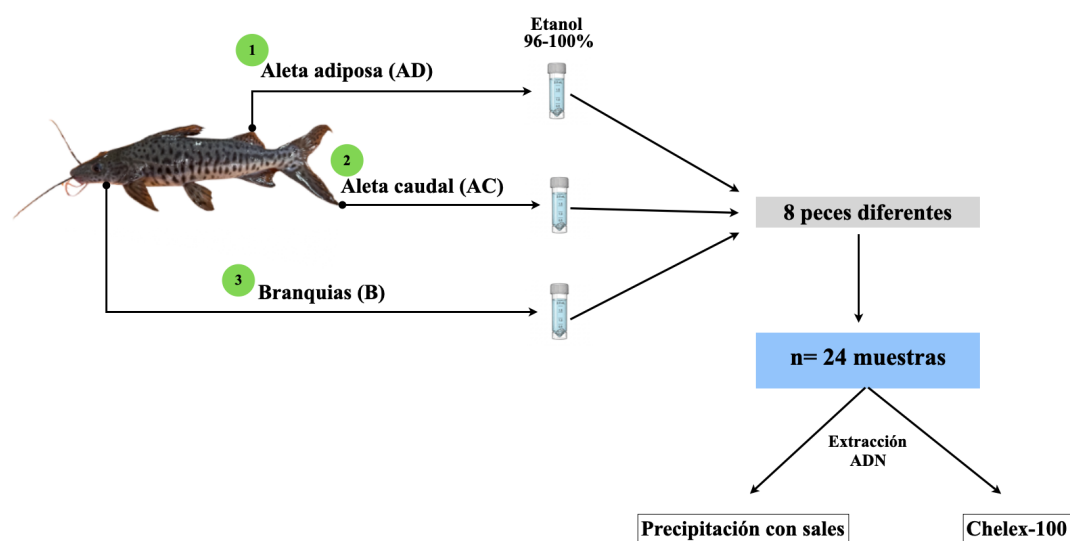


Figura 1. Detalle del diseño experimental para la obtención, conservación y extracción de ADN a partir de muestras de peces de surubí híbrido.

Preparación de las muestras

La preparación de las muestras consistió en seccionar aproximadamente 5 mm de cada tejido con una tijera de disección; posteriormente, estos se presionaron sobre papel absorbente para eliminar el etanol residual y evitar interferencias con los análisis posteriores. A continuación, los tejidos se colocaron en microtubos estériles de 1,5 mL y se trituraron minuciosamente hasta obtener una masa homogénea.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó según el método de precipitación salina y el de resina Chelex-100. Estos protocolos fueron seleccionados por su asequibilidad, automatización, seguridad y rapidez.

Extracción de ADN mediante resina Chelex-100: la muestra de tejido se mezcló con 100 µL de solución de Chelex al 5% y se agitaron con vórtex (Modelo S0200, Labnet International, Edison, Estados Unidos). Las muestras se centrifugaron en microcentrífuga (Modelo 5810R, Eppendorf, Alemania) a 14000 rpm durante 2 minutos e incubaron a 95 °C en bloque térmico (Modelo MDB100, Joanlab, Zhejiang, China) durante 20 minutos. Luego, se volvió a pasar por vortex y se enfriaron en hielo. Finalmente, la suspensión de ADN se centrifugó a 14000 rpm durante 2 minutos y se almacenó a 4 °C (Rodríguez-Riveiro, Velasco y Sotelo, 2022).

Extracción de ADN mediante precipitación salina o *salting-out*: Se utilizó el protocolo de Aljanabi y Martínez (1997), con algunas modificaciones. El tejido se homogeneizó en 400 µl de tampón de homogeneización salina estéril (0,4 M NaCl, 10 mM Tris±HCl pH 8,0 y 2 mM EDTA pH 8,0). A continuación, se añadieron 40 µl de SDS al 20 % y 8 µl de proteinasa K a 20 mg/µl, y se mezclaron suavemente por inversión. Las muestras se incubaron a 56,5 °C en bloque térmico (Modelo MDB100, Joanlab, Zhejiang, China) durante toda la noche, tras lo cual se añadieron 300 µl de NaCl (6 M) a cada muestra. Las muestras se agitaron en vórtex (Modelo S0200, Labnet International, Edison, Estados Unidos) durante 30 segundos a máxima velocidad y se centrifugaron durante 20 minutos a 10000 g en una microcentrífuga (Modelo 5810R, Eppendorf, Alemania). El sobrenadante se transfirió a un microtubo nuevo. Se añadió un volumen igual de isopropanol a cada muestra. Se mezclaron bien por inversión y las muestras se incubaron a -20 °C durante 1 hora. A continuación, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 4 °C y 10000 g y se descartó el sobrenadante. El precipitado se lavó con etanol al 100 %, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 4 °C y 10000 g y se volvió a descartar el sobrenadante. Se realizó un segundo lavado con etanol al 70 %, y se repitió el centrifugado anterior, se secó, dejando invertido por 1 hora, y finalmente se resuspendió en 40 µl de agua estéril.

Determinación de la cantidad y calidad de ADN

Se determinó el rendimiento y la pureza del ADN con un espectrofotómetro digital UV-VIS de microvolumen (AELAB, Beijing, China). La calidad en términos de fragmentación del ADN, se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% (Promega, Madison, Estados Unidos). La tinción se realizó con los colorantes Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, Estados Unidos) y SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos) conforme a las indicaciones de los fabricantes. La corrida electroforética se realizó en tampón TAE 1X (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos) a un voltaje constante de 70 V durante 30 minutos y la visualización de las bandas se realizó bajo un sistema de documentación de geles con un transiluminador UV (Infitek, Shanghai, China). El tamaño del ADN se estimó utilizando el marcador de 100 pb (Promega, Madison, Estados Unidos).

Análisis estadísticos

Los datos se expresaron como medianas y rangos intercuartiles. La concentración y pureza entre los dos métodos se compararon con la prueba U de Mann-Whitney. Las diferencias entre tejidos se evaluaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y el test post-hoc de Dunn. Se utilizó PAST v5.0 para el análisis estadístico y GraphPad Prism 6 para los gráficos. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas al nivel del 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Los rendimientos de ADN genómico mostraron diferencias en relación con el método de ex-

tracción y el tipo de tejido seleccionado (Tabla 1).

Tabla 1. Valores medios y desviaciones estándar de las muestras de tejido según los métodos de extracción por Chelex-100 y precipitación salina.

Tipo de tejido	Métodos de extracción	
	Chelex-100 (ng/ μ L)	Precipitación salina (ng/ μ L)
Aleta adiposa (AA)*	176 $\pm$ 136,7	755,8 $\pm$ 687,8
Branquias (B)*	786,3 $\pm$ 461,4	2105,2 $\pm$ 1255,3
Aleta caudal (AC)*	294,3 $\pm$ 203,05	1273,5 $\pm$ 891,3

*Tamaño de la muestra por tejido=8 para cada combinación de tejido y método.

El protocolo de extracción por precipitación salina demostró concentraciones significativamente mayores de ADN ($p < 0,05$) en comparación con el método Chelex-100 en todos los tejidos analizados. Esta diferencia fue aún más pronunciada en la aleta caudal, donde el método de precipitación salina superó notablemente al de Chelex-100 ($p < 0,01$) (Figura 1A). Por otro lado, la pureza del ADN (Figura 1B) no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre ambos protocolos en los tres tejidos analizados.

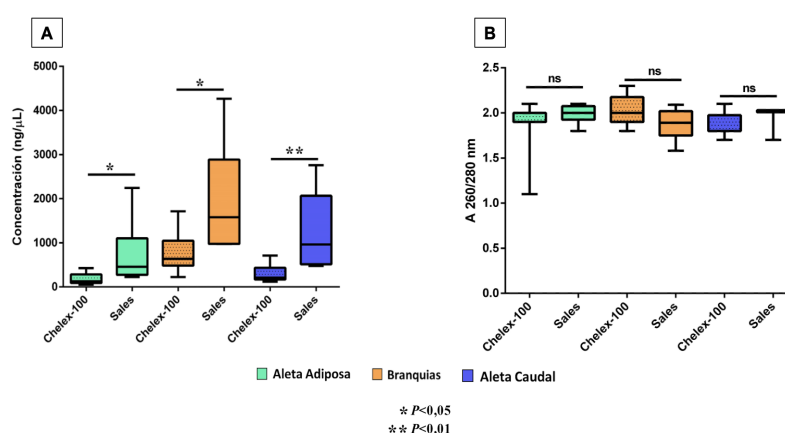


Figura 1. Diagrama de caja y bigotes para la comparación de la (A) concentración (ng/μl) y (B) pureza (A260/A280) de ADN obtenido mediante los métodos de Chelex-100 y precipitación salina en los tres tipos de tejidos analizados.

Al evaluar el efecto del tipo de tejido dentro de cada protocolo de extracción, el tejido branquial presentó concentraciones significativamente mayores ($p < 0,05$) con ambos métodos de extracción (Figura 2 A y B). En el protocolo Chelex-100, las aletas adiposas y caudales presentaron los rendimientos más bajos sin diferencias entre sí, mientras que en el método de precipitación salina, la aleta caudal exhibió un rendimiento intermedio que no difirió estadísticamente de las branquias ni de la aleta adiposa.

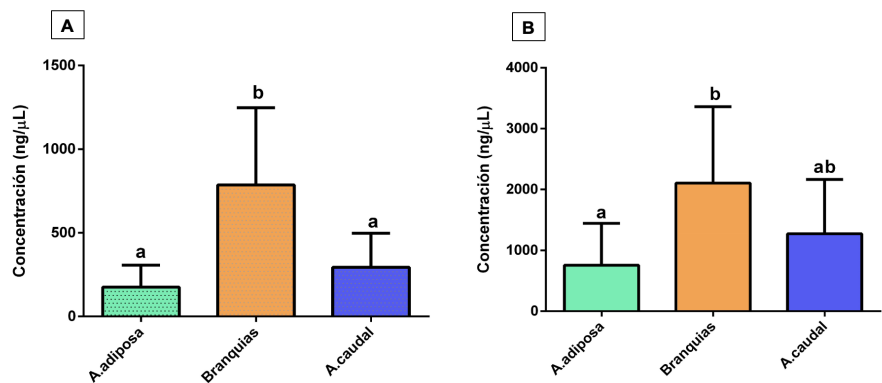


Figura 2. Comparación en la concentración (ng/μl) de ADN entre los tres tipos de tejidos para cada método de extracción. (A) Método Chelex-100. (B) Método de precipitación salina. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tejidos dentro de un mismo método ($p < 0,05$).

La corrida electroforética confirma las diferencias en el rendimiento y en la calidad del ADN genómico (Figura 3). Los carriles correspondientes al método de precipitación salina exhibieron bandas de fluorescencia intensas tras la tinción con Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, Estados Unidos) en la zona superior del gel (lo que indicó una alta concentración de ADN de alto peso molecular en los tres tipos de tejidos) (Tabla 2), aunque acompañadas de un barrido vertical (*smear*) atribuible al exceso de carga de ADN o procesos parciales de degradación. En contraste, en la extracción con resina Chelex-100 se observó un barrido vertical en la muestra de branquias indicativo de degradación o fragmentación del material genético, mientras que en las muestras de aleta adiposa y caudal las bandas fueron prácticamente imperceptibles.

