



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE 10% *NANNOCHLOROPSIS GADITANA*  
EN LA DIETA DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*SALMO SALAR*) SOBRE  
PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE ESMOLT**

**BRYAN BRANDON DONOSO DANYAN**

**Santiago, Chile  
2022**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS  
ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE 10% *NANNOCHLOROPSIS GADITANA*  
EN LA DIETA DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*SALMO SALAR*) SOBRE  
PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE ESMOLT**

**EFFECT OF THE INCLUSION OF 10% *NANNOCHLOROPSIS GADITANA*  
IN THE DIET OF ATLANTIC SALMON (*SALMO SALAR*) ON  
PRODUCTIVE PARAMETERS AND QUALITY OF ESMOLT**

**BRYAN BRANDON DONOSO DANYAN**

**Santiago, Chile  
2022**



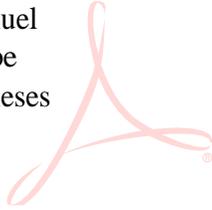
# UNIVERSIDAD DE CHILE

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE PREGRADO

### EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE 10% *NANNOCHLOROPSIS GADITANA* EN LA DIETA DE SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*SALMO SALAR*) SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE ESMOLT

Memoria para optar al título profesional de:  
Ingeniero Agrónomo

**BRYAN BRANDON DONOSO DANYAN**

		Calificación
<b>Profesor Guía</b> Sr. Jurij Wacyk G. Ingeniera Agrónomo, M.Sc., Ph. D.		6,0
<b>Profesores Evaluadores</b> Sr. Héctor Uribe M. Médico veterinario M.Sc., Ph. D.		6,7
Sr. Juan Manuel Uribe M. Ingeniero Agrónomo.	Juan Manuel Uribe Meneses 	7,0

Santiago, Chile  
2022

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mi familia por su apoyo incondicional en este proceso.

A mi profesor guía Jurij Wacyk y la compañera de doctorado Ivonne Lozano por el compromiso en las correcciones, consejos y aportes para mi escrito.

A la empresa Salmones Reloncaví AquaChile y el personal por su disponibilidad especialmente a don Fernando Nahuelanca por sus consejos quien siempre tuvo muy buena disposición para explicar y ayudar en el proceso del experimento.

Agradecer también al Proyecto del Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondef) IT18I0067 por financiar mi tesis por medio del proyecto denominado “Mejoramiento del proceso de esmoltificación en *Salmo salar* mediante el uso de un aditivo dietario microalgal”.

A mis amigos por su apoyo en momentos difíciles especialmente Fariña por el periodo en Hornopirén.

Finalmente, Viracocha (Dios) y todos los que de una u otra manera contribuyeron en esta hermosa etapa.

*"Acepten la injusticia,  
traguén el veneno; que todo se equilibra al final".*

**Marcelo Bielsa**

## INDICE

1.	<b>RESUMEN</b> .....	1
2.	<b>ABSTRACT</b> .....	2
3.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
3.1.	Contexto general de la producción de salmónidos en Chile .....	3
3.2.	Dietas en acuicultura.....	3
3.3.	Ingredientes alternativos.....	4
3.4.	Las algas como alternativa .....	4
3.5.	Esmoltificación y ácidos grasos.....	5
4.	<b>HIPOTESIS</b> .....	7
5.	<b>OBJETIVOS</b> .....	7
5.1.	Objetivo general.....	7
5.2.	Objetivos específicos .....	7
6.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	8
6.1.	Elaboración de dietas experimentales .....	8
6.2.	Ubicación del estudio .....	10
7.	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	11
7.1.	Procedimiento de Muestreo .....	13
8.	<b>DETERMINACIONES</b> .....	14
8.1.	Parámetros Productivos .....	14
8.1.1	Tasa específica de crecimiento (SGR).....	14
8.1.2	Factor de conversión alimenticia (FCR).....	14
8.1.3	Factor de condición (K) .....	14
8.2.	Parámetros Morfológicos.....	15
9.	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	17
9.1.	Modelo estadístico .....	17
10.	<b>RESULTADOS</b> .....	18
10.1.	Consumo de alimento, Biomasa inicial y Biomasa final por tratamiento.....	18
10.2.	Peso por Tratamiento.....	19
10.3.	Largo por Tratamiento.....	20
10.4.	Factor de conversión alimenticia .....	21
10.5.	Tasa específica de crecimiento .....	22
10.6.	Factor de condición.....	23
10.7.	Calidad de esmolt a nivel visual .....	24
11.	<b>DISCUSIÓN</b> .....	25
11.1.	Parámetros productivos.....	25
11.2.	Calidad de esmoltificación.....	28
12.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	30
13.	<b>COMENTARIOS</b> .....	31
14.	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	32
15.	<b>APÉNDICE I</b> .....	39

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Formulación de las dietas experimentales con TC y TI (%/del total).	8
<b>Cuadro 2.</b> Composición proximal de dietas experimentales enriquecidas con TC y TI (g/100g).	9
<b>Cuadro 3.</b> Perfil de ácidos grasos de dietas experimentales enriquecidas con TC y TI (g/100g).	9
<b>Cuadro 4.</b> Distribución de las dietas en los estanques.	12
<b>Cuadro 5.</b> Pauta de identificación de calidad de esmolt para <i>Salmo salar</i> por parámetros morfológicos.	15
<b>Cuadro 6.</b> Parámetros para la evaluación de calidad de esmolt en salmón del Atlántico ( <i>Salmo salar</i> ) por parámetros morfológicos.	16
<b>Cuadro 7.</b> Promedio del consumo final, biomasa inicial en el día uno y biomasa final al día 60 en <i>Salmo salar</i> alimentados con dietas TI y TC.	18
<b>Cuadro 8.</b> Peso promedio en el día uno, treinta y sesenta en <i>Salmo Salar</i> alimentados con dietas tratadas con TI y TC.	19
<b>Cuadro 9.</b> Largo en el día uno, treinta y sesenta en <i>Salmo salar</i> alimentados con dietas tratadas con TI y TC.	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Imagen satelital Piscicultura Salmones Reloncaví.	10
<b>Figura 2.</b> Fotografía de la Sala Bioensayo Piscicultura Salmones Reloncaví.	11
<b>Figura 3.</b> Fotografía de los alimentos utilizados. Grupo de pellet de la derecha es el tamaño del periodo de aclimatación (2,3 mm), pellet de la izquierda es el tamaño de Tratamiento Control (3,0 mm) y grupo de pellet del centro es el tratamiento con inclusión de 10% de NG (3,0 mm).	12
<b>Figura 4.</b> Factor de conversión alimenticia con dietas tratadas con TI y TC en <i>Salmo salar</i> .	21
<b>Figura 5.</b> Tasa específica de crecimiento con dietas tratadas con TI y TC en <i>Salmo salar</i> .	22
<b>Figura 6.</b> Factor de condición con dietas tratadas con TI y TC en <i>Salmo salar</i> .	23
<b>Figura 7.</b> Calidad de esmoltificación a nivel visual con dietas tratadas con TI y TC en <i>Salmo salar</i> .	24

## ABREVIACIÓN

ADC	Coeficiente de digestibilidad aparente.
ARA	Ácido Araquidónico.
AG	Ácidos grasos.
DHA	Ácido Docosaheptanoico.
EPA	Ácido Eicosapentaenoico.
FCR	Factor de Conversión de alimento.
GH	Hormona del crecimiento.
HPI	Eje hipotalámico-pituitario-interrenal.
K	Factor de Condición.
NG	<i>Nannochloropsis gaditana</i> .
NC	<i>Nannochloropsis sp.</i>
NO	<i>Nannochloropsis oceánica</i> .
R1TI	Repetición uno Tratamiento con Inclusión de 10% de <i>Nannochloropsisgaditana</i> .
R1TC	Repetición uno Tratamiento Control.
R2TI	Repetición dos Tratamiento con Inclusión de 10% de <i>Nannochloropsis gaditana</i> .
R3TI	Repetición tres Tratamiento con Inclusión de 10% de <i>Nannochloropsisgaditana</i> .
R2TC	Repetición dos Tratamiento Control.
R3TC	Repetición tres Tratamiento Control.
SGR	Tasa Específica de Crecimiento.
TI	Tratamiento con Inclusión de 10% de <i>Nannochloropsis gaditana</i> .
TC	Tratamiento Control.

## 1. RESUMEN

Chile se posiciona como el segundo productor de salmones a nivel mundial después de Noruega, siendo clave en la economía chilena correspondiendo al segundo producto exportable luego del cobre, seguido por cerezas y vino embotellado.

El uso de harina y aceite de pescado se encuentra limitado por la pesca de diversas especies del mar; esto debido a que existe una alta utilización de recursos que impactan negativamente en la conservación de los ecosistemas marinos. Por lo tanto, la disminución en el uso de productos marinos ha provocado que disminuya drásticamente la incorporación de ácido eicosapentaenoico (EPA), por lo que se hace necesario buscar alternativas para mejorar su nivel en la dieta de los peces. Una de las alternativas para disminuir el uso de harina y aceite de pescado son las microalgas, ya que poseen un perfil de ácidos grasos adecuado, que incluyen ácido araquidónico (ARA), ácido docosahexaenoico (DHA) y EPA, permitiendo que se estimule el buen crecimiento de los peces, preservando la calidad nutricional de energía y nutrientes, su sobrevivencia y la resistencia al estrés hipersalino.

Durante la vida de los salmónidos ocurre un proceso llamado esmoltificación al cual se le atribuye la pre-adaptación de la migración de agua dulce y entrada al mar, que implica cambios hormonales y una mayor actividad de la enzima  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa, trayendo a su vez, cambios fisiológicos, morfológicos y de comportamiento para la adaptación de un medio hipoosmótico a uno hiperosmótico. En cuanto a su morfología, los peces experimentan un proceso de cambio de color y de forma de su cuerpo, donde las algas contribuyen a partir de sus ácidos grasos, como ARA, a promover la respuesta al estrés hipersalino y a la capacidad hipoosmorreguladora. Por otra parte, EPA permite aumentar la tolerancia al agua de mar y se involucra en los procesos antiinflamatorios. Por esta razón es que la *Nannochloropsis gaditana*, dado al contenido de nutrientes que posee, podría contribuir con un buen perfil de ácidos grasos y a mejorar el crecimiento en *Salmo salar*.

Debido a lo descrito anteriormente, se realizó un bioensayo para estudiar los efectos de la inclusión del 10% de *Nannochloropsis gaditana* sobre los parámetros productivos y calidad de esmolt a nivel visual en *Salmo salar*. Los peces fueron alimentados con dietas con 0 y 10% de inclusión de *Nannochloropsis gaditana* durante 60 días, siendo las dietas distribuidas aleatoriamente a cada estanque en triplicado. En el experimento se logró mejorar la calidad de esmoltificación a nivel visual y el factor de condición en los peces que fueron alimentados con la dieta con 10% *Nannochloropsis gaditana* (TI) en comparación del tratamiento control (TC). Sin embargo, se obtuvo una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) en los peces alimentados con la inclusión de microalga, en los parámetros de aumento de peso, el factor de conversión y en la tasa de crecimiento específico.

Palabras clave: Microalgas: *Nannochloropsis gaditana*, esmoltificación.

## 2. ABSTRACT

Chile is the second producer of salmon in the world after Norway, and salmon is the second largest exportable product after copper, followed by cherries and bottled wine.

The use of fishmeal and fish oil is limited by the fishing of various marine species; this is due to the fact that there is a high utilization of resources that negatively impact in the conservation of marine ecosystems. Therefore, the reduction in the use of marine products has caused a drastic decrease in the incorporation of eicosapentaenoic acid (EPA), making it necessary to look for alternatives to improve its level in the fish diet. One of the alternatives to reduce the use of fishmeal and fish oil are microalgae, since they have an adequate fatty acid profile, including arachidonic acid (ARA), docosahexaenoic acid (DHA) and EPA, which stimulate a good growth of fish, preserving the nutritional quality of energy and nutrients, their survival and resistance to hypersaline stress.

During the life of salmonids, a process called smoltification occurs, which is responsible for to the pre-adaptation of freshwater migration and entry into the sea, involving hormonal changes and increased activity of the enzyme  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - ATPase, bringing about, physiological, morphological, and behavioral changes to adapt from a hypoosmotic to a hyperosmotic environment. Regarding their morphology, fish undergo a process of color and body shape change, where algae contribute, due to their fatty acids content such as ARA, to promote the response to hypersaline stress and hypoosmoregulatory capacity. Moreover, EPA allows to increase tolerance to seawater and is involved in anti-inflammatory processes. For this reason, *Nannochloropsis gaditana*, due to its nutrient content, could contribute with a good fatty acid profile and improve growth in *Salmo salar*.

Due to the above, a bioassay was conducted to study the effects of the inclusion of 10% of *Nannochloropsis gaditana* on the productive parameters and visual smolt quality in *Salmo salar*. Fish were fed diets with 0 and 10% inclusion of *Nannochloropsis gaditana* for 60 days, being the diets randomly distributed to each fish tank in triplicate. In the experiment, it was possible to improve the quality of smoltification at the visual level and the condition factor in the fish that were fed with the diet with 10% *Nannochloropsis gaditana* (TI) diet compared to the control treatment (TC). However, a significant decrease ( $p < 0.05$ ) was obtained in fish fed with the inclusion of microalgae, in the parameters of weight gain, conversion factor and specific growth rate.

Key words: Microalgae, *Nannochloropsis gaditana*, smoltification.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1. Contexto general de la producción de salmónidos en Chile

A nivel mundial, la salmonicultura se ha convertido en una de las principales soluciones alimentarias para la población asociado al aumento proyectado por la demanda de proteína animal en el mundo al 2050. La producción de dicha proteína con peces sobresale por la eficiencia de conversión de alimento, donde inicialmente se requería entre 2,5 a 5 kg de alimento por cada kilogramo de pez producido (Claude *et al.*, 2000) y en la actualidad, el factor de conversión se encuentra aproximadamente en 1,2. Esta mejora se ha alcanzado en un período de menos de 30 años gracias a los avances de la tecnología, mejor alimentación, capacitación y gestión en los centros de cultivos (Hasan & Soto, 2017). Las mejoras en la conversión de alimento favorecen también al aumento en la eficiencia hídrica e incrementan el valor nutricional, especialmente a la disponibilidad de ácidos grasos Omega 3 en comparación con carnes rojas (Fry *et al.*, 2018).

Chile ha logrado posicionarse como el segundo productor de salmónidos a nivel mundial después de Noruega, en particular con salmón del Atlántico, alcanzando una exportación que bordea las 787.131 toneladas con setenta destinos diferentes y con un monto de ventas de US\$ 4.008 millones (Banco Central de Chile, 2021a). La exportación de salmónes se considera clave en la economía chilena, siendo el segundo producto exportable luego del cobre y seguido por cerezas y vino embotellado. Las principales especies exportadas para el 2021 fueron el salmón del Atlántico representando un 85,6% seguida por la Trucha Arcoíris con el 7,7% de la producción total del país (Banco Central de Chile, 2021b).

De manera muy general, la primera parte del ciclo productivos del salmón del Atlántico se desarrolla en estanques de agua dulce (etapa de alevín parr) hasta que esmoltifican, permitiendo su posterior traslado a fase de cultivo en diversos sistemas en agua de mar. Según cifras de Sernapesca (2021) la cosecha acuícola en Chile se distribuye en la región de Los Lagos con 468.157 ton. (42,2%), Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo con 428.619 ton. (40,5%) y Magallanes con 180.479 ton. (17,1%).

#### 3.2. Dietas en acuicultura

La alta demanda de alimento y el estancamiento de la productividad de los mares ha hecho que los precios de los ingredientes marinos ocupen más de un 50% de los costos totales de la producción, forzando al uso de ingredientes de origen vegetal como remplazo. Esto ha afectado a la eficiencia al uso de los nutrientes, debido a bajas en la digestibilidad aumentando la contaminación ambiental y dañando la conservación de los recursos marinos (Naylor *et al.*, 2021). Estos impactos están asociados entre otros, al alimento no utilizado y a la acumulación de subproductos metabólicos en dietas con altos reemplazos de ingredientes marinos, por lo que se ha buscado alternativas que permitan una productividad sostenible y buen crecimiento de los peces (Madrid, 2019).

### 3.3. Ingredientes alternativos

Uno de los sustitutos utilizados en la actualidad es el reemplazo parcial o completo de ingredientes marinos por alternativas de origen vegetal, entregándose así fuentes de energía y otros nutrientes requeridos por los peces (Valenzuela *et al.*, 2012). Actualmente las principales alternativas de aceite son el aceite de canola y soya (Tocher, 2010).

Sin embargo, esta estrategia tiene limitaciones ya que el pez necesita ingerir niveles adecuados tanto de EPA como de DHA preformados, donde, dada la composición de los aceites vegetales pueden generar deficiencias o desbalances nutricionales, que se han visto asociados a enfermedades y bajas productivas ya que los perfiles de ácidos grasos (AG) en dietas con altos niveles de reemplazo no son los adecuados para *Salmo salar* (Ardekani *et al.*, 2019). Por otro lado, el uso de ingredientes proteicos de origen vegetal ofrecen una buena disponibilidad y precios competitivos, aun así, su uso también es acotado en comparación con la harina de pescado, principalmente por déficit en algunos aminoácidos y a problemas asociados a factores anti nutricionales (sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de plantas) causando efectos fisiológicos poco deseables como problemas en la palatabilidad, disminución en la digestibilidad, ingesta de alimento y asimilación de los nutrientes (Krogdahl *et al.*, 2010; Jorge *et al.*, 2019).

Por esta razón la industria acuícola ha buscado diversificar la oferta de ingredientes para la fabricación de dietas para peces de cultivo a partir del uso de microalgas, ya que estas cuentan con nutrientes fundamentales para la vida del *Salmo salar* (Harwood *et al.*, 2019).

### 3.4. Las algas como alternativa

Las microalgas son organismos unicelulares ampliamente utilizados en la alimentación humana y animal como productos nutraceuticos (componentes del alimento o partes de este) aportando beneficios a la salud previniendo enfermedades (Sarker *et al.*, 2016).

Su producción en cultivo depende de condiciones óptimas de crecimiento considerando factores como temperatura, pH, minerales, fuente y concentración de CO<sub>2</sub> y nitrógeno. Sin embargo, en la actualidad su cultivo se dificulta por una elevada demanda tecnológica y altos costos de inversión alcanzando un rendimiento limitado (Guschina *et al.*, 2006). Estos ingredientes pueden tener un alto valor nutricional y pueden usarse con menores niveles de procesamiento permitiendo disminuir la huella de carbono en el medio ambiente (Taelman *et al.*, 2013).

Por otro lado, las algas de cultivo no presentan sustancias dañinas encontradas en algunas fuentes de aceite de pescado, como la presencia de aminas biogénicas (afectan al hígado de los peces e incluso pueden desencadenar esteatohepatitis), metales pesados (mercurio, plomo, cadmio, plomo, cromo o arsénico) y otros compuestos tóxicos (PCBs, dioxinas, PDEs y PCP's) (Cruz *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2014).

En la producción de salmónidos se buscan alimentos que permitan obtener un perfil de ácidos grasos adecuados pudiendo las algas contribuir con ARA, DHA y EPA, donde, a partir de estas y otras características nutricionales se ha descrito mejoras en el crecimiento, una mayor preservación de la calidad nutricional, altas tasas de supervivencia y resistencia al estrés hipersalino en la vida del salmón (Carrier *et al.*, 2011; Gong *et al.*, 2020).

Por otra parte, las algas se distinguen por tener no solo un perfil interesante de ácidos grasos poliinsaturado (PUFAs), sino que son una fuente elevada de aminoácidos, lípidos, vitaminas esenciales (B6, B12 y E) y minerales (Spolaore *et al.*, 2006). Dependiendo del alga se han descrito propiedades antioxidantes y buenas fuentes de pigmentos naturales ( $\beta$  caroteno, astaxantina) las que mejoran la calidad de la canal, crecimiento, tasa de supervivencia y morfología gastrointestinal de los peces (Roy *et al.*, 2015; Sarker *et al.*, 2016; Camacho *et al.*, 2018). Dentro de las microalgas, el género *Nannochloropsis* son especies que se distribuyen ampliamente en los ecosistemas marinos más que los de agua dulce (Bermúdez, 2020). Este grupo de especies contienen una alta cantidad de PUFAs, como ácido eicosapentaenoico, ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico (Sanches *et al.*, 2008).

Una de ellas es la *Nannochloropsis gaditana* que puede alcanzar un alto contenido de proteínas y lípidos, de hasta un 24% y 22% respectivamente, y un perfil equilibrado de aminoácidos (Riveros *et al.*, 2018; Sara *et al.*, 2019). Esta alga se ha descrito ser un potente ingrediente funcional (antioxidantes, inmunoestimulantes, antiinflamatorios, probióticos) y por contribuir una mejora en el crecimiento, eficiencia de conversión de alimento, funciones fisiológicas, respuesta al estrés, tolerancia al hambre, resistencia a enfermedades y calidad de la canal para las especies como *Sparus aurata* y *Salmo salar* (Jones *et al.*, 2014).

### 3.5. Esmoltificación y ácidos grasos

La etapa de esmoltificación es una de las etapas más crítica de la vida de algunos salmónidos, durante la cual se producen cambios necesarios para llevar de forma exitosa la migración desde el agua dulce al mar. Esta incluye cambios endocrinos, bioquímicos, fisiológicos, conductuales y morfológicos, como coloración de aletas y disminución en el factor de condición, siendo los peces en el periodo esmolt más delgados que en etapa parr (Delgado, 2014). Esto es el resultado de un rápido crecimiento en longitud a una tasa mayor que la de ganancia de peso permitiendo una mayor capacidad de natación en la adaptación al mar (McCormick *et al.*, 2012). Este proceso se estimula por señales ambientales como el fotoperiodo y temperatura, factores externos que son parte del calendario biológico de los peces (Carrillo *et al.*, 2009). Es así como se ha descrito que un régimen de 24 horas luz acorta el periodo en agua dulce en el cual no debe superar más allá de los 15°C ya que se ha evidenciado que disminuye el crecimiento y su desarrollo en la etapa de mar (Handeland *et al.*, 2000). Por otra parte, la nutrición y la calidad del agua toman un rol relevante ya que pueden afectar el rendimiento productivo provocando enfermedades y una elevada mortalidad en la población (Aguayo, 2003).

En cuanto a la adaptación para la entrada al mar, los salmones tienen una ventana de esmoltificación de un periodo de 35 días a 10°C (350 UTAs) tiempo adecuado que les permite prepararse para el ingreso al agua salada (Thorstad *et al.*, 2012). Estos cambios en el pez involucran un alto número de hormonas como el cortisol, hormona de crecimiento (GH) y tiroxina, las que están correlacionadas a una mayor actividad de enzimas Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - ATPasa en branquias, riñones e intestinos actuando de forma individual o sinérgica en la tolerancia al agua de mar.

De esta manera, se controla la homeostasis interna y la concentración de cloruro en las células, lo cual es esencial como fuerza motriz para el movimiento tanto de iones y de agua para mantener las condiciones osmóticas de su medio interno (Dang *et al.*, 2000; Singer *et al.*, 2003).