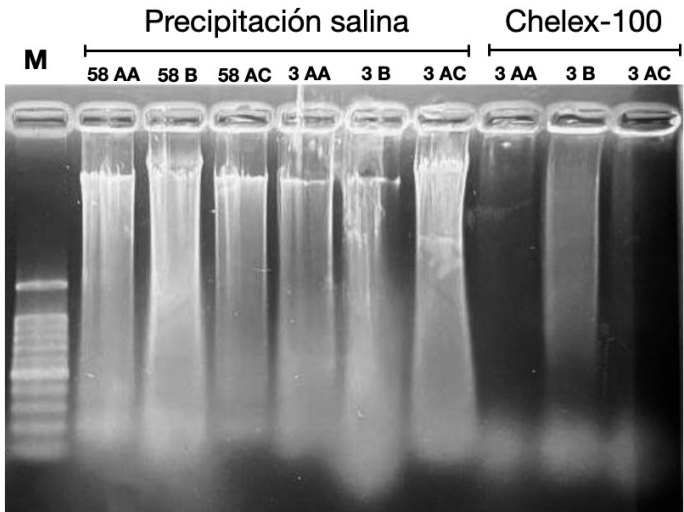


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, Estados Unidos). que muestra la integridad del ADN genómico extraído de diferentes tejidos. M: Marcador de peso molecular de 100 pb. AA: Aleta adiposa; B: Branquias; AC: Aleta caudal. Los primeros seis carriles corresponden al método de precipitación salina (2 peces diferentes: 58 y 3) y los tres últimos al método de resina Chelex-100.

Tabla 2. Concentración y pureza del ADN genómico de las muestras seleccionadas para la corrida electroforética.

Método de extracción	Nº carril	Tejido*	Concentración (ng/μL)	Pureza (A260/A280)
Precipitación salina	2	58 AA	363,3	2,0
	3	58 B	2353,3	2,0
	4	58 AC	3982,7	1,8
	5	3 AA	396,0	2,1
	6	3 B	1212,2	2,0
	7	3 AC	1357,4	2,0
Chelex-100	8	3 AA	155,3	2,0
	9	3 B	1072,0	1,6
	10	3 AC	710,5	1,9

*AA: Aleta adiposa; B: Branquias; AC: Aleta caudal. El número 58 y 3 hace referencia a la identificación de los peces.

Con base en los resultados, se realizó una segunda corrida electroforética (Figura 4), la cual fue teñida con SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos). En esta se utilizó una sola muestra del individuo 3, pero con los tres tipos de tejidos y con cuatro tipos de métodos de extracción: precipitación salina con *ARNasa* (20 mg/mL HiMedia, India), precipitación salina con ADN diluido a 100 ng/μL, Chelex-100 con ADN diluido a 100 ng/μL y Chelex-100 convencional. Tras la digestión enzimática, se observó la atenuación y eliminación del barrido vertical en las muestras obtenidas por precipitación salina (3AA *ARNasa* y 3B *ARNasa*). Por el contrario, en los carriles correspondientes a las extracciones con Chelex-100 (tanto el convencional como el diluido) no se evidenció la presencia de bandas de ADN íntegro. En contraste, en la muestra 3AC *ARNasa* no se observó banda de ADN, sugiriendo pérdida de la muestra durante este procedimiento. Sin embargo, las muestras extraídas con precipitación salina convencional con ADN diluido a 100 ng/μL, evidenciaron presencia de bandas de ADN íntegras y definidas (3AA P. Salina diluido, 3B P. Salina diluido y 3AC P. Salina diluido).

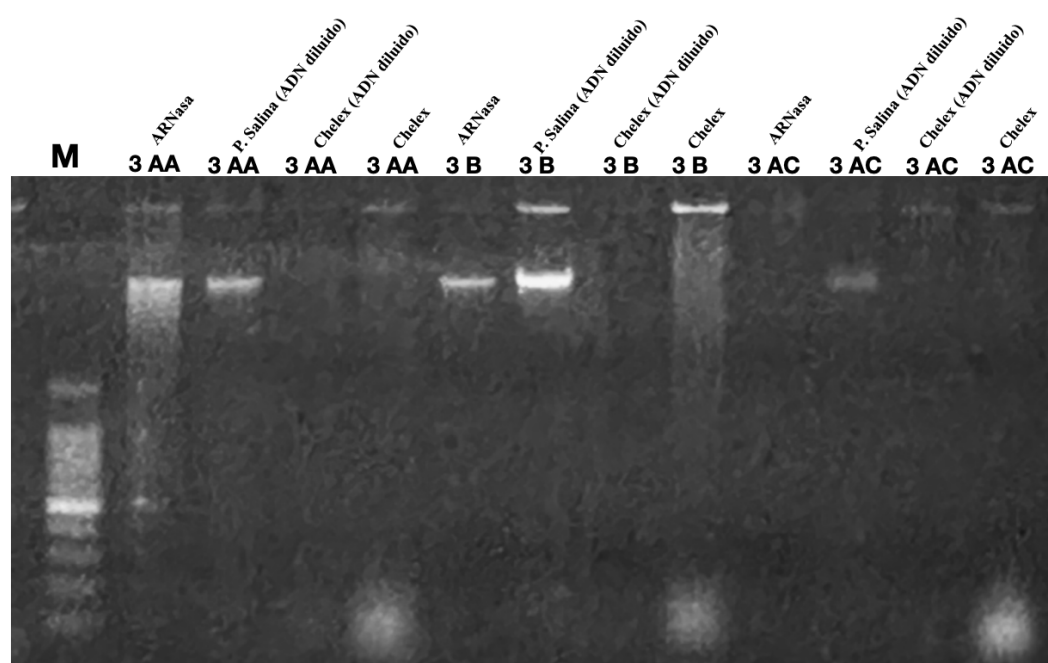


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos) de los productos de extracción de ADN genómico del individuo 3 con los tres tipos de muestras de tejido (AA: aleta adiposa, B: branquias y AC: aleta caudal). M: Marcador de peso molecular de 100 pb. Para cada tejido se presentan de izquierda a derecha, cuatro métodos de extracción: *ARNasa* (precipitación salina con tratamiento de *ARNasa*), P. Salina (precipitación salina convencional con ADN diluido a 100 ng/μL), Chelex (ADN diluido) (extracción con Chelex-100 y ADN posterior diluido a 100 ng/μL y Chelex (extracción con Chelex-100 convencional).

Discusión

Los resultados de este estudio evidencian que el método de extracción por precipitación salina ofrece un mejor rendimiento e integridad del ADN genómico en comparación con el protocolo de resina Chelex-100. Sin embargo, la pureza no mostró diferencias estadísticas significativas entre ambos métodos.

La cantidad y calidad del ADN extraído constituyen factores críticos para garantizar el éxito y la reproducibilidad en genética molecular (Ruggieri *et al.*, 2016). Bajo este contexto, diversos estudios que emplearon el método de extracción salina con modificaciones reportaron rendimientos e integridad óptimos (Lopera-Barrero *et al.*, 2008; Lutz *et al.*, 2023; Muhammad *et al.*, 2016). A su vez, la pureza es esencial para lograr una amplificación exitosa por PCR (Rodríguez-Riveiro *et al.*, 2022). Las relaciones de A260/A280 entre 1,7-2,1 se consideran indicadores de muestras puras de ácidos nucleicos, libres de contaminación como es la presencia de materia orgánica y restos de disolvente (Desjardins & Conklin, 2010; Ferrara *et al.*, 2006; Lopera-Barrero *et al.*, 2008). Cuando estos residuos están presentes en las muestras de ADN, los pasos posteriores de los análisis genéticos, como la PCR, pueden verse comprometidos ya que actúan como inhibidores, por lo que es un aspecto crítico a evaluar durante los procedimientos de extracción de ADN (Wahlberg *et al.*, 2012). En base a lo expuesto, los valores de pureza para ambos métodos, estuvieron en el rango, aunque algunas muestras se encontraron fuera de los límites de pureza.

Con relación a la corrida electroforética, la visualización de bandas nítidas obtenidas mediante el método de precipitación salina con muestras de ADN diluidas a 100 ng/μL, confirmó la presencia de material genético íntegro y no degradado (Figura 4). Si bien, en este estudio, se utilizaron muestras extraídas por el método de extracción salina, tanto tratadas como no tratadas con *ARNasa*, se observaron mejores resultados en las muestras que no recibieron dicho tratamiento. Por otro lado, en las muestras extraídas con Chelex-100, no se visualizaron bandas claras y visibles (Figura 3 y 4), aun con altas concentraciones de ADN (Tabla 2), esto podría atribuirse a que el mencionado método, es menos preciso en la extracción. No obstante, el ADN obtenido puede ser utilizado para experimentos posteriores demostrando una mejor eficiencia por PCR (Yang *et al.*, 2024).

Entre los diferentes procedimientos para obtener ADN, el muestreo no invasivo resulta muy atractivo. Se considera que el término “no invasivo” debería reservarse estrictamente para muestras que se pueden recolectar sin necesidad de perturbar o capturar al animal (Joshi *et al.*, 2018; Waits y Paetkau, 2005). Según esta definición, las escamas y aletas, se considerarían muestras invasivas, ya que requieren ser extraídas físicamente de los peces. Sin embargo, se consideran no invasivos, porque no son letales, generan un estrés agudo leve y no alteran en gran medida la salud de los peces (Cano-Rocabayera, Maceda-Veiga y Sostoa, 2015; Jardine, Hunt, Pusey y Bunn, 2011).

En ese contexto, el aislamiento de ADN a partir de escamas y aletas es deseable debido a que permite obtener material biológico para estudios genéticos mediante muestreos considerados no invasivos (Kumar *et al.*, 2007). No obstante, estos tejidos suelen dar como resultado una baja cantidad de ADN, por su dureza y pequeño tamaño. Una alternativa para obtener un mayor rendimiento es a partir de tejidos blandos como sangre, músculo e hígado, pero el aislamiento de ADN de estos tejidos requiere el sacrificio de los animales (Wasko *et al.*, 2003). En esta investigación, los resultados evidenciaron que el tejido branquial presentó mejor rendimiento (Tabla 1) en relación a la aleta adiposa y aleta caudal con el método de Chelex-100, sin embargo con el protocolo de precipitación salina, aleta caudal presentó una concentración intermedia. Un aspecto crítico a evaluar es la naturaleza de la matriz biológica, si bien el tejido branquial fue superior en cantidad y calidad, la obtención en animales vivos resulta muy invasiva, por lo tanto, se recomienda el uso de aleta caudal como tejido para el aislamiento de ADN utilizando precipitación salina.

Conclusiones

El protocolo de extracción salina presentó un rendimiento superior en términos de concentración e integridad en comparación con el método Chelex-100. Respecto al tipo de tejido, se recomienda el uso de la aleta caudal procesada mediante la precipitación salina, ya que la obtención de este tejido es menos invasivo para la recolección de muestras en animales vivos.

Agradecimientos

A la Dra. Luz Cardozo, del Departamento de Microbiología e Inmunología; a la Dra. María Paz Benítez y al Dr. Julio Ovelar, del Departamento de Reproducción Animal; a la Lic. Graciela Ruíz Díaz, del Departamento de Patología Clínica, por facilitar el uso de sus equipos y asistencia técnica en la preparación de los reactivos necesarios para este estudio.