Desde un punto de vista nutricional, las dietas tienen que ser capaces de fortalecer y preparar al salmón para el proceso de transición, donde los nutrientes toman un rol importante ya que deben potenciar la capacidad osmorreguladora, la funcionalidad celular, fortalecimiento sanitario y por último generar robustez para el nado (Oppedal *et al.*, 1999). Es por ello, que se ha descrito que ácidos grasos (AG) como ARA y EPA son precursores de eicosanoides como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos que participan como mediadores en el sistema endocrino liberados durante el estrés a una respuesta inflamatoria aumentando la actividad del eje hipotalámico-pituitario-interrenal (HPI) y a la liberación de cortisol de los órganos internos (Bell *et al.*, 2001).

En relación con el ARA, se ha descrito que una suplementación dietética de 6-12% promueve las respuestas fisiológicas adaptativas al estrés hipersalino y en la capacidad hiposmorreguladora siendo útil como inductor y estabilizador del proceso de esmoltificación (Carrier *et al.*, 2011). Por otra parte, EPA permite aumentar la tolerancia al agua de mar y se encuentra involucrado en efectos antiinflamatorios contribuyendo a la sobrevivencia en la etapa esmolt (Sarker *et al.*, 2016).

Con respecto a la especie *Nannochloropsis gaditana* (NG) es conocida por su alto potencial de producción de EPA y ausencia de DHA (Eryalçın *et al.*, 2015; Bermúdez *et al.*, 2020). Se ha descrito que puede ser utilizado hasta una inclusión de 10% sin afectar el rendimiento productivo y a la salud del *Salmo salar* (Lozano *et al.*, 2020).

Debido a lo anterior, el motivo de este estudio es evaluar el efecto de la inclusión al 10% de *Nannochloropsis gaditana* en los parámetros productivos y en la calidad de esmolt a nivel visual en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*).

#### **4. HIPOTESIS**

La inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de alevines parr de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) mejora los parámetros productivos.

La inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de alevines parr de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) mejora la calidad de esmolt evaluado a nivel visual.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1. Objetivo general**

Estudiar efecto de la inclusión de un 10% *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de alevines parr en los parámetros productivos y en la calidad de esmolt a nivel visual en *Salmo salar*.

##### **5.2. Objetivos específicos**

Evaluar el efecto de la inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta sobre la tasa de crecimiento específico, factor de condición y eficiencia de conversión de alimento en *Salmo salar* en etapa de parr - esmolt.

Evaluar cambios morfológicos asociados a la esmoltificación de alevines parr alimentados con un 10% de *Nannochloropsis gaditana*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Elaboración de dietas experimentales

Para la elaboración de las dietas se utilizó la microalga *Nannochloropsis gaditana* (con un contenido de EPA del 10%) la cual fue entregada por el Centro de Bioinnovación de la Universidad de Antofagasta la que se usó en un nivel de inclusión de 10% en una de las dietas experimentales y 0% en el tratamiento control (**Tabla 1**).

Los ingredientes para formular las dietas del ensayo fueron proporcionados por la empresa AquaChile. Una vez formuladas, las dietas control y tratamiento con la inclusión de NG al 10% se llevaron a la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Católica de Temuco para su fabricación. Se generaron pellets con un diámetro de 3,0 mm en una extrusora de cocción clextral bc-21 (clextral, Firmmint, Francia) y usando un engrasador al vacío Dinnissen (VC10, Holanda) para completar la adición de aceite de las dietas. Finalmente, el análisis nutricional de los alimentos con inclusión de 10% de *Nannochloropsis gaditana* (TI) y dieta control (TC) se realizó en el Laboratorio de Nutrición del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

La formulación, composición proximal y perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales se muestran en los **Cuadro 1**, **Cuadro 2** y **Cuadro 3** respectivamente.

**Cuadro 1.** Formulación de las dietas experimentales en TC y TI (% del total).

INGREDIENTE (%)	TC	TI
Harina de pescado	28,00	28,00
Soya concentrada	16,64	14,90
Trigo entero	14,00	-
Harina panadera	-	7,00
Aceite de pescado	19,70	18,37
Gluten de maíz	10,00	10,00
Harina de vísceras de pollo	10,00	10,00
Fosfato monocálcico	1,00	1,00
Premix Vitamínical	0,38	0,38
L-Lisina	0,21	0,27
DL-Metionina	0,07	0,08
Inclusión A	-	10,00
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

**Cuadro 2.** Composición proximal de dietas experimentales enriquecidas con TC y TI (g/100 g).

<b>Nutriente</b>	<b>TC</b>	<b>TI</b>
Proteína cruda	51,85	45,82
Humedad	3,52	3,12
Grasa cruda	11,53	17,86
Fibra cruda	2,07	1,62
Cenizas	7,34	9,44
Sodio	0,38	1,08
Potasio	0,98	0,91
Zinc(ppm)	216,00	180,00
Energía(kcal)	3,13	3,58

**Cuadro 3.** Perfil de ácidos grasos de dietas experimentales enriquecidas con TC y TI (% del total).

	<b>TC</b>	<b>TI</b>
<b>Grasa cruda</b>	11,53	17,86
<b>Perfil de ácidos grasos (% del total de grasa)</b>		
Miristoleico/Myristoleic (9c-14:1)	0,08	0,06
Palmitico/Palmitic (16:0)	21,97	20,56
Palmitoleico/Palmitoleic (9c-16:1)	7,07	7,26
Estearico/Stearic (18:0)	4,18	4,05
Elaidico/Elaidic (9t-18:1)	0,16	0,18
Oleico/Oleic (9c-18:1)	16,89	15,13
Vaccénico/Vaccenic (11c-18:1)	3,16	3,16
Linoelaidico (18:2t)	0,00	0,00
Linoleico/Linoleic (18:2n6)	8,87	7,93
<b>Linolénico/Linolenic (18:3n3)</b>	<b>1,37</b>	<b>1,35</b>
g-linolenico / g-Linolenic [C18:3n6]	0,16	0,20
<b>Estearidónico/Stearidonic (18:4n3)</b>	<b>1,70</b>	<b>1,72</b>
Araquídico/Arachidic (20:0)	0,42	0,45
Eicosenoico/Gonodic (20:1n9)	1,27	1,38
<b>Homo-a-linoleico/Homo-a-linolenic (20:3n3)</b>	<b>0,10</b>	<b>0,11</b>
Araquidónico/Arachidonic [20:4n6]	0,61	0,71
<b>3n-Araquidónico/3n-Arachidonic (20:4n3)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>EPA (20:5n3)</b>	<b>8,98</b>	<b>10,21</b>
Behénico/Behenoic (22:0)	0,00	0,04
Erúxico/Erucic [22:1n9]	0,12	0,14
<b>DHA (22:6n3)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
Lignocérico/Lignoceric (24:0)	<b>1,13</b>	<b>1,31</b>
Nervónico/Nervonic (24:1n9)	<b>4,91</b>	<b>5,64</b>

## 6.2. Ubicación del estudio

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa Piscicultura Salmones Reloncaví ubicada en la comuna de Hualaihué localidad de Hornopirén, Región de Los Lagos (**Figura 1**).



**Figura 1.** Imagen satelital Piscicultura Salmones Reloncaví.

## 7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Previo al estudio se comenzó con una población de 600 peces a partir de una sola familia entregados por la Piscícola Salmones Reloncaví, repartidos de forma equitativa en 6 estanques (1 m<sup>3</sup>) en un sistema abierto con agua proveniente de vertiente. En estos estanques se alimentó a los peces con dieta comercial por un periodo de 14 días para su aclimatación. Cuatro días previos al inicio del ensayo, se asignó de forma aleatoria 3 repeticiones para tratamientos control (TC) y 3 repeticiones para tratamiento con 10% de NG (TI), sustituyéndose un 25% diario del alimento comercial por las dietas TC y TI hasta completar un 100% de reemplazo (**Figura 2**). Luego para el comienzo del experimento se seleccionaron 70 ejemplares de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) para cada estanque en estado de alevín parr con un peso promedio de  $88,5 \pm 11,28$  g., llegando a una densidad inicial de 5 kg/m<sup>3</sup> (**Cuadro 4**).

Se midió diariamente dos veces al día oxígeno disuelto y temperatura en el agua, con un promedio de  $10,5 \pm 1,0$  mg/l (indicador de calidad de agua) y  $9,5 \pm 0,4$ °C respectivamente, usando un dispositivo Oxyguard (Handy Polaris) (Navarro *et al.*, 2013).

Durante toda la etapa del ensayo el fotoperiodo (factor determinante para la inducción de esmoltificación) se mantuvo en verano artificial con 24 horas luz. En cuanto al periodo de alimentación fue de 60 días, iniciando el 12 de febrero y finalizando el 12 de abril con una frecuencia de alimentación cada dos horas de forma manual entre las 08:00 am y las 00:00am.



**Figura 2.** Fotografía de la Sala Bioensayo Piscicultura Salmones Reloncaví.

**Cuadro 4.** Distribución de las dietas en los estanques.

N° Estanque	Descripción del Estanque	Tratamiento
402	R1TC	TC
403	R1TI	TI
404	R2TI	TI
405	R2TC	TC
406	R3TI	TI
407	R3TC	TC



**Figura 3.** Fotografía de los alimentos utilizados. Grupo de pellet de la derecha es el tamaño del periodo de aclimatación (2,3 mm), pellet de la izquierda es el diámetro del Tratamiento Control (3,0 mm) y grupo de pellet del centro es el Tratamiento con inclusión de 10% de NG (3,0 mm).

### 7.1. Procedimiento de Muestreo

Se efectuaron muestreos de toda la población para la obtención de registro de talla y peso, mientras que para la calidad de esmolt a nivel visual se tomaron muestras de ocho peces por estanque, donde, en ambos parámetros ya sea morfológicos y productivos se realizaron en tres momentos distintos al día 1, 30 y 60.

Antes de la manipulación, los peces fueron anestesiados usando benzocaína anestésico - tranquilizante (BZ-20®) en solución 1ml/5l utilizando el protocolo de Solis *et al.*, (2009) de sedación para reducir el estrés por manipulación. Posteriormente, los ejemplares fueron trasladados a envases con agua limpia y luego de la anestesia fueron devueltos al estanque de origen para desarrollar la recuperación óptima de la población. Los peces se pesaron en los días indicados anteriormente con una balanza electrónica (Pesa Matic, 3S/New SU, China) y se midió su longitud con un ictiómetro.

Para todos estos manejos se contaba con la debida autorización de bioética otorgada por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile protocolo número 74-2018.

## 8. DETERMINACIONES

En cuanto al consumo de alimento se estimó con el diferencial de la porción entregada diariamente, descontándolo de la ración total disponible al final de cada jornada.

### 8.1. Parámetros Productivos

A partir de los muestreos de peso, longitud y consumo de alimento se calcularon las siguientes variables:

#### 8.1.1 Tasa específica de crecimiento (SGR)

$$SGR = \frac{(\ln w_2 - \ln w_1)}{t} \times 10$$

Donde:

w1 = Peso inicial del pez (g)

w2 = Peso final del pez (g)

t = Días

Ln = Logaritmo natural

#### 8.1.2 Factor de conversión alimenticia (FCR)

$$FCR = \frac{\text{Consumo de Alimento(kg)}}{\text{Aumento de biomasa producida de salmón(kg)}}$$

#### 8.1.3 Factor de condición (K)

$$K = (PT \times L^{-3}) \times 100$$

Donde:

PT = Peso total de pez (g)

L = Longitud del pez (cm)

## 8.2 Parámetros Morfológicos

Para cuantificar la calidad de esmolt a nivel visual, se tomaron ocho peces al azar de cada estanque al día 1, 30 y 60. Estos peces fueron evaluados utilizando los parámetros morfológicos basado en la pauta del **Cuadro 5** descontando puntos en la medida que sus características fueran más similares a las de un pez en estado parr.

Esta pauta está basada en el **Cuadro 6** donde se agruparon los parámetros para la evaluación de la calidad de esmolt, considerando coloración de cuerpo y aletas, así como el factor de condición.

**Cuadro 5.** Pauta de identificación de calidad de esmolt para *Salmo salar* por parámetros morfológicos.

<b>Nivel de Puntuación</b>	<b>Calidad de esmolt</b> Sumatoria total pez/8	<b>Descripción</b>
<b>80-100 p.</b>	Esmolt Nivel I.	Llega a la categoría máxima de esmoltificación.
<b>60-80 p.</b>	Esmolt Nivel II (pre esmolt)	Llega a la categoría media de esmoltificación.
<b>40-60 p.</b>	Esmolt Nivel III.	Llega a la categoría mínima de esmoltificación.
<b>&lt; 40p.</b>	Nivel parr.	No llega a la categoría esmoltificación.

Fuente. Modificada de Universidad de Chile, registro de propiedad intelectual código I9 y 85M en curso, sometido febrero 2021.

**Cuadro 6.** Parámetros para la evaluación de calidad de esmolt en salmón del Atlántico (*Salmo salar*) por parámetros morfológicos. (Universidad de Chile, registro de propiedad intelectual código I9 y 85M en curso, feb. 2021).

Atributo	Alevín parr	Esmolt
<b>Coloración:</b> Apreciación visual/pez	Coloración verdosa amarillenta, presentan manchas oscurecidas verticales en los costados (manchas parr), (Handeland <i>et al.</i> , 1996). -20 p.	Color azul/negro en el dorso, tonalidad plateada en los costados y vientre blanco (Folmar & Dickhoff, 1980). Reflexión de luz sobre las guaninas en piel (Haner <i>et al.</i> , 1995). <b>Cumple.</b>
		
<b>Aletas:</b> Apreciación visual/pez	Aleta pectoral y aleta caudal son anaranjadas o amarillentas. -20 p.	Aletas pectorales y caudales claras en la base y bordes más oscuros (migración de melanóforos, que contienen gránulos de melanina (Mizuno <i>et al.</i> , 2004). <b>Cumple.</b>
		
<b>Factor de condición (K)</b>	Cuerpo redondeado y acotado. K=1.2 a 1.3. -20p.	Aumento de tasa de crecimiento, pez delgado y alargado, se acelera su factor de condición. K= 0.9 a 1.0. <b>Cumple.</b>

## 9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para cuantificar diferencias significativas entre los tratamientos se analizaron las variables en estudio usando un diseño completamente aleatorizado.

Los supuestos de normalidad (Prueba de normalidad Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (prueba de Levene) fueron evaluados indicando que era posible realizar un análisis de varianza (ANDEVA). Se utilizó un nivel de significancia del 95% ( $p < 0,05$ ) y en caso de existir diferencias significativas entre tratamientos se aplicó la prueba de comparación múltiple LSD de Fisher.

Los análisis estadísticos se realizaron usando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2013).

### 9.1 Modelo estadístico

El modelo estadístico usado fue:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Observación del tratamiento i en el estanque j.

$\mu$  = Media general.

$t_i$  = Efecto del tratamiento i.

$e_{ij}$  = Término de error aleatorio asociado a la observación  $Y_{ij}$ .

## 10. RESULTADOS

Para identificar el efecto en los peces con la inclusión de 10% *Nannochloropsis gaditana* en los parámetros productivos y calidad de esmolt a nivel visual, se utilizaron los datos del consumo de alimento, aumento de la biomasa producida, la medición de largo y peso y los cambios morfológicos por tratamiento en tres tiempos distintos. A continuación, se presentan los resultados:

### 10.1 Consumo de alimento, Biomasa inicial y Biomasa final por tratamiento.

El consumo de alimento de los peces llegó al 1% del peso promedio de los peces al final del ensayo. Además, se observó una diferencia significativa al día 60 al igual que para la biomasa final (**Cuadro 7**).

**Cuadro 7.** Promedio del consumo final, biomasa inicial en el día uno y biomasa final al día 60 en *Salmo salar* alimentados con dietas TI y TC.

Tratamiento	Consumo de alimento (g) (60 días)	Biomasa inicial (g) (día 1)	Biomasa Final (g) (60 días)
TI	2950,0 ± 312,2 b	5397,4 ± 79,2 a	7488,7 ± 244,8 b
TC	3576,6 ± 55,0 a	5346,5 ± 47,8 a	8267,1 ± 201,8 a

Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

Durante el periodo experimental se presentaron consumos de alimento en *Salmo salar* significativamente menores por parte de TI llegando a una ingesta total de 2950,0 ± 312,2 g mientras que TC alcanzó un valor medio de 3576,6 ± 55,0 g (**Cuadro 7**).

En el caso de la biomasa inicial no hubo una diferencia significativa con valores de 5397,4 ± 79,2 g en peces con dieta microalgal y 5346,5 ± 47,8 g en tratamiento control. En el último muestreo el grupo de salmón del Atlántico alimentados con tratamiento con inclusión de 10% de NG mostraron una biomasa final de 7488,7 ± 244,8 g siendo este valor significativamente menor en comparación con tratamiento control con un promedio de 8267,1 ± 201,8 g.

Por otra parte, a los 60 días del ensayo existe una mayor variabilidad en los consumos de alimento en peces con dieta TI, ya que su coeficiente de variación fue de 10,5% mientras que TC solo llegó al 1,54%. En cuanto a la biomasa final en el salmón del Atlántico no se observaron grandes diferencias en el coeficiente de variación alcanzando los 3,27% en los peces alimentados con TI y 2,44% en el tratamiento control.

## 10.2 Peso por Tratamiento

**Cuadro 8.** Peso promedio en el día uno, treinta y sesenta en *Salmo Salar* alimentados con dietas tratadas con TI y TC.

Tratamiento	Peso día 1(g)	Peso día 30(g)	Peso día 60(g)
TI	89,4 ± 10,7 a	104,4 ± 15,2 a	124,1 ± 20,4 b
TC	87,6 ± 11,8 a	107,5 ± 16,2 a	135,5 ± 22,6 a

Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

Como se observa en el **Cuadro 8** al comienzo del experimento se muestra que los peces se distribuyeron de buena manera en términos de peso promedio, sin observar diferencias significativas llegando a  $89,4 \pm 10,7$  g en TI y  $87,6 \pm 11,8$  g en TC.

En el segundo muestreo, esta no alcanza la significancia estadística con valores de  $104,4 \pm 15,2$  g para peces alimentados con dieta con inclusión de 10% de NG y  $107,5 \pm 16,2$  g en el tratamiento control.

Por otra parte, a los 60 días los ejemplares de *Salmo salar* alimentados con TI se observaron pesos significativamente menores que TC con valores de  $124,1 \pm 20,4$  g y  $135,5 \pm 22,6$  g, respectivamente.

Al final del ensayo no se observaron grandes diferencias en el coeficiente de variación llegando a un 4,25% en los peces alimentados con dieta microalgal, mientras que en TC alcanzó los 2,45%.

### 10.3 Largo por Tratamiento

**Cuadro 9.** Largo en el día uno, treinta y sesenta en *Salmo salar* alimentados con dietas tratadas con TI y TC.

Tratamiento	Largo día 1 (cm)	Largo día 30 (cm)	Largo día 60 (cm)
TI	19,9 ± 0,8 a	21,2 ± 1,0 a	23,0 ± 1,1 b
TC	19,7 ± 1,0 a	21,2 ± 1,1 a	23,3 ± 1,2 a

Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

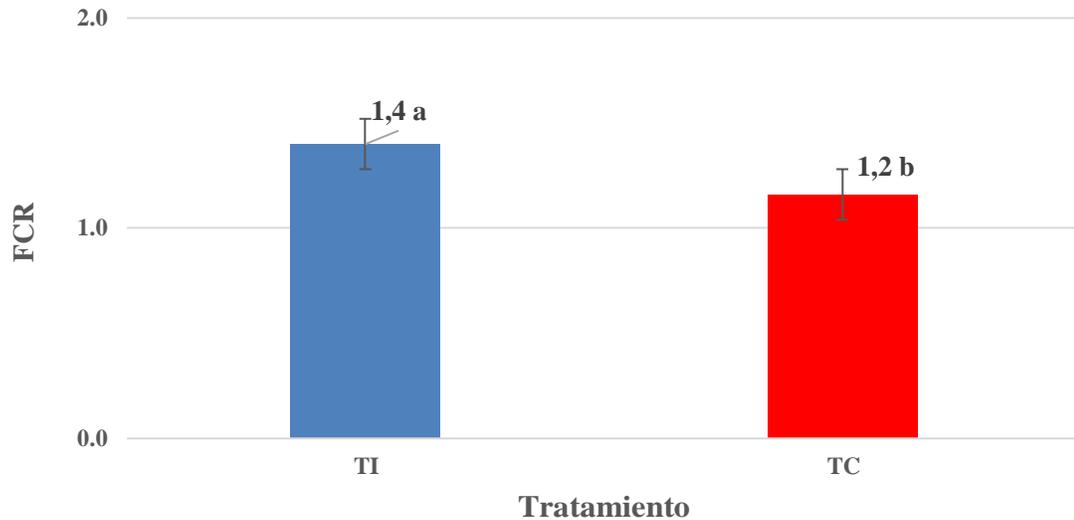
Al inicio del ensayo se observa que no existen diferencias significativas en el largo de los peces en ambas dietas utilizadas en el presente estudio, llegando a  $19,9 \pm 0,8$  cm en TI y  $19,7 \pm 1,0$  cm en TC (**Cuadro 9**).

Posteriormente a los 30 días tampoco se observa un efecto significativo en los peces tratados por ambas dietas en su longitud, alcanzando los  $21,2 \pm 1,0$  cm para el tratamiento con la inclusión de 10% de NG, mientras que los peces alimentados con dieta control llegaron a los  $21,2 \pm 1,1$  cm.

Por último, a los 60 días los ejemplares del salmón del Atlántico tratados con dieta microalgal tuvieron largos menores obteniendo valores de  $23,0 \pm 1,1$  cm, en tanto que los alimentados con la dieta tratamiento control lograron un promedio de  $23,3 \pm 1,2$  cm alcanzando una diferencia estadísticamente significativa.

Con respecto al coeficiente de variación no se observó grandes diferencias en los peces tratados en ambos tratamientos llegando a un valor de 5,5% en ambos casos.

#### 10.4 Factor de conversión alimenticia

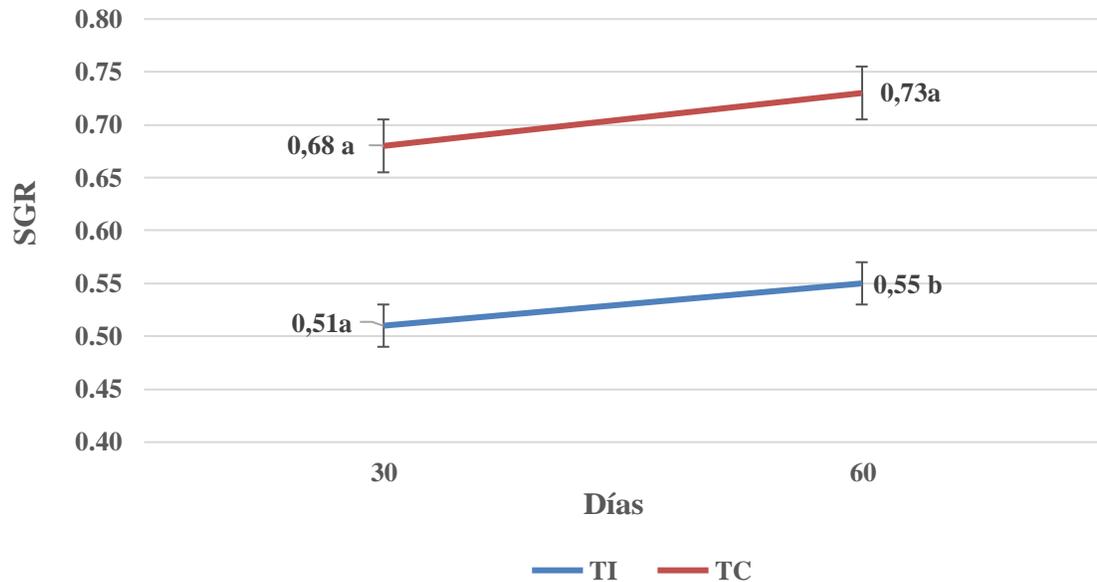


**Figura 4.** Factor de conversión alimenticia con dietas tratadas con TI y TC en *Salmo salar*. Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

Como se puede ver en la **Figura 4.** en el factor de conversión alimenticia en el *Salmo salar* se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con valores mayores para los alimentados con la dieta con 10% de inclusión de NG alcanzando  $1,4 \pm 0,07$ , mientras que el tratamiento control llegó a  $1,2 \pm 0,09$ .