Referencias

- Aljanabi, S. y Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high-quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.* 15 (22). 4692-4693. <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
- Alejos, L. P., Aragón, M. C., & Cornejo, A. (2014). Extracción y purificación de ADN. En A. Cornejo, A. Serrato, B. Rendón, & M. G. Rocha (Coords.), *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (pp. 1–20). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático; Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
- Cano-Rocabayera, O., Maceda-Veiga, A., & De Sostoa, A. (2014). Fish fins and scales as non-lethally sampled tissues for stable isotope analysis in five fish species of north – eastern Spain. *Environmental Biology Of Fishes*, 98(3), 925-932. <https://doi.org/10.1007/s10641-014-0328-6>
- Dairawan, M. y Preetha, S. (2020). The evolution of DNA extraction methods. *Am J Biomed Sci & Res.* 39-45. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2020.08.001234>

- Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *Journal Of Visualized Experiments*, 1. <https://doi.org/10.3791/2565>
- Ferrara, G., Murgia, B., Parodi, A., Valisano, L., Cerrano, C., Palmisano, G., Bavestrello, G., & Sara, M. (2006). The assessment of DNA from marine organisms via a modified salting-out protocol. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 11(2), 155-160. <https://doi.org/10.2478/s11658-006-0013-7>
- Gui L, Li X., Lin S., Zhao Y., Lin P., Wang B., Tang R., Guo J., Zu Y., Zhou Y., Yan Z. y Mingyou L. (2022). Low-cost and rapid method of DNA extraction from scaled fish blood and skin mucus. *Viruses*. (14). <https://doi.org/10.3390/v14040840>
- Jardine, T. D., Hunt, R. J., Pusey, B. J., & Bunn, S. E. (2011). A non-lethal sampling method for stable carbon and nitrogen isotope studies of tropical fishes. *Marine And Freshwater Research*, 62(1), 83-90. <https://doi.org/10.1071/mf10211>
- Joshi, B. D., Johnson, J. A., Goyal, S. P., Negi, T., & Negi, R. K. (2018). Non-invasive sampling: reliable methods for DNA extraction and PCR amplification from a single scale of small Cyprinidae fish. *Zoology And Ecology*, 28(4), 425-428. <https://doi.org/10.1080/21658005.2018.1520681>
- Kumar, R., Singh, P., Nagpure, B., Kushwaha, S. y Lakra, W. (2007). A non-invasive technique for rapid extraction of DNA from fish scales. *Ind J. Exp. Biol.* 45. 992-997.
- Lopera-Barrero, N., Povh, J., Ribeiro, R., Gomes, P., Jacometo, C. y Lopes, T. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aletas y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Cien Inv Agr.* 35 (1). 77-86. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202008000100008>
- Lutz, Í., Miranda, J., Santana, P., Martins., T., Ferreira, C., Sampaio, M. y Gomes, G. (2023). Quality analysis of genomic DNA and authentication of fisheries products based on distinct methods of DNA extraction. *PLoS ONE* 18(2): e0282369. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282369>
- Mao, J., Lv, Y., Miao, Y., Sun, C., Hu, L., Zhang, L., Hu, X., Wang, S. y Bao, Z. (2013). Development of a rapid and efficient method for non-lethal DNA sampling and genotyping in scallops. *PLoS ONE*. 8 (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068096>
- Miller, S., Dykes, D. y Polesky, H. (1988). A simple *salting out* procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res.* 16, 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
- Muhammad, H., Iqbal, Z., Muhammad, U., Younas, T. y Bashir, Q. (2016). An efficient method for DNA isolation from fish fin. *Pak J Agri Sci.* 53 (4). 843-850. <https://doi.org/10.21162/PAK-JAS/16.3998>
- Rodríguez-Riveiro, R., Velasco A. y Sotelo, G. (2022). The influence of DNA extraction methods on species identification results of seafood products. *Foods*. 11, <https://doi.org/10.3390/foods11121739>
- Ruggieri, J., Kemp, R., Forman, S. y Van Eden, M. (2016). *Techniques for nucleic acid purification from plant, animal, and microbial samples*. Springer, 41-52. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3185-9_4
- Tan, S. y Yiap, B. (2009). DNA, RNA, and Protein Extraction: The past and the present. *J. Biomed. Biotechnol.* 10 (9). <https://doi.org/10.1155/2009/574398>

- Waits, L. P., & Paetkau, D. (2005). Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: A review of applications and recommendations for accurate data collection. *The Journal of Wildlife Management*, 69(4), 1419–1433. [https://doi.org/10.2193/0022-541x\(2005\)69\[1419:ngstfw\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2193/0022-541x(2005)69[1419:ngstfw]2.0.co;2)
- Wasko, A., Martins, C., Oliveira, C. y Foresti, F. (2003). Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish and scales. *Hereditas*. 138. 161-165.
- Wahlberg, K., Huggett, J., Sanders, R., Whale, A. S., Bushell, C., Elaswarapu, R., Scott, D. J., & Foy, C. A. (2012). Quality Assessment of Biobanked Nucleic Acid Extracts for Downstream Molecular Analysis. *Biopreservation And Biobanking*, 10(3), 266-275. <https://doi.org/10.1089/bio.2012.0004>
- Willard, J., Lee, D. y Holland, M. (1998). *Recovery of DNA for PCR amplification from blood and forensic samples using a chelating resin*. Lincoln P. y Thomson J. (Ed.). *Forensic DNA profiling protocols. Methods in molecular biology*. (Vol 98, pp. 9-18). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-443-7:9>
- Woodard, D. L., Howard, A. J., Down, J. A., & Co, B. D. A. (1992). *US5342931A Process for purifying DNA on hydrated silica - Google Patents*. <https://patents.google.com/patent/US5342931A/en>
- Yang, H., Zhou, Q., Hu, J., Bao, Z. y Wan, M. (2024). A chelex-100 based rapid DNA extraction method and its application in the detection of shrimp pathogens. *Electron J Biotechnol*. 70, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2024.04.004>

Suplementação com Pós-Biótico em Tilápias do Nilo durante a masculinização

Postbiotic Supplementation In Nile Tilapia during masculinization

Daniele Menezes Albuquerque^{1*} (danielealbuquerque@ufgd.edu.br), Fernando da Silva Cabanha¹

¹*Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil*

Resumo

O presente estudo avaliou o efeito da suplementação com pós-biótico sobre o desempenho produtivo, a sobrevivência e os parâmetros de qualidade da água de tilápias do Nilo durante a masculinização. Foram utilizadas 750 pós-larvas, cultivadas por 33 dias em sistema de recirculação de água, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições, correspondentes a diferentes níveis de inclusão de pós-biótico (0; 1,25; 2,5 e 3,75 g/kg) em ração contendo hormônio masculinizante. Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados diariamente, e os dados zootécnicos submetidos à análise de variância, com comparação de médias a 5% de probabilidade. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para os parâmetros de qualidade da água, que permaneceram dentro dos padrões adequados para a espécie. Para o desempenho produtivo, verificaram-se diferenças significativas entre os níveis de inclusão avaliados, com melhores resultados associados aos menores níveis do aditivo. Níveis mais elevados estiveram relacionados à redução do desempenho e da sobrevivência das pós-larvas. Os resultados indicam que a suplementação com pós-biótico, nas condições avaliadas, não promoveu melhorias consistentes no desempenho zootécnico, podendo apresentar efeitos negativos em maiores níveis de inclusão.

Palavras-chave: aditivo, nutrição, tilapicultura

Abstract

This study evaluated the effect of postbiotic supplementation on the productive performance, survival, and water quality parameters of Nile tilapia during the masculinization phase. A total of 750 post-larvae were cultured for 33 days in a recirculating aquaculture system and distributed in a completely randomized design with four treatments and three replicates, corresponding to different levels of postbiotic inclusion (0; 1.25; 2.5; and 3.75 g/kg) in feed containing masculinizing hormone. Water quality parameters were monitored daily, and zootechnical data were subjected to analysis of variance, followed by mean comparison at a 5% significance level. No significant differences were observed among treatments for water quality parameters, which remained within suitable ranges for the species. Regarding productive performance, significant differences were observed among the evaluated inclusion levels, with better results associated with lower levels of the additive. Higher inclusion levels were associated with reduced performance and survival of post-larvae. The results indicate that postbiotic supplementation, under the evaluated conditions, did not promote consistent improvements in zootechnical performance and may negatively affect fish when applied at higher inclusion levels.

Keywords: aquaculture, nutrition, tilapia farming

Introdução

A aquicultura é um dos setores de produção de alimentos que mais cresce no mundo, desempenhando papel fundamental na segurança alimentar e no fornecimento de proteína de alto valor biológico. De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations, a produção aquícola global tem apresentado crescimento contínuo nas últimas décadas, sendo responsável por mais da metade do pescado destinado ao consumo humano (FAO, 2022). Nesse contexto, a piscicultura intensiva tem se consolidado como alternativa eficiente para aumento da produtividade, especialmente em sistemas controlados como os sistemas de recirculação de água (RAS), que permitem maior controle das condições ambientais e redução do impacto sobre os recursos hídricos.

Entre as espécies de maior relevância na aquicultura mundial, destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), amplamente cultivada devido à sua rusticidade, rápido crescimento e boa aceitação no mercado consumidor. No Brasil, a tilapicultura representa a principal cadeia produtiva da piscicultura continental, com crescimento expressivo nos últimos anos, impulsionado por avanços tecnológicos e intensificação dos sistemas produtivos (PEIXE BR, 2026).

O aumento da intensidade produtiva tem demandado o uso de estratégias nutricionais que promovam melhor desempenho zootécnico e maior resistência dos organismos, destacando-se a utilização de aditivos alimentares, como probióticos, prebióticos e, mais recentemente, pós-bióticos. Os pós-bióticos são definidos como preparações de microrganismos inativados e/ou seus componentes estruturais e metabólitos, capazes de conferir benefícios à saúde do hospedeiro (Salminen et al., 2021). Diferentemente dos probióticos, esses compostos não contêm microrganismos viáveis, o que pode representar maior estabilidade e segurança na aplicação em sistemas produtivos.

Apesar do crescente interesse na utilização de pós-bióticos na nutrição animal, sua aplicação na aquicultura ainda é recente e pouco explorada, especialmente nas fases iniciais de desenvolvimento dos peixes. Estudos conduzidos com probióticos e pós-bióticos indicam que os efeitos desses aditivos podem variar em função de fatores como espécie, estágio de desenvolvimento, dose e condições de cultivo (Silva et al., 2021; Rodrigues et al., 2020). Em algumas situações, não são observados efeitos significativos sobre o desempenho produtivo, ou ainda podem ocorrer respostas negativas associadas ao uso inadequado das doses (Ferro et al., 2024).

A fase de masculinização em tilápias, realizada com o uso de hormônio, representa um período crítico do ponto de vista fisiológico e produtivo, no qual os organismos apresentam elevada sensibilidade a fatores nutricionais e ambientais. Durante esse período, a adequação da dieta e o manejo alimentar são determinantes para o sucesso da produção, especialmente no que se refere ao crescimento e à sobrevivência das pós-larvas (Prieto et al., 2006).

Diante desse cenário, torna-se necessário ampliar o conhecimento sobre o uso de novos aditivos alimentares, como os pós-bióticos, em sistemas de produção aquícola fechados, especialmente em fases iniciais do desenvolvimento. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação com diferentes níveis de pós-biótico sobre o desempenho produtivo, a sobrevivência e os parâmetros de qualidade da água de tilápias do Nilo durante a fase de masculinização em sistema de recirculação de água.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), localizado no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram utilizadas 750 pós-larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de 5 mg, cultivadas por 33 dias em sistema fechado de recirculação de água. Os peixes foram distribuídos em quatro sistemas independentes de recirculação, correspondentes aos tratamentos experimentais, em densidade de estocagem equivalente a 500 peixes m⁻³. Cada sistema foi constituído por três unidades experimentais (caixas d'água com volume útil de 0,1 m³), totalizando três repetições por tratamento (Figura 1). Os sistemas foram operados de forma independente, evitando interferência entre os tratamentos.

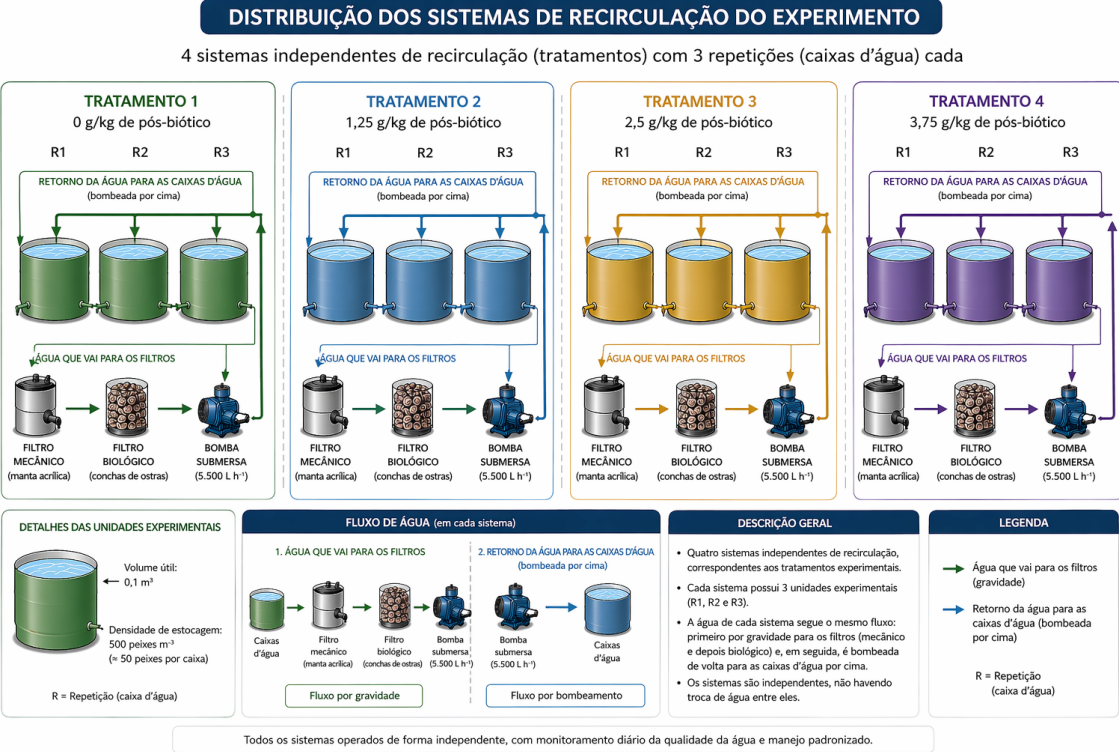


Figura 1. Representação esquemática dos sistemas independentes de recirculação de água utilizados no experimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos e três repetições, correspondentes a diferentes níveis de inclusão de pós-biótico (0; 1,25; 2,5 e 3,75 g kg⁻¹) em ração comercial farelada (Tabela 1) contendo hormônio masculinizante (60 mg de 17 α -metiltestosterona kg⁻¹). O aditivo comercial em pó foi previamente pesado em balança analítica e incorporado às rações utilizando óleo vegetal (2%) como agente agregante. A alimentação foi realizada manualmente até a saciedade aparente, quatro vezes ao dia (08:00, 10:00, 14:00 e 16:00 h), com duração média de 30 minutos por arraçoamento. As unidades experimentais foram sifonadas diariamente após a última alimentação para remoção de fezes e possíveis sobras de ração.

Tabela 1. Nível de garantia por kg da ração comerciais utilizadas durante o ensaio experimental, conforme informações no rótulo do produto.

Parâmetros nutricionais	Valores
Umidade (máx)	130,0 g
Proteína Bruta (mín)	450,0 g
Extrato Extério (mín)	70,0 g
Matéria Fibrosa (máx)	50,0 g
Matéria Mineral (máx)	140,0 g
Cálcio (máx)	40,0 g
Cálcio (mín)	20,0 g
Fósforo (mín)	10,0 g
B-Glucanos (mín)	400,0 mg
Mananoligossacarídeos (mín)	215,0 mg
Sac charomyces c. (mín)	9x10 ¹⁰ UFC
Vitamina A (mín)	24.000,0 UI
Vitamina D3 (mín)	8.000,0 UI
Vitamina E (mín)	300,0 UI
Vitamina C (mín)	1.500,0 mg
Colina (mín)	1.200,0 mg
Niacina (mín)	200,0 mg
Ácido Fólico (mín)	12,0 mg
Ácido Pantotênico (mín)	125,0 mg
Biotina (mín)	1,80 mg
Vitamina B1 (mín)	30,0 mg
Vitamina B12 (mín)	65,0 µg (mog)
Vitamina B2 (mín)	30,0 mg
Vitamina B6 (mín)	30,0 mg
Vitamina K3 (mín)	15,0 mg
Cobalto (mín)	1,2 mg
Cobre (mín)	35,0 mg
Ferro (mín)	85,0 mg
Iodo (mín)	1,80 mg
Manganês (mín)	100,0 mg
Selênio (mín)	1,0 mg
Sódio (mín)	2.900,0 mg
Zinco (mín)	260,0 mg

As biometrias foram realizadas após 14 dias e ao final do experimento, sendo registrados o número e o peso total dos peixes por unidade experimental. Ao final, foram amostrados 10 indivíduos por unidade experimental para mensuração individual de peso e comprimento total. A partir desses dados, foram calculados os parâmetros zootécnicos, incluindo ganho em peso, ganho em peso médio diário, taxa de crescimento específico, biomassa final, ganho em biomassa e sobrevivência. Os parâmetros de qualidade da água, incluindo temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e pH, foram monitorados diariamente nos períodos da manhã e da tarde, com auxílio de sondas multiparâmetros microprocessadas.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. Quando constatado efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo

teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica 7.0® e o Microsoft Excel 2019®.

Os dados foram inicialmente organizados em planilhas eletrônicas no Microsoft Excel 2019®, sendo posteriormente submetidos à verificação dos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e de Levene, respectivamente. Quando necessário, foram aplicadas transformações nos dados para atender aos pressupostos da análise estatística. Os dados de sobrevivência, expressos em porcentagem, foram transformados por meio da função arco seno da raiz quadrada antes da análise. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância. Quando constatado efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no ambiente R, e a construção dos gráficos foi realizada com o pacote ggplot2.

Resultados

As médias gerais dos parâmetros físico-químicos da água dos sistemas de recirculação podem ser observadas na tabela 2. As variáveis da água mantiveram-se estáveis ao longo de todo o período experimental, não sendo observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p > 0,05$). As concentrações de nitrogênio amoniacal e nitrito permaneceram zeradas durante todo o experimento, indicando eficiência do sistema de recirculação e condições ambientais estáveis.

Tabela 2. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água durante o período experimental.

Período	pH	T (°C)	O.D. (mg L ⁻¹)
Manhã	7,7 $\pm$ 0,53	24,8 $\pm$ 0,85	6,5 $\pm$ 0,34
Tarde	7,8 $\pm$ 0,56	25,8 $\pm$ 0,86	6,5 $\pm$ 0,33

Em relação ao desempenho zootécnico, verificou-se efeito significativo dos níveis de inclusão de pós-biótico ($p < 0,05$), com padrão consistente de redução dos parâmetros avaliados à medida que aumentou a concentração do aditivo (Tabela 3).

Parâmetros	Níveis de inclusão de pós-biótico (g/kg)			
	0	1,25	2,5	3,75
GP (g)	0,068 $\pm$ 0,0019a	0,056 $\pm$ 0,0029b	0,031 $\pm$ 0,0036c	0,033 $\pm$ 0,0002c
BF (g)	3,63 $\pm$ 0,09a	2,99 $\pm$ 0,19b	0,51 $\pm$ 0,08c	0,68 $\pm$ 0,06c
GB (g)	3,38 $\pm$ 0,09a	2,74 $\pm$ 0,19b	0,26 $\pm$ 0,08c	0,43 $\pm$ 0,06c
TCE (g)	8,11 $\pm$ 0,08a	7,60 $\pm$ 0,15b	5,95 $\pm$ 0,32c	6,15 $\pm$ 0,02c
TS (%)	100,0 $\pm$ 0,00a	97,3 $\pm$ 2,31a	28,7 $\pm$ 6,11b	36,0 $\pm$ 3,46b

GP: Ganho em Peso; BF: Biomassa Final; GB: Ganho em Biomassa; TCE: Taxa de Crescimento Específico; TS: Taxa de Sobrevivência.

O ganho em peso apresentou maiores valores no tratamento sem adição de pós-biótico (0 g kg^{-1}), diferindo estatisticamente dos demais níveis de inclusão. O nível de $1,25 \text{ g kg}^{-1}$ apresentou desempenho intermediário, enquanto os níveis de $2,5$ e $3,75 \text{ g kg}^{-1}$ não diferiram entre si e apresentaram redução expressiva desse parâmetro (Figura 2). Esse comportamento evidencia resposta negativa associada aos níveis mais elevados de inclusão do aditivo.

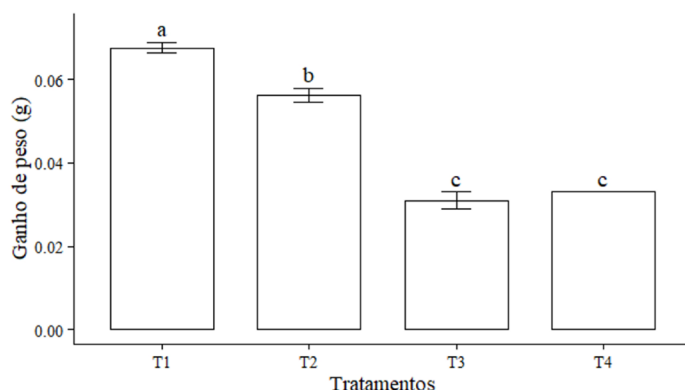


Figura 2. Ganho em peso de tilápias do Nilo submetidas a diferentes níveis de inclusão de pós-biótico durante a masculinização.

A biomassa final seguiu a mesma tendência observada para o ganho em peso, com maior valor no nível de 0 g kg^{-1} , seguida pelo nível de $1,25 \text{ g kg}^{-1}$. Nos níveis mais elevados, observou-se queda acentuada, com valores significativamente inferiores e estatisticamente semelhantes entre si, indicando impacto relevante do aumento da concentração do aditivo sobre o desempenho produtivo. A taxa de crescimento específico apresentou comportamento semelhante, com redução progressiva em função do aumento dos níveis de inclusão de pós-biótico, reforçando o padrão observado nos demais parâmetros de crescimento.

A sobrevivência das pós-larvas foi o parâmetro mais sensível às variações nos níveis de inclusão. Os níveis de 0 e $1,25 \text{ g kg}^{-1}$ apresentaram elevadas taxas de sobrevivência, não diferindo entre si. Em contrapartida, os níveis de $2,5$ e $3,75 \text{ g kg}^{-1}$ apresentaram redução significativa ($p < 0,05$), com valores inferiores a 40% (Figura 3), evidenciando impacto negativo acentuado dos níveis mais elevados do aditivo.

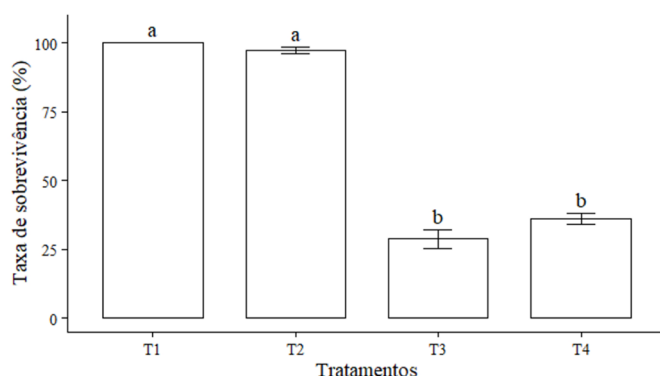


Figura 3. Sobrevivência de tilápias do Nilo em função dos níveis de inclusão de pós-biótico durante a masculinização.