El coeficiente de variación fue similar en los peces con ambos tratamientos, donde en el caso de los peces alimentados con la dieta con microalga llegó a un coeficiente de variación de 4,88% y 6,96% en el caso de TC.

### 10.5 Tasa específica de crecimiento

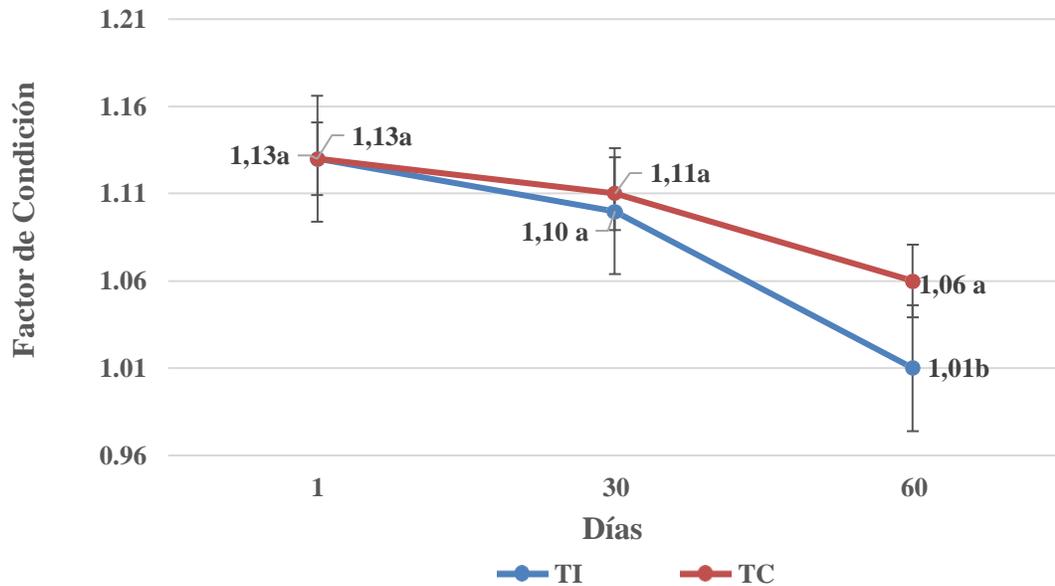


**Figura 5.** Tasa específica de crecimiento con dietas tratadas con TI y TC en *Salmo salar*. Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

Con respecto a la tasa específica de crecimiento en los peces a los 30 días, esta no alcanzó un efecto significativo llegando a los  $0,55 \pm 0,19$  en TI y  $0,68 \pm 0,05$  en TC. Por otro lado, al final del periodo experimental se encontraron diferencias significativas en el SGR en el salmón del Atlántico alimentados con tratamiento con inclusión de 10% de NG (**Figura 5**) con valores de  $0,55 \pm 0,07$  y  $0,73 \pm 0,04$  en el tratamiento control.

A los 30 días del ensayo existe una mayor variabilidad en los peces tratados con TI ya que su coeficiente de variación fue 37,47% mientras que en TC llegó solo a un 7,33%. Asimismo, ocurrió a los 60 días del experimento ya que los ejemplares de *Salmo salar* con el tratamiento con microalga obtuvo un coeficiente de variación de 13,12% y en TC presentaron valores más homogéneos llegando solo a los 5,25%.

### 10.6. Factor de condición



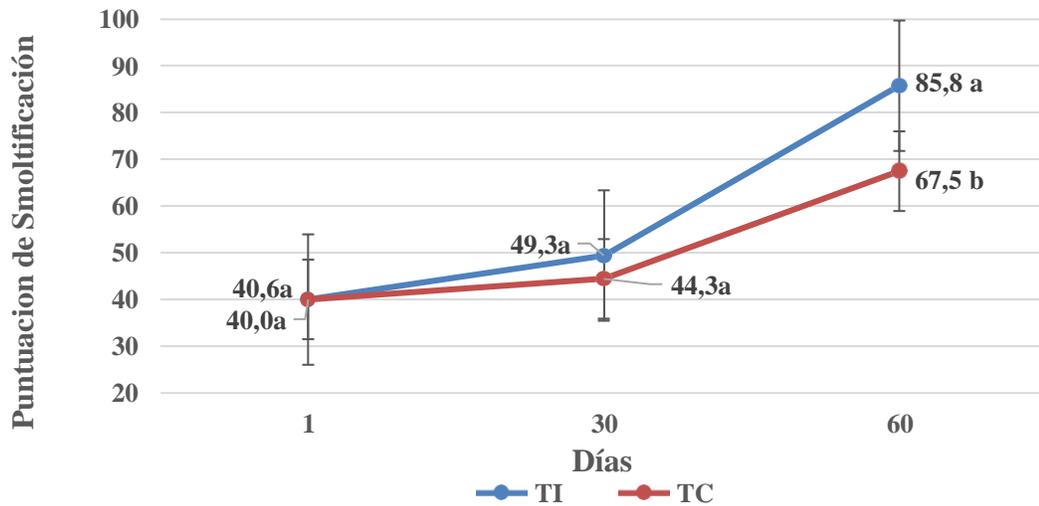
**Figura 6.** Factor de condición con dietas tratadas con TI y TC en *Salmo salar*. Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n=3$ .

En la **Figura 6** se aprecia una disminución en el factor de condición para los peces en ambos tratamientos en la medida que avanzaba el periodo experimental.

Con respecto a los ejemplares del salmón del Atlántico alimentados con inclusión de 10% de *Nannochloropsis gaditana* no presentaron una diferencia significativa en el factor de condición en comparación con el tratamiento control a los 30 días llegando a un valor de  $1,11 \pm 1,01$  para TI y  $1,10 \pm 0,1$  para TC. Posteriormente a los 60 días del experimento los peces alimentados con dieta microalgal llegaron a un menor valor en el factor de condición que en TC llegando a  $1,06 \pm 0,10$  y  $1,01 \pm 0,11$ , respectivamente, obteniendo una diferencia significativa en ambas dietas.

A los 30 días del ensayo existe una mayor variabilidad en los ejemplares del salmón del Atlántico con la dieta TI ya que su coeficiente de variación fue de 11,92% mientras que en TC llego a los 8,93%. Posteriormente, al día 60 del ensayo se obtiene un coeficiente de variación similar llegando a 10,97% para TI y 10,8% para TC.

### 10.7. Calidad de esmolt a nivel visual



**Figura 7.** Calidad de esmolt a nivel visual con dietas tratadas con TI y TC en *Salmo salar*. Letras idénticas en sentido vertical indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fisher ( $p < 0,05$ ).  $n = 3$ .

En la **Figura 7** se presentan valores obtenidos para la calidad de esmolt a nivel visual en el *Salmo salar*. En primer lugar, se aprecia que al inicio del ensayo los peces de los dos tratamientos alcanzaron una puntuación similar logrando 40,0 pts, indicando que la condición de los ejemplares del salmón del Atlántico en el primer muestreo se encontraba en la etapa parr. A los 30 días transcurrido el estudio, se observó un incremento en la puntuación de la calidad de esmolt a nivel visual en ambos tratamientos siendo mayor en los peces tratados con dieta de microalga (TI) llegando a los  $49,3 \pm 2,25$  pts, en comparación con tratamiento control (TC) con  $44,3 \pm 2,17$  pts. Entre los tratamientos esta no alcanza la significancia estadística llegando a la categoría parr en ambas dietas.

Posteriormente, esta diferencia se incrementó en el tiempo registrando un aumento en la calidad de esmoltificación a nivel visual siendo mayor en los peces alimentados con TI en el día 60, alcanzando a presentar una diferencia significativa con respecto a TC llegando a un registro para TI de  $85,8 \pm 0,72$  pts. consiguiendo una categoría máxima de esmoltificación mientras que los peces del tratamiento control fue de  $67,5 \pm 6,96$  pts. alcanzando la categoría media de esmoltificación (**Cuadro 4**).

A los 30 días del experimento no existe una gran diferencia en términos de variabilidad en los ejemplares de *Salmo salar* con ambos tratamientos ya que TI alcanzó un coeficiente de variación de 4,56% mientras que TC fue de 4,88%. Finalmente, en el día 60 los peces tratados con TI presentaron un coeficiente de variación de 0,84% mientras que TC obtuvo valores de 10,31%.

## 11. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la respuesta en la especie de *Salmo salar* alimentados con dos dietas, una de las cuales incluye una inclusión del 10% de *Nannochloropsis gaditana* (TI) y otra de control (TC) sin la inclusión del alga. El propósito del estudio fue comparar el efecto de las dietas sobre los parámetros productivos en el salmón del Atlántico ya sea consumo de alimento, FCR, SGR y K. Un segundo objetivo del experimento fue evaluar el efecto de las dos dietas sobre el mejoramiento en la calidad de esmolt a nivel visual bajo una escala cuantificable a través de una puntuación basada en parámetros morfológicos.

### 11.1 Parámetros productivos

En el presente trabajo los peces tratados con la inclusión de 10% de *Nannochloropsis gaditana* generó cambios significativos en los parámetros productivos y en la calidad de esmolt a nivel visual.

En el caso del consumo de alimento la disminución significativa observada se puede atribuir a una menor aceptación por parte de los peces con la dieta de alga afectando el crecimiento de los peces. Esto se observa en particular al inicio del ensayo donde los ejemplares de *Salmo salar* alimentados con la dieta TI presentaron un bajo consumo en comparación con TC, atribuyéndose este efecto a problemas de palatabilidad causada posiblemente por un alto contenido de fibra en su composición (1,62%) lo que tiene un efecto de saciedad al ingerir el pellet de NG al 10%.

Por otra parte, a lo largo de los sesenta días del experimento hubo diferencias significativas en el incremento de peso, longitud, factor de conversión de alimento y menores tasas de crecimiento específico y factor de condición en los peces alimentados con TI, donde en este último se asocia a una mejor calidad de esmolt. Si bien al transcurrir el estudio los peces alimentados con la dieta TI aumentaron su consumo a partir de los 30 días, no llegaron a superar el consumo de los peces alimentados con TC.

Tal como ocurrió con Walker *et al.* (2011) quien estudió la incorporación de dos especies de microalgas *Nannochloropsis sp.* e *Isochrysis sp.* como sustituto de harina de pescado en dietas juveniles de bacalao del Atlántico con reemplazo de 0%, 15% y 30%. En este estudio se observó que la ingesta absoluta de alimento (FI) y el crecimiento de los peces era inversamente proporcional al nivel de inclusión del alga, registrando diferencias significativas entre los tratamientos. Estas discrepancias observadas en los peces con los niveles más altos de inclusión de las algas están probablemente asociadas a la reducción de la palatabilidad, similar a lo observado en el presente trabajo, mientras que el consumo de alimento aumentó en el tratamiento con inclusión con microalgas a medida que avanzaba el experimento, indicando una posible adaptación de los peces con la dieta.