Dessa forma, os resultados indicam que o aumento nos níveis de inclusão de pós-biótico está associado à redução do desempenho produtivo e da sobrevivência das pós-larvas durante a fase de masculinização, sem influência dos parâmetros de qualidade da água.

Discussão

O pós-biótico utilizado no presente estudo é composto por subprodutos metabólicos e/ou componentes da parede celular de microrganismos probióticos, especialmente dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Esses compostos, devido à sua bioatividade, podem promover efeitos benéficos semelhantes aos dos probióticos, porém sem a necessidade da administração de microrganismos viáveis (Baptistella, 2018). Essa característica tem despertado interesse na aquicultura, principalmente pela maior estabilidade e segurança no uso em comparação aos probióticos vivos.

No presente estudo, os resultados evidenciaram que a suplementação com pós-biótico não promoveu melhorias no desempenho zootécnico das pós-larvas de tilápia do Nilo, especialmente em níveis mais elevados de inclusão, que estiveram associados à redução do crescimento e da sobrevivência. Embora a literatura apresente resultados promissores quanto ao uso de aditivos probióticos na aquicultura, deve-se considerar que tais efeitos não podem ser generalizados, uma vez que dependem de fatores como a cepa bacteriana utilizada, a frequência de administração e a via de fornecimento (Silva et al., 2021). Nesse contexto, Rodrigues et al. (2020) destaca que os efeitos dos aditivos alimentares em peixes estão diretamente relacionados a variáveis como dose, tempo de exposição, condição fisiológica dos animais e método de administração, podendo, em determinadas condições, resultar em efeitos adversos.

Resultados semelhantes foram observados por Almeida et al. (2021), que ao avaliarem a suplementação com probiótico, pós-biótico e simbiótico em juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*), não encontraram diferenças significativas no desempenho zootécnico entre os tratamentos. No entanto, os autores relataram melhora na sobrevivência dos peixes suplementados, indicando que os efeitos desses aditivos podem variar de acordo com a espécie, o estágio de desenvolvimento e as condições experimentais.

A fase inicial de desenvolvimento dos peixes constitui um período crítico, no qual a sobrevivência está diretamente relacionada à adaptação alimentar e às condições ambientais. Segundo Prieto et al. (2006), a transição da fase larval para pós-larval, especialmente após o consumo do saco vitelínico, representa um dos momentos mais sensíveis do ciclo de vida, sendo a nutrição e o ambiente fatores determinantes para o sucesso da larvicultura. Nesse contexto, observa-se que, no presente estudo, a mortalidade concentrou-se nos primeiros 14 dias de cultivo, mantendo-se relativamente estável no restante do período experimental, o que reforça a elevada sensibilidade das pós-larvas nesse período inicial. Dessa forma, a ausência de efeitos positivos do pós-biótico pode estar relacionada à condição fisiológica dos animais durante essa fase, caracterizada por maior susceptibilidade a alterações nutricionais.

Em estudo conduzido por Ferro et al. (2024), utilizando pós-biótico à base de *Lactobacillus plantarum* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo, também não foram observadas melhorias significativas no desempenho zootécnico dos peixes, corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Além disso, Oliveira (2022) ressalta que a resposta ao uso de aditivos alimentares pode estar associada à duração do experimento e à presença de desafios sanitários, sendo possível que, na ausência desses desafios, os efeitos dos aditivos não se manifestem de forma evidente.

A redução significativa da sobrevivência observada nos tratamentos com maiores níveis de inclusão de pós-biótico sugere possível efeito negativo associado ao excesso do aditivo na dieta. Diversos fatores podem influenciar esse parâmetro, incluindo o estado fisiológico dos peixes, a qualidade da água e a composição da dieta. Segundo Lima (2013), o excesso de suplementação pode sobrecarregar o metabolismo hepático, resultando em danos ao fígado e aumento da susceptibilidade a doenças. No presente estudo, a ração utilizada já apresentava em sua composição vitaminas como biotina e ácido fólico, além de outros micronutrientes metabolizados pelo fígado. Dessa forma, a associação entre esses compostos e níveis elevados de pós-biótico pode ter contribuído para uma sobrecarga metabólica nas pós-larvas, refletindo na redução da sobrevivência observada nos tratamentos com maiores níveis de inclusão.

Diante disso, os resultados obtidos demonstraram que a utilização de pós-biótico na alimentação de pós-larvas de tilápia do Nilo em sistema de recirculação não promoveu melhorias no desempenho produtivo nas condições avaliadas, podendo apresentar efeitos negativos quando utilizado em níveis elevados. Esses achados reforçam a importância da definição adequada das doses de inclusão e da consideração do estágio de desenvolvimento dos animais na utilização de aditivos alimentares na aquicultura.

Conclusão

A suplementação com pós-biótico não promoveu melhorias no desempenho produtivo de tilápias do Nilo durante a fase de masculinização nas condições avaliadas. Níveis de inclusão iguais ou superiores a $2,5 \text{ g kg}^{-1}$ estiveram associados à redução do crescimento e da sobrevivência das pós-larvas, enquanto o nível de $1,25 \text{ g kg}^{-1}$ apresentou desempenho intermediário, sem ganhos consistentes em relação à ausência do aditivo. Os resultados indicam que níveis mais baixos de inclusão são mais seguros para essa fase de desenvolvimento, caracterizada por elevada sensibilidade fisiológica. Além disso, a resposta dos peixes à suplementação pode estar relacionada à composição da dieta e ao estágio de desenvolvimento, evidenciando a necessidade de ajustes específicos para a utilização de pós-bióticos na piscicultura.

Referências Bibliográficas

Almeida, P. R. et al. Taxa de sobrevivência e perfil hematológico de dourados *Salminus brasiliensis* suplementados com probiótico, paraprobiótico e simbiótico *Lactobacillus rhamnosus*. In: VII ENEPEX / XI EPEX Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2021, Aquidauana. Anais... Aquidauana: <https://anaisonline.uems.br>. 2021.

Associação Brasileira da Piscicultura. Anuário Brasileiro da Piscicultura 2026. São Paulo: Peixe BR, 2026. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2026>. Acesso em: 24 fev. 2026.

Baptistella, A. B. Posbióticos: a nova era no tratamento da saúde intestinal. Revista Brasileira de Nutrição Funcional, v. 41, n. 76, 2018. DOI: <https://doi.org/10.32809/2176-4522.41.76.26>.

Fao. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation. Rome: FAO, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.

Ferro, P. H. S. et al. Effects of dietary supplementation with inactivated *Lactobacillus plantarum* on growth performance, haemato-biochemical parameters, liver fatty acids profile and intes-

tinal microbiome of Nile tilapia. *Veterinary Research Communications*, v. 48, p. 2397-2406, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10425-w>.

Lima, K. S. Aditivos alimentares na nutrição de juvenis de piavuçu, *Leporinus macrocephalus*: desempenho e parâmetros hematológicos. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, 2013.

Oliveira, F. C. Crescimento e uso de aditivos na produção de piraputanga (*brycon hilarii*) e dourado (*salminus brasiliensis*). 2022. 118p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Pietro, M. J. et al. Tipo de alimento, sobrevivência e desempenho inicial de pós-larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, n. 5, p. 1002-1007, 2006.

Rodrigues, F. S. et al. Innate immune system and the use of garlic as an immunostimulant: literature review. *Research, Society and Development*, v. 9, n.4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i4.3014>.

Selminen, S. et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology e Hepatology*, v. 18, p. 649-667, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>.

Silva, A. F. C. et al. Inclusion of probiotic additives in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its effects on performance, hematological, hepatic and intestinal parameter. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17568>.

Evaluación comparativa de dos métodos de extracción de ADN en camarones de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*)

Comparative evaluation of two DNA extraction methods for freshwater shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*).

Ruth Natasha Vargas Flores¹; Viviana María Ríos Morínigo²; Rodrigo Celedonio Romero ; Rolón²; Elvio Gayozo Melgarejo³; María Patricia Franco Solalinde²; Miguel Ángel Vargas Arrellaga²; Lui Heng-Hsin⁴; Mayra Valentina Limenza Benítez¹; María José Alonso González¹; Victoria Judith Lezcano Miranda¹; Paloma Abigaíl Agüero Schnell¹; Fernando José Viñales¹; Jorge Andrés Deggeller Martínez⁵; Gabriel Monteiro de Lima⁶; Liz Aurora Castro Rojas^{5*}

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Estudiante de la Carrera de Ciencias Veterinarias. San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Dpto. de Pesca y Acuicultura. San Lorenzo, Paraguay.

³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Dpto. de Biología.

⁴Misión Técnica de la República de China (Taiwan).

⁵Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Dpto. de Genética y Zootecnia. San Lorenzo, Paraguay.

⁶Universidad Federal do Pará, Instituto de Estudos Costeiros, Campus Universitário de Bragança. Brasil.

*Correo electrónico: lcastro@vet.una.py

Resumen

A pesar del desarrollo histórico de diversos métodos de extracción de ADN, la falta de un procedimiento universal y compatible con todos los tejidos sigue siendo una limitación, requiriéndose protocolos específicos. En el caso del camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*), recientemente introducido en Paraguay, es prioritario estandarizar metodologías eficientes, rápidas y asequibles de extracción de ADN para ser utilizadas en distintos ámbitos. En este estudio, se evaluaron y compararon dos métodos de extracción de ADN genómico: resina Chelex-100 y precipitación salina (NaCl). El procedimiento se aplicó a muestras de tejido, a partir de 10 ejemplares pertenecientes al Departamento de Pesca y Acuicultura de la FCV-UNA. La concentración y pureza del material obtenido se determinaron por espectrofotometría y su integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. El método Chelex-100 generó una alta concentración promedio de ADN $997,9 \pm 421,7$ ng/ μ L; no obstante, exhibió un índice de pureza sobre la ratio ideal ($2,36 \pm 0,32$) y no logró producir bandas consistentes. En contraste, el método de precipitación salina registró una concentración menor ($260,1 \pm 249,5$ ng/ μ L), pero alcanzó un índice de pureza óptimo de $1,93 \pm 0,11$ y bandas electroforéticas consistentes. Se observaron diferencias significativas entre ambos métodos. Se concluye que, de ambas metodologías, la precipitación salina es el protocolo más efectivo y estable para la extracción de ADN, ya que permite obtener material genético homogéneo y puro, garantizando su idoneidad para análisis genómicos posteriores.

Palabras clave: Precipitación Salina, Chelex100, Calidad Genómica, Camarón.

Abstract

Despite the historical development of various DNA extraction methods, the lack of a universal procedure compatible with all tissue types remains a significant limitation, necessitating the use of tissue-specific protocols. In the case of the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), recently introduced in Paraguay, it is a priority to standardize efficient, rapid, and straightforward DNA extraction methodologies for use across different fields. In this study, two genomic DNA extraction methods were evaluated and compared: Chelex-100 resin and salt precipitation (NaCl). The procedure was applied to tissue samples obtained from 10 specimens belonging to the Department of Fisheries and Aquaculture of the FCV-UNA. The concentration and purity of the obtained material were determined by spectrophotometry, and its integrity was assessed by 1 % agarose gel electrophoresis. The Chelex-100 method yielded a high mean DNA concentration (997.9 ± 421.7 ng/ μ L); however, it exhibited a purity ratio above the optimal range (2.36 ± 0.32) and failed to produce consistent bands. In contrast, the salt precipitation method recorded a lower concentration (260.1 ± 249.5 ng/ μ L), but achieved an optimal purity index (1.93 ± 0.11) and consistent electrophoretic bands. Significant differences were observed between both methods. It is concluded that, of the two methods evaluated, salt precipitation is the most effective and reliable protocol for DNA extraction, as it yields homogeneous and pure genetic material, ensuring its suitability for subsequent genomic analyses.

Keywords: Saline Precipitation, Chelex100, Genomic Quality, Shrimp.

Introducción

Desde la descripción del primer método de extracción de ADN desarrollado por Friedrich Miescher en 1869, se han elaborado y utilizado ampliamente varios procedimientos para la extracción de muestras de ADN en la investigación forense e identificación de productos biológicos (Lee y Shewale, 2017). En general, los distintos métodos para aislar el ADN comparten algunos pasos comunes: lisis (ruptura de la membrana plasmática), purificación (eliminación de contaminantes biológicos y químicos) y recuperación del ADN (Goldberg, 2015). No obstante, cabe señalar que un solo método no es compatible con todos los tipos de muestras. Por lo tanto, la selección del método de extracción depende del origen de la muestra, que puede obtenerse de numerosos tipos diferentes de tejidos, el propósito del análisis y el objetivo del producto final (Henderson et al., 2013; Dairawan, M. y Shetty, P. J., 2020; Lopera et al., 2008). Hasta el momento, no existe un procedimiento común y sencillo de extracción que pueda utilizarse a gran escala para diferentes organismos eucariotas. Generalmente, los distintos tejidos requieren protocolos y pasos de preparación diferentes. La necesidad de un procedimiento universal es urgente, especialmente cuando se deben analizar cientos de muestras (Ruano y Kidd, 1991; Welsh y McClelland, 1990; Williams et al., 1990).

Dado que casi todos los métodos de análisis molecular exigen ADN de alta calidad y un procesamiento inmediato como punto de partida, el desarrollo de un procedimiento de extracción sencillo, rápido y eficaz en tejidos es una prioridad clave para optimizar su uso posterior para diferentes fines. Existen diversas técnicas para extraer ADN de organismo acuáticos y los más comunes incluyen el método de fenol-cloroformo, el método de adsorción en columna centrífuga y el método de perlas magnéticas. Sin embargo, estas técnicas son lentas, costosas y presentan otras limitaciones cuando se aplican a la detección de patógenos (Kang et al., 2018; Schrader et al., 2012; Tan y Yip, 2009).

Recientemente, se demostró que el método basado en Chelex-100 es un protocolo de extracción de ADN eficiente y rápido, de bajo costo y alta facilidad de uso, lo que lo convierte en un método ideal. Chelex-100 es una resina quelante con alta afinidad por iones metálicos polivalente. Está compuesta por un copolímero de estireno y divinilbenceno junto con ácido iminodiacético, que funcionan como grupos quelantes (Ip et al., 2015). Este método rompe las membranas celulares de un número limitado de células, liberando su ADN mediante ebullición. También previene la degradación del ADN a través de los iones metálicos quelados durante la ebullición. Actualmente, se utiliza principalmente para extraer ADN de diversas matrices, incluyendo bacterias, hongos, insectos y otras fuentes biológicas (Rodríguez-Riveiro, Velasco y Sotelo, 2022).

Por otro lado, se ha desarrollado un método rápido, seguro y económico para simplificar el procedimiento de remoción de proteínas en la extracción de ADN, reduciendo así el uso de peligrosos disolventes orgánicos, tales como el fenol e isocloroformo, asegurando procedimientos de extracción no tóxicos. Este método consiste en la separación de las proteínas celulares mediante deshidratación y precipitación con una solución saturada de NaCl (Miller et al., 1988). La extracción de ADN usando el protocolo de precipitación salina (NaCl) es una alternativa simple, fácil, rápida y no contaminante que permite obtener ADN de buena calidad, en cantidades suficientes desde muestras de tejido (Lopera et al., 2008).

En Paraguay, la producción acuícola de agua dulce ha dado un giro estratégico reciente. En el marco del Proyecto de Producción y Comercialización de Surubí (2023-2026), desarrollado en colaboración con Taiwán, se introdujo e inició la cría del camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*). Para un país mediterráneo, este emergente rubro no solo representa una oportunidad inédita para desarrollar un mercado interno prácticamente inexistente, sino también un pilar para la diversificación e innovación tecnológica del sector primario, hito que se consolidó en agosto de 2025 con la inauguración oficial de su temporada de reproducción local (Wpadmin, 2023; Megacadena, 2025).

Sin embargo, la expansión exitosa y el respaldo sanitario de esta nueva apuesta productiva dependen del soporte científico y biotecnológico que se desarrolle a nivel nacional. Resulta fundamental estandarizar un método eficaz, seguro y asequible de extracción de ADN que podrían ser utilizados en estos crustáceos para análisis moleculares con distintos fines, tanto comerciales, productivos, investigativos o epidemiológicos. El objetivo de este estudio fue comparar dos métodos diferentes de extracción de ADN: El método basado en Chelex-100 y el protocolo de precipitación salina (NaCl), evaluando la concentración y pureza del ADN obtenido, así como su integridad para posteriores análisis moleculares. Esto se realizó utilizando muestras extraídas de camarones de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*), criados en el Departamento de Pesca y Acuicultura de la Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Asunción (FCV UNA).

Materiales y Métodos

Muestreo

Se utilizaron 10 camarones de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*) criados en el Departamento de Pesca y Acuicultura de la FCV -UNA. La toma de muestra se realizó siguiendo el protocolo descrito por Kim et al. (2025), fueron capturados 10 ejemplares de un mismo estanque, y tras relajarlos sujetándolos con la mano durante 5-10 segundos, se realizó el corte de un pleópodo del segundo o tercer segmento utilizando tijeras de disección, las muestras fueron almacenadas en etanol absoluto para su transporte al laboratorio. Posteriormente, los

ejemplares fueron liberados en su estanque correspondiente (Fig.1).

Preparación de las muestras

La preparación de las muestras se realizó mediante el corte de aproximadamente 0,5 cm de cada tejido utilizando tijeras de disección. Posteriormente, los fragmentos fueron colocados sobre papel absorbente para retirar el exceso de etanol residual y así prevenir posibles interferencias en los análisis posteriores. Luego, los tejidos se transfirieron a microtubos estériles de 1,5 mL, donde fueron macerados con tijeras hasta obtener una mezcla homogénea.

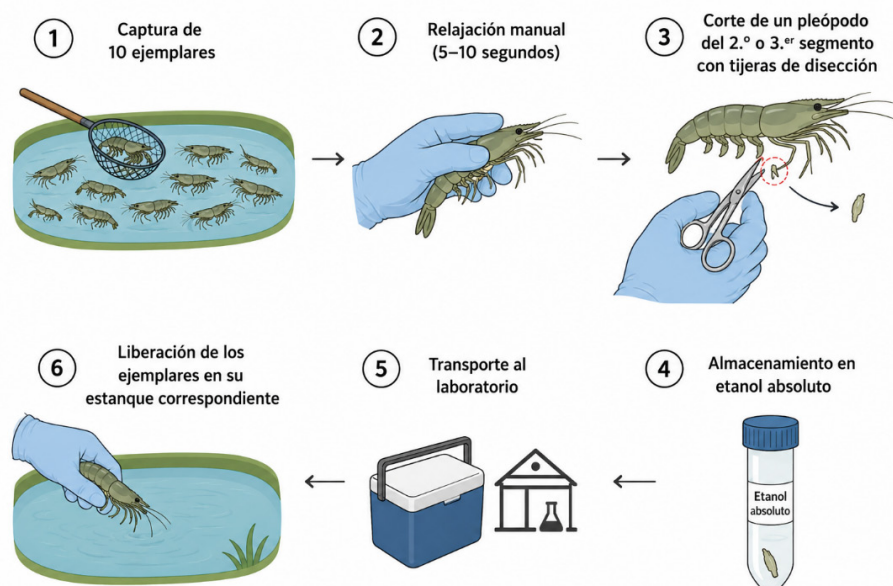


Figura 1. Diagrama de flujo del procedimiento de toma de muestras de tejido en camarones de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*),

Extracción de ADN

La extracción del ADN genómico se realizó utilizando dos protocolos diferentes: resina Chelex-100 y precipitación salina (NaCl). Estos métodos fueron seleccionados por ser técnicas sencillas, prácticas y rápidas. Cada procedimiento se describe a continuación.

Extracción de ADN mediante Resina Chelex-100

Se utilizó el protocolo descrito por Rodríguez-Riveiro et al. (2022), la muestra de tejido se mezcló en 100 µL de una solución de Chelex al 5% (Chelex® 100 resin, BIO -RAD), posteriormente se agitaron con vortex (Modelo S0200, Labnet International, Edison, Estados Unidos). Las muestras se centrifugaron en una microcentrífuga (Modelo 5810R, Eppendorf, Alemania) a 14.000 rpm durante 2 minutos e incubaron a 95 °C en un bloque térmico (Modelo MDB100, Joanlab, Zhejiang, China) durante 20 minutos. Luego, se agitaron por vortex y se enfriaron sobre hielo. Finalmente, la resuspensión de ADN se centrifugó a 14.000 rpm durante 2 minutos y se almacenó a 4 °C.

Extracción de ADN mediante precipitación salina (NaCl)

Se realizó el protocolo reportado por Aljanabi & Martínez (1997), con ligeras modificaciones. El tejido fresco se homogeneizó en 400 µL de tampón de homogeneización salina estéril (0,4

M NaCl, 10 mM Tris±HCl pH 8,0 y 2 mM EDTA pH 8,0). A continuación, se añadieron 40 µl de SDS al 20 % (concentración final del 2 %) y 8 µl de proteinasa K a 20 mg/ml (concentración final de 400 µg/ml), y se mezclaron suavemente por inversión. Las muestras se incubaron a 56,5 °C durante toda la noche, tras lo cual se añadieron 300 µl de NaCl 6 M (agua saturada con NaCl) a cada muestra. Las muestras se agitaron en vórtex durante 30 seg a máxima velocidad y se centrifugaron durante 20 min a 10.000 g. El sobrenadante se transfirió a tubos nuevos. Se añadió un volumen igual de isopropanol a cada muestra. Se mezclaron bien por inversión y las muestras se incubaron a - 20 °C durante 1 hora. A continuación, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 4 °C y 10.000 g y se descartó el sobrenadante. El precipitado se lavó con etanol al 100 %, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 4 °C y 10.000 g y se descartó el sobrenadante. Se realizó un segundo lavado con etanol al 70 %, se repitió el centrifugado anterior, se secó, dejando invertido por 1 hora, y finalmente se resuspendió en 40 µl de agua estéril.

Concentración, pureza e integridad del ADN

La concentración (ng/µL) y el grado de pureza (A260/280) del ADN se determinaron utilizando un Espectrofotómetro digital UV-VIS de microvolumen (AELAB, Beijing, China). La integridad en términos de fragmentación de ADN, se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % (Promega, Madison, Estados Unidos). La tinción se realizó con los colorantes Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, Estados Unidos) y SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos) conforme a las indicaciones de los fabricantes. La corrida electroforética se realizó en tampón TAE 1X (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos) a 70 V durante 30 minutos, luego, los productos de ADN se visualizaron con un transiluminador UV (Infitek, Shanghai, China). Para determinar el tamaño del ADN, se utilizó marcador de 100 pb (Promega, Madison, Estados Unidos).

Análisis estadísticos

La concentración de ADN se expresó como mediana y rango intercuartil, y su comparación entre métodos se realizó mediante la prueba U de Mann-Whitney. La pureza del ADN (razón 260/280) se expresó como media ± desvío estándar y se comparó mediante la prueba t de Student para muestras independientes. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas al nivel del 5% ($p < 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron con PAST v5.0 y los gráficos fueron elaborados con GraphPad Prism 6.