Otro estudio realizado con microalga como sustitución de aceite de pescado fue hecho por Eryalçın *et al.* (2015) quien trabajando con *Sparus aurata* estudiaron el efecto de la inclusión en la dieta con NG al 11% y *Cryptocodinium cohnii* con 8% y una última dieta combinada con *N. gaditana* (5,5%) y *C. cohnii* (5,5%). Estos peces alimentados con la dieta control presentaron longitudes y pesos significativamente mayores que los alimentados con la dieta con inclusión de 11% de NG, lo que está en línea con los resultados reportados en el presente experimento.

Por su parte, Kousoulaki *et al.* (2016) desarrolló un trabajo con *Salmo salar* alimentados con *Schizochytrium sp* con inclusiones de 2,5% y 5% de reemplazo de aceite de pescado de la dieta. Los autores reportan que no se alteró la ganancia de peso y FCR de los peces con las dietas experimentales. Por otro lado, observaron una mejora en la eficiencia de retención de EPA +DHA, pero con algunos resultados que contrastan con los del presente estudio, considerando la disminución en la ganancia de peso y un mayor factor de conversión observado en los peces alimentados con TI. Esta diferencia probablemente está asociada a los niveles de inclusión de las algas usados en cada uno de los estudios, siendo mayor en el presente trabajo.

En cuanto a Sarker *et al.* (2016) trabajando con tilapia (*Oreochromis niloticus*) estudió el efecto de la inclusión de *N. oculata* considerando niveles de inclusión de 0%, 3%, 5% y 8%. En esa investigación se reporta que hasta un 5% en la dieta no afecta al crecimiento de los peces en términos de SGR y FCR. Sin embargo, a niveles superiores la digestibilidad de las dietas se ve negativamente afectada impactando en el crecimiento de los peces. Según los autores, este efecto estaría relacionado a un mayor nivel de anti nutrientes presentes en las algas repercutiendo sobre la digestibilidad.

En la misma línea, investigadores como Gong *et al.* (2018) señalan que el ADC (coeficiente de digestibilidad aparente) de energía y proteína en dietas de Lubina europea alimentados con microalgas con nivel de inclusión del 30% fue menor que en la dieta de control. Por otro lado, reportan resultados significativamente mayores en términos de digestibilidad de energía y materia seca cuando los peces fueron alimentados con *Nannochloropsis sp.* en comparación con *Desmodesmus sp* al producirse las dietas vía extrusión. De acuerdo con estos investigadores esto se explica ya que al incrementar los niveles de inclusión del alga se produce un incremento de componentes en la pared celular no digeribles, disminuyendo la digestibilidad y biodisponibilidad de los nutrientes (Becker *et al.*, 2007).

En el caso del presente estudio se realizó un pretratamiento con el fin de contrarrestar problemas de digestibilidad, que consistió en ruptura de la pared celular con el uso de una ultracentrífuga previo a su deshidratación por spray dryer del alga utilizada. A pesar de este procedimiento en sistema productivo raceway en la dieta con TI, el alimento igualmente provocó una menor aceptación por los peces asociada a una menor palatabilidad en la primera etapa del estudio, posiblemente causada por el contenido de compuestos no digeribles.

Por otro lado, Riveros *et al.* (2017) trabajando con inclusiones de hasta un 5% de NG reportan que estas dietas son capaces de cubrir los requerimientos de los peces alcanzando valores similares en el crecimiento a los alimentados con dietas comerciales con salmón del Atlántico.

Esto contrasta con el presente experimento, ya que estos autores obtuvieron un incremento en el peso final de hasta un 5% cuando se usó la dieta con microalga en comparación con el tratamiento control y mientras que en el SGR se describe un aumento de un 12% en la dieta con *Nannochloropsis gaditana* en comparación con TC.

Trabajando con tilapia del Nilo y Bagre, Teuling *et al.* (2017) alimentadas con dietas de *Nannochloropsis gaditana* con una inclusión del 30% informaron menores valores de ADC para las proteínas y grasas dietarias en comparación con otras formuladas con *Chlorella vulgaris*, estando asociado al contenido de paredes celulares de NG, siendo este un factor limitante para la digestibilidad de nutrientes. En este trabajo se reportan valores de FCR, crecimiento y SGR en ambas, tanto de tilapia como del bagre similares o superiores a los informados en la literatura con las dietas microalgal de *Nannochloropsis gaditana*, *Chlorella vulgaris*. Esto se contrasta al presente experimento en donde se evidenció un menor consumo generando menores tasas de crecimiento en *Salmo salar* alimentados con la dieta TI atribuible al hábito de consumo de los peces en cuestión, con marcadas diferencias en su tracto digestivo.

Por otro lado, Pinheiro *et al.* (2019) trabajando con Lubina europea alimentada con *Nannochloropsis sp.* al 10% de inclusión reportan tasa de conversión alimenticia significativamente más alta que los alimentados con dieta control y NC al 5%. En este mismo ensayo se observa una ganancia de peso similar en todos los tratamientos sin una diferencia significativa entre ellos, en cambio, en el presente experimento la dieta con 10% de NG impactó negativamente en el factor de conversión alimenticia en comparación con TC lo que no se condice con la respuesta observada por estos autores, quienes observaron que hasta un 15% de *Nannochloropsis sp.* en la dieta no afecta la composición proximal y al crecimiento de *Dicentrarchus labrax*. Esto puede indicar que esta microalga en la dieta de Lubina europea tiene una mejor aceptación en comparación con *Salmo salar*.

Con respecto al trabajo de Sørensen *et al.* (2017) se reporta efectos adversos en parámetros productivos de interés cuando salmones del Atlántico fueron alimentados con *Nannochloropsis Oceanica* (NO) al 20% impactando en el consumo de alimento, SGR y FCR en comparación con peces alimentados con dietas con 10% de inclusión de NO y TC. En este mismo estudio, en los peces alimentados con 10% de *Nannochloropsis O.* no se observaron diferencias significativas en FCR y consumo de alimento al compararlo con el tratamiento de referencia. Estos resultados difieren de los obtenidos en el presente estudio, lo que pueden estar ligado a la especie de alga ya que hay diferencias en cuanto a la composición y formulación de las dietas entre *N. oceánica* y *N. gaditana* utilizada en los experimentos.

Por tanto, el nivel de procesamiento del ingrediente parece ser relevante, ya que autores como Gong *et al.* (2020) señalan que salmón del Atlántico alimentados con un 10% de *N. oceanica* preextruida no tuvieron ningún efecto negativo sobre el consumo de alimento, peso, largo y tasa de crecimiento específico, incluso observando que con la incorporación de *N. oceanica* mejora la digestibilidad de materia seca y cenizas en comparación con el grupo control.

Por último, los resultados del presente ensayo discrepan de lo informado por Lozano *et al.* (2020) quienes trabajaron con *Salmo salar* con dietas con 10% de inclusión de NG en un estudio que duro 15 días. En este trabajo se reporta un mayor consumo de alimento, incremento en el SGR y menor factor de conversión en el tratamiento con microalga. Además de la diferencia en la duración de los trabajos, la respuesta diferencial en los peces puede deberse al perfil ácidos grasos de la microalga, la que contenía un 26% de EPA en el estudio de Lozano *et al.* (2020) contra un 10% en el presente experimento.

## 11.2 Calidad de esmoltificación

En el caso de la calidad de esmolt a nivel visual nos permite observar cambios morfológicos de piel y aletas en el pez, las que evaluadas de forma semi-cuantitativa indican que hay una diferencia significativa en los peces que consumen la dieta TI, mejorando la calidad de esmolt a nivel visual. Estos resultados van relacionados a los valores obtenidos en el factor de condición donde a menor K tenemos una mejor calidad de esmoltificación. Este resultado está en línea con Haner *et al.* (1995) quienes trabajaron con juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón Chinook, estudiando la transformación de parr-esmolt usando la reflectancia como herramienta para determinar la variación en el color de la piel con el fin de medir de forma cuantitativa la modificación en el plateado de los peces. En este estudio se reporta un mayor plateado en peces esmolt en la piel de la *O. mykiss* y salmón Chinook, resultados que se correlacionan significativamente con la actividad media de la ATPasa branquial y a la concentración media de guanina en la piel, ambos parámetros asociados al proceso de esmoltificación. Sin embargo, para hacer estas determinaciones se debe sacrificar el pez para extraer una muestra de piel y realizar un ensayo de laboratorio con el objetivo de cuantificar el plateado, siendo muy lento y engorroso su tratamiento, por lo que la identificación bajo una escala cuantitativa y cualitativa a nivel visual puede permitir un trabajo con resultados más rápidos, eficiente y de menores costos como el desarrollado en el presente experimento, donde nos demuestra de forma gráfica que la evaluación a partir de sus cambios morfológicos son una buena respuesta para mejorar el proceso de esmoltificación para *Salmo salar*.

Mizuno *et al.* (2004) por su parte, trabajaron con salmón masu para la medición de niveles de pigmentación de la aleta dorsal y la estimación de la enzima Na + K + y ATPasa. En este estudio se reporta que el nivel de pigmentación de la aleta dorsal podría usarse como indicador para la liberación de esmolt, teniendo una correlación entre el nivel de pigmentación de la aleta dorsal y la actividad de la enzima Na +, K + y - ATPasa. También observaron un mayor plateado del cuerpo debido a la deposición de guanina en la piel y pigmentación negra en los márgenes de las aletas dorsales, cambios asociados a una mejor calidad de esmoltificación. Esto coincide con las observaciones de parámetros morfológicos en términos de apreciación de coloración del cuerpo, aletas pectoral y caudal con una diferencia significativa en el caso de los peces alimentados con dieta con microalga en el presente estudio.

Autores como Lozano *et al.* (2020) señalan que los niveles de vitaminas D3 y EPA pueden ser mayores en dietas con inclusión de NG al 10% en comparación con el tratamiento control, provocando efectos positivos, ya que estos nutrientes son importantes en las dietas de salmón en el proceso de transición al mar.

Finalmente cabe mencionar que la falta de los ácidos grasos esenciales en la dieta puede desencadenar estrés oxidativo ocasionando pérdidas en la calidad de esmolt aumentando la mortalidad de la población. Por el contrario, la presencia de PUFAs en el alimento permiten mejorar las características en la etapa esmolt visualizándose en cambios morfológicos, muy relevante para el proceso de adaptación al agua salada como ha sido reportado por Lizarraga *et al.* (2018).

Este trabajo no llevó a cabo técnicas de medición de pigmentación por lo que es importante mencionar que ha habido pocos intentos como los estudios mencionados anteriormente que cuantifiquen la pigmentación de aletas dorsal y caudal durante el proceso de esmoltificación de salmónes usando dieta con microalgas.

Sería de gran importancia para la industria de la salmonicultura desarrollar otros ensayos con NG que permitan aumentar su uso en la dieta de salmónidos contribuyendo a mejorar la calidad de esmolt y parámetros productivos.

## 12. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento se puede determinar lo siguiente:

Con la inclusión microalgal de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de *Salmo salar* se logra un mayor factor de conversión de alimento, siendo perjudicial para los parámetros productivos.

Por otra parte, la inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de *Salmo salar* se obtienen diferencias significativas menores en la tasa de crecimiento específica a partir de un menor consumo de alimento.

La inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la alimentación de *Salmo salar* disminuye el factor de condición.

La inclusión de un 10% de *Nannochloropsis gaditana* en la dieta de *Salmo salar* mejora significativamente la calidad de esmolt a nivel visual a partir de cambios morfológicos.

### 13. COMENTARIOS

El uso de la inclusión de NG al 10% en la dieta para *Salmo salar*, se debe facilitar una aclimatación que posibilite una aceptación progresiva de esta, contando con un tamaño de pellet adecuado durante todo el tiempo experimental.