Resultados

Concentración y Pureza del ADN

Al analizar los datos obtenidos, se evidenció una diferencia de concentración entre los métodos evaluados, como se observa en la Tabla 1, las concentraciones obtenidas mediante el método Chelex- 100 fueron notablemente superiores a las obtenidas por precipitación salina. En la Tabla 2 se presentan los cálculos estadísticos descriptivos de la concentración de ADN y la pureza (260/280) para cada método de extracción. En cuanto a la concentración, el método Chelex – 100 mostró una media de 997,9 ng/µl, con valores mínimo y máximo que reflejan una amplia dispersión, evidenciada por su desviación estándar (421,7 ng/µl). El método de precipitación salina, por su parte, presentó una media de 260,1 ng/µl, con mínimo y máximo

igualmente dispersos y con un rango de concentración general inferior.

Muestra	Conc. Chelex (ng/μl)	Conc. NaCl (ng/μl)	260/280 Chelex	260/280 NaCl
Camarón 1	1,278.42	832.16	2.77	1.79
Camarón 2	912.61	168.78	2.31	1.85
Camarón 3	1,180.20	137.93	1.95	1.94
Camarón 4	277.09	193.95	1.74	2.04
Camarón 5	1,315.84	18.38	2.59	1.89
Camarón 6	1,499.05	303.97	2.65	2.13
Camarón 7	1,224.36	533.64	2.53	2.00
Camarón 8	1,164.68	11.44	2.52	1.91
Camarón 9	840.65	174.61	2.33	1.76
Camarón 10	286.60	225.72	2.24	2.00

Tabla 1. Concentración de ADN (ng/μl) obtenida mediante extracción con Chelex y método salino (NaCl) en 10 muestras de tejido de camarón de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*).

Respecto a la pureza 260/280, el método Chelex registró una media de 2,36 con una desviación estándar de 0,32 superando en todos los casos el límite superior del rango óptimo. La extracción salina presentó una media de 1,93 con un desvío estándar de 0,11, manteniéndose en general dentro del rango aceptable 1,8 a 2 (Desjardins & Conklin, 2010). Esto evidencia una variabilidad inferior en comparación con el método Chelex.

La concentración de ADN obtenida mediante el método Chelex-100 fue significativamente superior a la obtenida por precipitación salina ($p = 0,001$). Dado que los datos de concentración no cumplieron con el supuesto de normalidad, se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney ($p < 0,05$). El tamaño del efecto fue grande (A de Vargha-Delaney = 0,94), lo que indica una diferencia sustancial entre ambos métodos. Los datos de pureza (ratio 260/280) de ambos métodos cumplieron con el supuesto de normalidad en todas las pruebas aplicadas, por lo que se empleó la prueba t de Student ($p < 0,05$) para muestras independientes. también se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los métodos ($p = 0,0008$).

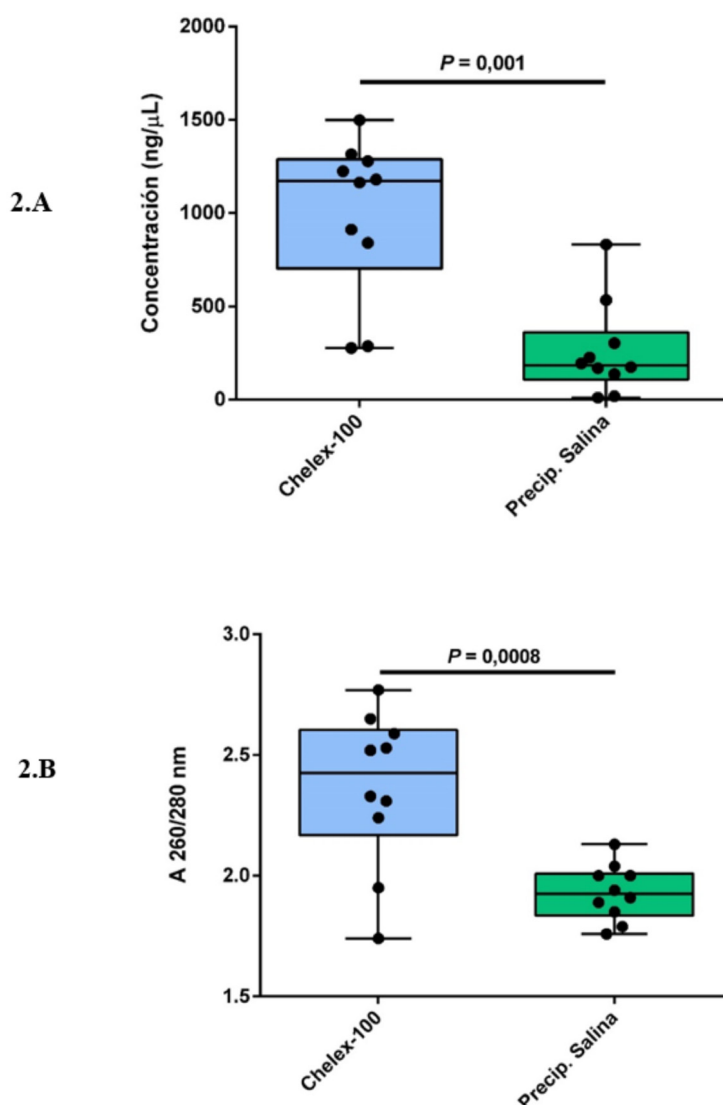
	Estadístico	Chelex	NaCl	Diferencia
Concentración (ng/ul)	N (muestras)	10	10	—
	Media	997.95	260.06	737.89
	Desviación estándar	421.74	249.53	443.07
	Mínimo	277.08	11.44	—
	Máximo	1,499.05	832.16	—
Pureza 260/280	N (muestras)	10.00	10.00	—
	Media	2.36	1.93	0.43
	Desviación estándar	0.32	0.12	0.36
	Mínimo	1.74	1.76	—
	Máximo	2.77	2.13	—

Tabla 2. Cálculos estadísticos descriptivos de la concentración de ADN y pureza 260/280 se-

gún método de extracción utilizado.

Integridad del ADN

Los resultados de las muestras de ADN sometidas a electroforesis en geles de agarosa mostraron diferencias entre los métodos de extracción evaluados. En el primer gel (Fig. 3, Carriles 1 – 4) el ADN extraído mediante precipitación con sales presentó bandas de ADN visibles, aunque con migración ligeramente irregular que sugiere ADN excesivo, o degradación del mismo. Por otra parte, la extracción con resina Chelex – 100 (Fig. 3, Carriles 5 – 7) no mostro bandas consistentes. Con el fin de evaluar el efecto de coexistencia de ARN en la extracción, se realizó un segundo ensayo en el que el ADN extraído con el método de precipitación salina (NaCl) fue tratado con *ARNasa* (20mg/ml HiMedia, India), y sin *ARNasa*. Del mismo modo, todas las muestras fueron llevadas a 100 ng/ μ L con el fin de evitar variaciones asociadas a diferencias de concentración. En este gel (Fig. 4, Carril 1), una de las muestras tratadas presentó una banda bien definida, mientras que las otras (Fig.4, Carril 4 y 7) no son visualmente consistentes, por otro lado, las tres muestras sembradas que fueron extraídas con sales sin tratamiento con *ARNasa* (Fig. 4, Carriles 2,5) mostraron bandas de buena intensidad, mientras



que una de las muestras mostro una banda tenue (Fig.4, Carril 8) En contraste, las extraídas

con resina Chelex – 100 (Fig.4, Carriles 3,6,9) no produjeron bandas visualmente detectables.

Figura 2. Evaluación de concentración y pureza. Se utilizaron las mismas 10 muestras de camarón para ambos métodos. Las cajas representan los percentiles, la línea media indica la mediana y los bigotes extienden los valores mínimos y máximos. Los puntos negros representan la distribución de los datos individuales de cada muestra. **2.A.** Comparación de la concentración (ng/μL) entre el método de Chelex-100 (azul) y Precipitación Salina (verde). La diferencia estadística de $p = 0,001$. **2.B.** Evaluación de la calidad del ADN extraído utilizando Chelex-100 (azul) y Precipitación Salina (verde). La diferencia estadística $p = 0,0008$.

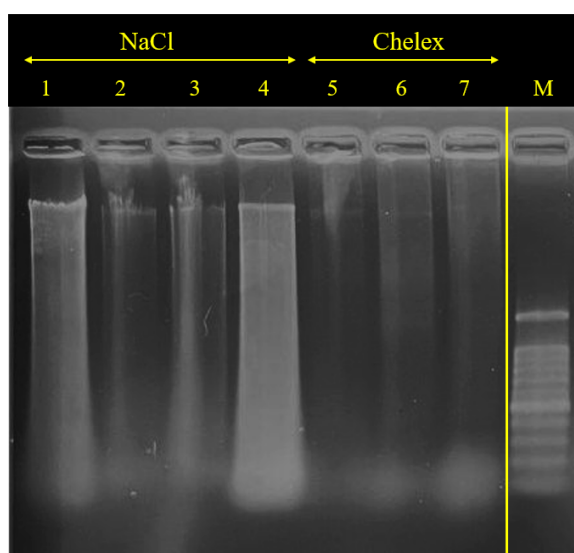
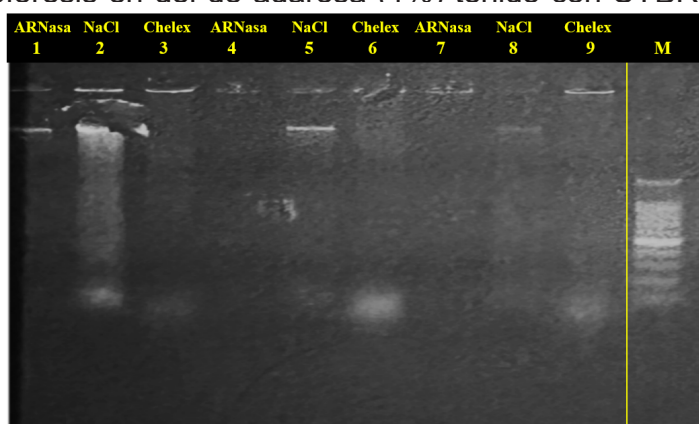


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, Estados Unidos); Carriles 1-4: ADN extraído mediante solución salina (NaCl); Carriles 5-7: ADN extraído con resina Chelex-100. Carril M: Marcador de peso molecular, 100 pb (Promega, Madison, Estados Unidos).

Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa (1%) teñido con SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad,



Estados Unidos), mediante precipitación con sales y resina Chelex-100, con y sin tratamiento de ARNasa (20mg/ml HiMedia, India). Carriles 1, 4 y 7: ADN extraídos con sales tratadas con ARNasa; Carriles 2, 5 y 8: ADN extraídos con sales sin tratamiento; carriles 3, 6 y 9: ADN extraídos con Chelex-100 sin tratamiento. Carril M: Marcador de peso molecular, 100 pb (Promega, Madison, Estados Unidos).

Discusión

Concentración y pureza del ADN

La cantidad de ADN extraído es un factor crítico para garantizar el éxito de los análisis moleculares, ya que concentraciones insuficientes pueden comprometer la reproducibilidad de los resultados (Ruggieri et al., 2016). En el presente estudio, el método Chelex-100 produjo concentraciones significativamente mayores ($997,9 \pm 421,7$ ng/ μ L) en comparación con la precipitación con solución salina ($260,1 \pm 249,5$ ng/ μ L) (U de Mann-Whitney, $p = 0,001$). Sin embargo, dado que los datos de concentración no cumplieron con el supuesto de normalidad, esto podría comprometer la estandarización del proceso de extracción. Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Yang et al. (2024), quienes también observaron mayor concentración mediante extracción de ADN por resina Chelex frente a otros protocolos. No obstante, una mayor concentración no necesariamente refleja mayor cantidad de ADN genómico, como ha sido reportado por Rodríguez-Riveiro et al (2022). En contraste, las muestras obtenidas mediante precipitación salina presentaron una menor variabilidad (± 249.5 ng/ μ L), indicando mayor homogeneidad y reproducibilidad entre muestras. En este sentido, Lutz et al. (2023) señalaron que, aunque la concentración obtenida por precipitación salina puede ser menor en comparación con otros métodos, resulta igualmente efectiva, alineándose así con los resultados encontrados en este estudio.