Esto permitirá maximizar el crecimiento de los peces, a través del consumo progresivo del alimento llegando a mejores resultados en estudios futuros.

## 14. BIBLIOGRAFÍA

- Aguayo, C. (2003) Incorporación de criterios ambientales en el diseño, construcción y operación de centros de cultivos de especies salmonídeas en la etapa de agua dulce (pisciculturas) para el cumplimiento de la normativa ambiental vigente. Tesis, Esc. de Acuicultura, Fac. de Acuicultura y Ciencias veterinarias, Univ. Católica de Temuco, 159 pp.
- Ardekani, A. & Shirzad, M. (2019). Genetically Modified (GM) foods and the risk to human health and environment. *Health Biotechnology and Biopharma*, 3, 61-73. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0899-1>.
- Banco Central de Chile. (2021). Indicadores de comercio exterior. Tercer trimestre 2021. [https://www.bcentral.cl/documents/33528/133362/ICE\\_tercer\\_trimestre\\_2021.pdf/09fc32de-dd34-961a-90ae-d5cf8faa1030?t=1637611706643](https://www.bcentral.cl/documents/33528/133362/ICE_tercer_trimestre_2021.pdf/09fc32de-dd34-961a-90ae-d5cf8faa1030?t=1637611706643).
- Bell, J., McEvoy, J., Tocher, D., McGhee, F., Campbell, P. & Sargent, J. (2001). Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *The Journal of nutrition*, 131(5), 1535-1543. <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1535>.
- Bermúdez, M. (2020). Revisión: Impacto de la aplicación de técnicas "ómicas" en microalgas en el desarrollo de nuevas aplicaciones biotecnológicas. Análisis de las potenciales aplicaciones de " *Nannochloropsis gaditana* [Tesis de Grado, Universidad de Cádiz]. <http://hdl.handle.net/10498/23838>.
- Bernal, C. (2015). Extracción de proteínas de *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis gaditana* asistido por ultrasonido. [Tesis Maestría, Universidad del Valle]. <http://hdl.handle.net/10893/15537>.
- Becker, E. (2007). Micro-Algae as a Source of Protein. *Biotechnology Advances*.25 (2): 207–10. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- Camacho, J., Macías, M., Cerón, M., Alarcón, F. & Molina, E. (2018). Microalgae as a potential ingredient for partial fish meal replacement in aquafeeds: nutrient stability under different storage conditions. *Journal of Applied Phycology*, 30(2),1049-1059. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1281-5>.
- Carrier III, J., Watanabe, W., Harel, M., Rezek, T., Seaton, P. & Shafer, T. (2011). Effects of dietary arachidonic acid on larval performance, fatty acid profiles, stress resistance, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in black sea bass *Centropristis striata*. *Aquaculture*, 319(1-2), 111-121. <https://doi.org/10.46989/001c.20819>.

Carrillo, M., Muñoz, J., Zanuy, S., Rocha, A., Bayarri, J., Piferrer, F., Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Cerdà, J., Herráez, M., Navas, J., Cañavate, J., Gracia, V. & Valdebenito, I. (2009). La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Publicaciones Científicas y Tecnológicas de la Fundación Observatorio Español de Acuicultura. [https://www.observatorioacuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros/reproduccion\\_en\\_peces\\_obra\\_completa\\_web.pdf](https://www.observatorioacuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros/reproduccion_en_peces_obra_completa_web.pdf).

Claude, M., Oporto, J., Ibáñez, C., Brieva, L., Espinosa, C. & Arqueros, M. (2000). La ineficiencia de la salmonicultura en Chile: aspectos sociales, económicos y ambientales. *Santiago: Terram Publicaciones*, 1-72.

Cruz L., Ricque D., Nieto, M. & Tapia, M. (1998). Revisión sobre calidad de harinas y aceites de pescado para la nutrición de camarón. Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L., México, pp. 1–36. 16–18 nov. 1998, La Paz, Baja California Sur, México, ISSN970-694-51-0.

Delgado, M. (2014). Efecto de la vacunación durante el fotoperiodo en la esmoltificación de Salmon Atlántico (*Salmo salar*). [Tesis de Grado, Universidad Austral de Chile]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2014/fvd352e/doc/fvd352e.pdf>.

Di Rienzo J., Casanoves, M., Balzarini, L. González, M. & W. Robledo. (2013). InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Eryalçın, K., Ganuza, E., Atalah, E. & Hernández, M. (2015). *Nannochloropsis gaditana* and *Cryptocodinium cohnii*, two microalgae as alternative sources of essential fatty acids in early weaning for gilthead seabream. *Hidrobiológica*, 25(2), 193-202.

Fry, J., Mailloux, N., Love, D., Milli, M. & Cao, L. (2018). Corrigendum: Feed conversion efficiency in aquaculture: Do we measure it correctly? *Environmental Research Letters*, 13(7). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aad007>.

Folmar, L. & Dickhoff, W. (1980). The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. A review of selected literature. *Aquaculture*, 21: 1-37. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90123-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(80)90123-4).

Gong, Y., Guterres, H. A. D. S., Huntley, M., Sørensen, M. & Kiron, V. (2018). Digestibility of the defatted microalgae *Nannochloropsis sp.* and *Desmodesmus sp.* when fed to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture Nutrition*, 24(1),56-64. <https://doi.org/10.1111/anu.12533>.

Gong, Y., Sørensen, S., Dahle, D., Nadanasabesan, N., Días, J., Valente, L., Sørensen, M. & Kiron, V. (2020). Approaches to improve utilization of *Nannochloropsis oceanica* in plant-based feeds for Atlantic salmon. *Aquaculture*, (552) 735122. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735122>.

- Guschina, I. & Harwood, J. (2006). Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Progress in lipid research*, 45(2), 160-186. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.01.001>.
- Handeland, S., Järvi, T., Fernö, A. & Stefansson, S. (1996). Osmotic stress, antipredatory behaviour, and mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(12), 2673-2680. <https://doi.org/10.1139/f96-227>.
- Handeland, S., Berge, Å., Björnsson, B., Lie, Ø. & Stefansson, S. (2000). Seawater adaptation by out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at different temperatures. 181(3-4), 0-396. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(99\)00241-0](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(99)00241-0).
- Haner, P., Faler, J., Schrock, R., Rondorf, D. & Maule, A. (1995). Skin reflectance as a nonlethal measure of smoltification for juvenile salmonids. *North American Journal of Fisheries Management*, 15(4), 814-822. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1995\)015<0814:SRAANM>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1995)015<0814:SRAANM>2.3.CO;2).
- Harwood, J. (2019). Algae: critical sources of very long-chain polyunsaturated fatty acids. *Biomolecules* 2019, 9(11), 708. <https://doi.org/10.3390/biom9110708>.
- Hasan, M. & Soto, S. (2017). Improving feed conversion ratio and its impact on reducing greenhouse gas emissions in aquaculture organization of the United Nations. *FAO Non-Serial Publication*. Rome, FAO. 33 pp.
- Jones, A., Mead, A., Kaiser, M., Austen, M., Adrian, A., Auchterlonie, N., Black, K., D; Blow, L., Bury, C., Brown, J., Burnell, G., Connolly, E., Alastair, S., Eno, N., Gautier, D. Green, K., Gubbins, M., Hart, P., Holmyard, J. Immink, A., Jarrad, D., Katoh, E., Langley, J., Lee, D., Le Vay, L., Leftwich, C., Mitchell, M., Moore, A., Murray, A., McLaren, E., Norbury, H., Parker, D., Parry, S., Purchase, D., Rahman, A., Sanver, F., Siggs, M., Simpson, S., Slaski, R., Smith, K., Syvret, M., Tibbott, C., Thomas, P., Turnbull, J., Whiteley, R., Whittles, M., Wilcockson, M., Wilson, J., Dicks, Lynn V. & Sutherland, W. (2014). Prioritization of knowledge needs for sustainable aquaculture: a national and global perspective. *Fish and Fisheries*. 16(4), 668-683. <https://doi.org/10.1111/faf.12086>.
- Jorge, S., Enes, P., Serra, C., Castro, C., Iglesias, P., Oliva, A. & Couto, A. (2019). Short-term supplementation of gilthead seabream (*Sparus aurata*) diets with *Nannochloropsis gaditana* modulates intestinal microbiota without affecting intestinal morphology and function. *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1388-1398. <https://doi.org/10.1111/anu.12959>.
- Kiron, V., Sørensen, M., Huntley, M., Vasanth, G., Gong, Y., Dahle, D. & Paliyawadana, A. (2016). Defatted biomass of the microalga, *Desmodesmus* sp., can replace fishmeal in the feeds for Atlantic salmon. *Frontiers in Marine Science*, 3, 67. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00067>.

Kousoulaki, K., Mørkøre, T., Nengas, I., Berge, R. & Sweetman, J. (2016). Microalgae and inorganic minerals enhance lipid retention efficiency and fillet quality in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 451, 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.027>.

Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S. & Bakke, A. (2010). Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture research*, 41(3),333-344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02426.x>.

Lizárraga, C., Hernández, C., González, G. & Basilio J. (2018). Propiedades antioxidantes e inmunostimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. *CienciaUAT*, 12(2), 127- 136. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v12i2.904>.

Lozano I, Muñoz, S., Díaz, N., Medina A., Bazaes J. & Riquelme C. (2020). Nutritional Enhancement of Farmed Salmon Meat via Non-GMO *Nannochloropsis gaditana*: Eicosapentaenoic Acid (EPA, 20:5 n-3), Docosapentaenoic Acid (DPA, 22:5 n-3) and Vitamin D3 for Human Health. *Molecules*, 25(20), 4615,1-16. <https://doi.org/10.3390/molecules25204615>.

Madrid, J. (2019). Estimación del perfil de aminoácidos óptimo para el mayor crecimiento y eficiencia alimenticia en juveniles de Totoaba, (*Totoaba macdonaldi*). [Tesis doctoral, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2777>.

Maisashvili, A., Bryant, H., Richardson, J., Anderson, D., Wickersham, T. & Drewery, M. (2015). The values of whole algae and lipid extracted algae meal for aquaculture. *Algal Research*, 9, 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.03.006>.

McCormick, S., Cunjak, R., Dempson, B., O'Dea, M. & Carey, J. (1999). Temperature-related loss of smolt characteristics in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56(9),1649-1667. <https://doi.org/10.1139/f99-099>.

McCormick, S. (2012). Smolt Physiology and Endocrinology. *Euryhaline Fishes*.32(5) 199–251. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-396951-4.00005-0>. Minrel. (29 de Julio de 2014).Claves para duplicar la producción acuícola en 2050.<https://acceso.prochile.cl/noticia/claves-para-duplicar-la-produccion-acuicola-en-2050/>.

Mizuno, S., Misaka, N., Ando, D. & Kitamura, T. (2004). Quantitative changes of black pigmentation in the dorsal fin margin during smoltification in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Aquaculture*, 229(1-4), 433-450. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00368-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00368-5).

Montes, O. (2014). Efecto de la intensidad de la luz y de la tasa de inyección de aire en el crecimiento y la productividad de la microalga *Nannochloropsis sp.*, cultivada en un biorreactor plano. [Tesis de maestría, Centro de investigación científica y de educación superior de ensenada].<https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/121>.

Naylor, R., Hardy, R., Buschmann, A., Bush, S., Cao, L., Klinger, D., Little, D., Lubchenco, J., Shumway, S. & Troell, M. (2021). A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851),551–563.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>.

Nakamura, M., Hachiya, N., Murata, K., Nakanishi, I., Kondo, T., Yasutake, A., Miyamoto, K., Ser, P., Omi, S., Furusawa, H., Watanabe, C., Usuki, F. & Sakamoto, M. (2014). Methylmercury exposure and neurological outcomes in Taiji residents accustomed to consuming whale meat. *Environment International*. 68,25–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.03.005>.