Por otro lado, la pureza del ADN extraído es un parámetro esencial para garantizar análisis moleculares posteriores, dado que la presencia de contaminantes como ARN, proteínas y residuos de solventes puede inhibir reacciones enzimáticas como la PCR (Olson & Morrow, 2012). En el presente estudio, las muestras extraídas mediante precipitación con solución salina presentaron valores promedio de 260/280 de 1.93 ± 0.11 , dentro del rango óptimo, indicando una adecuada pureza del ADN obtenido. En concordancia con lo reportado por Lutz et al. (2023), quienes también observaron que el método por precipitación salina arrojó valores medios de 260/280 dentro del rango considerado como ADN puro. Por su parte, las muestras extraídas con Chelex-100 presentaron valores promedio de 2.36 ± 0.32 , superiores al rango óptimo. Se observaron diferencias significativas entre ambos métodos (t-student, $p = 0,0008$).

Con el fin de evaluar el efecto del ARN coextraído, se realizó un tratamiento con *ARNasa* en muestras obtenidas mediante solución salina. Tras el tratamiento enzimático, los valores de 260/280 obtenidos fueron 1.77, 1.75, 1.87 y 1.83, todos dentro del rango óptimo, con concentraciones de 1158.36, 329.01, 627.24 y 539.28 ng/ μ L respectivamente. Estos resultados confirman que parte de la señal espectrofotométrica registrada previamente correspondía a ARN coextraído, y que su eliminación mediante *ARNasa* permite obtener valores de pureza más confiables. Estos resultados coinciden, desde esta perspectiva, con Lopera et al. (2008) quienes demostraron la efectividad del protocolo modificado de extracción con sales, que incorpora el tratamiento con *ARNasa* en dicho protocolo precisamente para corregir la contaminación por proteínas y ARN.

Los resultados revelan un marcado contraste entre ambos métodos de extracción en términos de rendimiento y calidad. En primer lugar, el método basado en Chelex logró una mayor concentración media de ADN, pero con una elevada variabilidad entre muestras individuales, lo que compromete la consistencia de su rendimiento. Además, las lecturas de absorbancia 260/280 indicaron que este procedimiento superó el límite óptimo de pureza, sugiriendo ADN excesivo, degradación del mismo o coexistencia de ARN. En contraposición, el método salino demostró ser una alternativa más homogénea, aunque produjo una menor concentración total de ADN, su rendimiento fue considerablemente más estable entre los análisis realizados.

Integridad del ADN en geles de agarosa

La electroforesis en geles de agarosa se utiliza para separar, analizar, identificar y purificar fragmentos de ADN. Esta técnica es sencilla, rápida y permite separar fragmentos de ADN que no se pueden separar adecuadamente mediante otros procedimientos, como la centrifugación en gradiente de densidad (Green & Sambrook, 2019). En el presente estudio, los resultados obtenidos mediante electroforesis fueron variables entre los métodos evaluados y consistentes con los datos espectrofotométricos.

Las muestras extraídas mediante precipitación salina (Fig. 3, carriles 1–4) presentaron bandas visibles a una altura uniforme, indicando consistencia en el peso molecular entre muestras. No obstante, la migración observada podría atribuirse a la coexistencia de ARN coextraído, a la presencia excesiva de ADN y cierto grado de degradación del mismo. Resultados similares fueron reportados por Kamilari et al. (2025), quienes observaron que el método salino produjo el mejor perfil de bandas en términos de integridad y alto peso molecular en comparación con otros métodos evaluados, a pesar de la migración irregular. Por su parte, las muestras extraídas con Chelex-100 (Fig. 3, carriles 5–7) no mostraron bandas consistentes, a pesar de haber presentado las mayores concentraciones espectrofotométricas, en concordancia con el artículo mencionado anteriormente (Kamilari et al., 2025).

Con respecto al ensayo de las muestras extraídas con solución salina tratadas con *ARNasa* y su visualización electroforética (Fig. 4). Una de las muestras tratadas con *ARNasa* presentó una banda bien definida (Fig. 4, Carril 1), confirmando que la eliminación del ARN coextraído mejora la nitidez de la visualización del ADN. Sin embargo, las muestras sin tratamiento enzimático presentaron bandas de mayor intensidad (Fig. 4, Carriles 2,5), lo que podría estar relacionado con pasos adicionales de manipulación durante el ensayo con *ARNasa*, como la nivelación de todas las muestras a 100 ng/ μ l con el fin de evitar variaciones asociadas a diferencias de concentración que podrían resultar en alguna pérdida de material, aunque esta hipótesis requiere investigación adicional. Este resultado se relaciona de manera parcial respecto a lo descrito por Lopera et al. (2008), no obstante, esta discrepancia genera una vía a nuevas investigaciones que exploren las variables subyacentes. La migración adicional observada en algunas muestras respondió a una concentración elevada de ADN, por lo que la normalización de las muestras a 100 ng/ μ l antes de la electroforesis permitió obtener patrones de migración más homogéneos. Nuevamente, las muestras de Chelex-100 no produjeron bandas detectables, reforzando su bajo rendimiento en términos de integridad del ADN visualizable por electroforesis.

Conclusiones

Los resultados obtenidos evidencian que la precipitación con solución salina (NaCl) constituye el método de extracción de ADN más apropiado frente al Chelex-100, al ofrecer mayor pureza, homogeneidad e integridad del material genético obtenido. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el método salino, junto con la normalización de las muestras a 100 ng/ μ l antes de la electroforesis, representa una alternativa confiable, reproducible y accesible para la obtención de ADN de calidad. Finalmente, se recomienda que investigaciones futuras amplíen la comparación entre protocolos de extracción mediante la incorporación de kits comerciales de nueva generación, manteniendo los métodos clásicos como referencia. Asimismo, resulta necesario ampliar el alcance de dichas comparaciones a otros grupos de relevancia pesquera, incluyendo cefalópodos, moluscos y crustáceos, y evaluar el efecto de diversas condiciones de preservación del tejido sobre el rendimiento y calidad del ADN extraído.

Agradecimientos

A la Dra. Luz Cardozo del Departamento de Microbiología e Inmunología, a la Dra. Paz Benítez y al Dr. Julio Ovelar, del Departamento de Reproducción Animal, a la Lic. Graciela Ruíz Díaz, del Departamento de Patología Clínica y al Lic. Elvio Gayoso, del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por facilitar el uso de sus equipos y asistencia técnica en la preparación de los reactivos para este estudio.

Referencias bibliográficas

- Aljanabi, S. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25(22), 4692–4693. <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
- Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *Journal Of Visualized Experiments*, 1. <https://doi.org/10.3791/2565>
- Dairawan, M., & Shetty, P. J. (2020). The evolution of DNA extraction methods. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 8(1), 39–45. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2020.08.001234>
- Goldberg, S. (2015). Métodos mecánicos/físicos de distribución celular y homogeneización de tejidos. En A. Posch (Ed.), *Perfilado proteómico* (pp. 1–20). Humana Press.
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Analysis of DNA by agarose gel electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(1), pdb.top100388. <https://doi.org/10.1101/pdb.top100388>
- Henderson, G., Cox, F., Kittelmann, S., Miri, V. H., Zethof, M., Noel, S. J., Waghorn, G. C., & Janssen, P. H. (2013). Effect of DNA extraction methods and sampling techniques on the apparent structure of cow and sheep rumen microbial communities. *PLoS ONE*, 8(9), e74787. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074787>
- Ip, S. C., Lin, S., & Lai, K. (2015). An evaluation of the performance of five extraction methods: Chelex® 100, QIAamp® DNA Blood Mini Kit, QIAamp® DNA Investigator Kit, QIAasymp® DNA Investigator® Kit and DNA IQTM. *Science & Justice*, 55(3), 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.01.005>
- Kamilari, M., Papaioannou, C., Augustinos, A., Spinos, E., Giantsis, I. A., Ramfos, A., Theodorou, J. A., & Batargias, C. (2025). From shell to sequence: Optimizing DNA extraction and PCR for pen shell identification. *Water*, 17(8), 1162. <https://doi.org/10.3390/w17081162>
- Kang, M., Yang, J. S., Kim, Y., Kim, K., Choi, H., & Lee, S. H. (2018). Comparison of DNA extraction methods for drug susceptibility testing by allele-specific primer extension on a microsphere-based platform: Chelex-100 (in-house and commercialized) and MagPurix TB DNA Extraction Kit. *Journal of Microbiological Methods*, 152, 105–108. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.07.019>
- Kim, M., Shin, D., Kaphuka, B. R., Hwang, J. Y., & Kim, K. (2025). Optimal use of non-lethal sampling for white spot syndrome virus diagnosis in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 605, 742519. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742519>
- Lee, S. B., & Shewale, J. G. (2017). Métodos de extracción de ADN en análisis forense. En R. A. Meyers (Ed.), *Enciclopedia de Química Analítica* (pp. 1–18). John Wiley & Sons.

- Lopera-Barrero, N. M., Povh, J. A., Ribeiro, R. P., Gomes, P. C., Jacometo, C. B., & Da Silva Lopes, T. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1). <https://doi.org/10.4067/S0718-16202008000100008>
- Lutz, Í., Miranda, J., Santana, P., Martins, T., Ferreira, C., Sampaio, I., Vallinoto, M., & Gomes, G. E. (2023). Quality analysis of genomic DNA and authentication of fisheries products based on distinct methods of DNA extraction. *PLoS ONE*, 18(2), e0282369. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282369>
- Megacadena. (2025, 4 septiembre). Inauguran temporada de reproducción de camarón de agua dulce en la FCV-UNA. Megacadena - Diario Digital. <https://megacadena.com.py/inauguran-temporada-de-reproduccion-de-camaron-de-agua-dulce-en-la-fcv-una/>
- Miller, S., Dykes, D. y Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res.* 16, 1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
- Olson, N. D., & Morrow, J. B. (2012). DNA extract characterization process for microbial detection methods development and validation. *BMC Research Notes*, 5(1), 668. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-668>
- Rodríguez-Riveiro, R., Velasco, A., & Sotelo, C. G. (2022). The influence of DNA extraction methods on species identification results of seafood products. *Foods*, 11(12), 1739. <https://doi.org/10.3390/foods11121739>
- Ruano, G., & Kidd, K. K. (1991). Coupled amplification and sequencing of genomic DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(7), 2815–2819. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.7.2815>
- Ruggieri, J., Kemp, R., Forman, S., & Van Eden, M. E. (2016). Techniques for nucleic acid purification from plant, animal, and microbial samples. En *Springer Protocols Handbooks/Springer Protocols* (pp. 41–52). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3185-9_4
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors: Occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Tan, S. C., & Yiap, B. C. (2009). DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *BioMed Research International*, 2009(1), 574398. <https://doi.org/10.1155/2009/574398>
- Welsh, J., & McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24), 7213–7218. <https://doi.org/10.1093/nar/18.24.7213>
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531–6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- Wpadmin. (2023, 4 julio). Paraguay explora cría de camarón de agua dulce. *Revista Corporativa Global | Más Que una Revista*. <https://corporativaglobal.com/paraguay-explora-cria-de-camaron-de-agua-dulce/>
- Yang, H., Zhou, Q., Hu, J., Bao, Z., & Wang, M. (2024). A Chelex-100-based rapid DNA extraction method and its application in the detection of shrimp pathogens. *Electronic Journal of Biotechnology*, 70, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2024.04.004>