Noguera, E. (2019). Efecto de la sustitución parcial y total de la harina y aceite de pescado con harinas de microalgas, en juveniles de *Totoaba macdonaldi*. [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada].  
<https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3006>.

Oppedal, O., Taranger, G. & Hansen, T. (1999). Growth, osmoregulation and sexual maturation of underyearling Atlantic salmon smolt *Salmo salar L.* exposed to different intensities of continuous light in sea cages. *Aquaculture Research*., 30, 491-4.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00362.x>.

Osses R. (27 de mayo de 2016). Estimación de la esmoltificación.  
<http://senorsalmon.blogspot.com/2016/05/estimacion-de-la-smoltificacion.html>.

Pinheiro, L., Custódio, M., Batista, S., Fernandes, H. & Kiron, V. (2019). Defatted microalgae (*Nannochloropsis sp.*) from biorefinery as a potential feed protein source to replace fishmeal in European sea bass diets. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(3), 1067-1081.  
<https://doi.org/10.1007/s10695-019-00621-w>.

Rebolledo, J. (2019). Modelación fenomenológica de fotobiorreactores concéntricos con iluminación interna para el cultivo de microorganismos fotosintetizadores. [Tesis de maestría, Universidad Católica de Chile].  
<https://repositorio.uc.cl/handle/11534/22996>.

Riveros, K., Sepúlveda, C., Bazaes, J., Marticorena, P., Riquelme, C. & Ación, G. (2018). Overall development of a bioprocess for the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture. *Aquaculture Research*, 49(1):165-176.  
<https://doi.org/10.1111/are.13445>.

Roy, S. & Pal, R. (2015). Microalgae in Aquaculture: A Review with Special References to Nutritional Value and Fish Dietetics. *Proceedings of the Zoological Society*, 68(1),1–8.  
<https://doi.org/10.1007/s12595-013-0089-9>.

Salgado, R. (2009). Efectos del ácido araquidónico (20: 4n-6) sobre la capacidad reproductiva y el nivel de prostaglandina PGE2 del pez blanco Pátzcuaro *Medinia estor*. [Tesis de maestría, Centro de investigación biológicas del noroeste, S.C]. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/260>.

Sánchez, H., Juscamaita, J., Vargas, J. & Oliveros R. (2008). Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 149-158.

Sarker, P., Kapuscinski, A., Bae, A. Y., Donaldson, E., Sitek, A., Fitzgerald, D. & Edelson, O. (2018). Towards sustainable aquafeeds: Evaluating substitution of fishmeal with lipid-extracted microalgal co-product (*Nannochloropsis oculata*) in diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS One*, 13(7), e0201315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201315>.

SernapECA. (2020). Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2020. <<http://www.sernapesca.cl/informacion-utilidad/anuarios-estadisticos-de-pesca-y-acuicultura>>.

Singer, T., Finstad, B., McCormick, S., Wiseman, S. B., Schulte, P. & McKinley, R. (2003). Interactive effects of cortisol treatment and ambient seawater challenge on gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and CFTR expression in two strains of Atlantic salmon smolts. *Aquaculture*, 222(1-4), 15-28. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00099-1).

Solis, K., Jara, A., Colin, N., González, J., Oyanedel, A. & Habit, E. (2009). Implante quirúrgico de radiotransmisores en *Diplomystes camposensis* (*Siluriformes diplomystidae*). *Archivos de medicina veterinaria*, 41(3), 269-274. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2009000300012>.

Sørensen, M., Gong, Y., Bjarnason, F., Vasanth, G., Dahle, D., Huntley, M. & Kiron, V. (2017). *Nannochloropsis ocellata*-derived defatted meal as an alternative to fishmeal in Atlantic salmon feeds. *PloS one*, 12(7), e0179907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179907>.

Spolaore, P., Joannis C., Duran, E. & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering*, 101(2), 87-96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.

Sprague, M., Walton, J., Campbell, P., Strachan, F., Dick, J. & Bell, J. (2015). Replacement of fish oil with a DHA-rich algal meal derived from *Schizochytrium sp.* on the fatty acid and persistent organic pollutant levels in diets and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) post-smolts. *Food chemistry*, 185, 413-421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.150>.

Taelman, S., De Meester, S., Roef, L., Michiels, M. & Dewulf, J. (2013). The environmental sustainability of microalgae as feed for aquaculture: a life cycle perspective. *Bioresource technology*, 150,513-522.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.044>.

Teuling, E., Schrama, J., Gruppen, H. & Wierenga, P. (2017). Effect of cell wall characteristics on algae nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarus gariepinus*). *Aquaculture*, 479,490-500.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.06.025>.

Thorstad, E., Whoriskey, F., Uglem, I., Moore, A., Rikardsen, A. & Finstad, B. (2012). A critical life stage of the Atlantic salmon (*Salmo salar*): Behaviour and survival during the smolt and initial post-smolt migration. *Journal of Fish Biology*, 81(2), 500-542.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03370.x>

Tocher, D. (2010). Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41(5), 717-732.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>.

Toledo, R. (2005). Estudio Comparativo de Tres Sistemas de Distribución de Alimento y su Influencia en las Tasas de Crecimiento de Salmón del Atlántico (*Salmo salar*). [Tesis Licenciado, Universidad Austral de Chile].  
<https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/57066>.

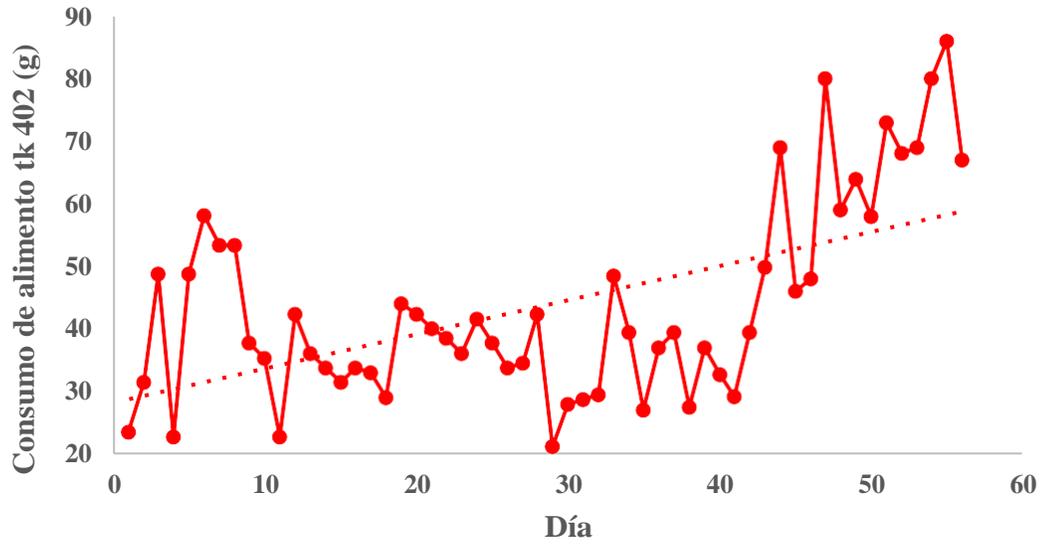
Valenzuela, A. & Nieto, M. (2001). Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno infantil. *Revista médica de Chile*, 129(10), 1203-1211.

Valenzuela, A., Sanhueza, J. & De la Barra, F. (2012). El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional. *Revista chilena de nutrición*, 39(2), 201-209.

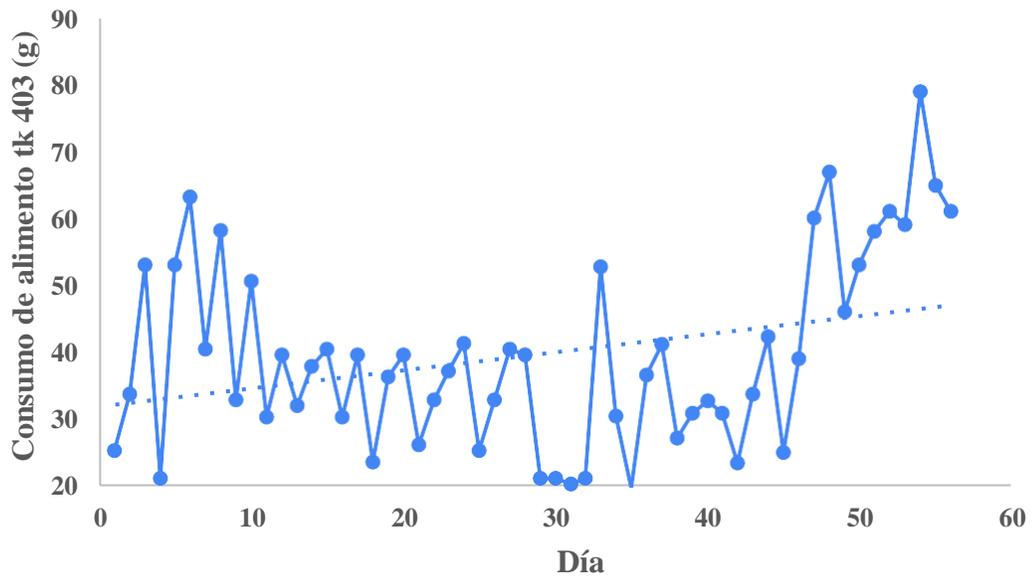
Van Anholt, R., Koven, W., Lutzky, S. & Bonga, S. (2004). Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 238(1-4), 369-383.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.001>.

Walker, A. & Berlinsky, D. (2011). Effects of partial replacement of fish meal protein by microalgae on growth, feed intake, and body composition of Atlantic cod. *North American Journal of Aquaculture*, 73(1), 76-83.  
<https://doi.org/10.1080/15222055.2010.549030>.

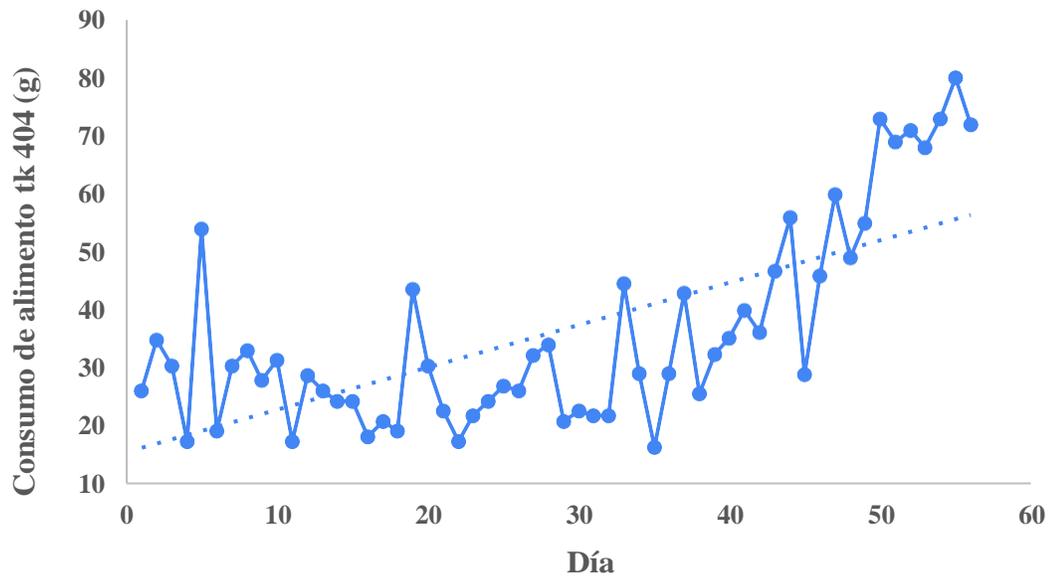
## 15. APÉNDICE I



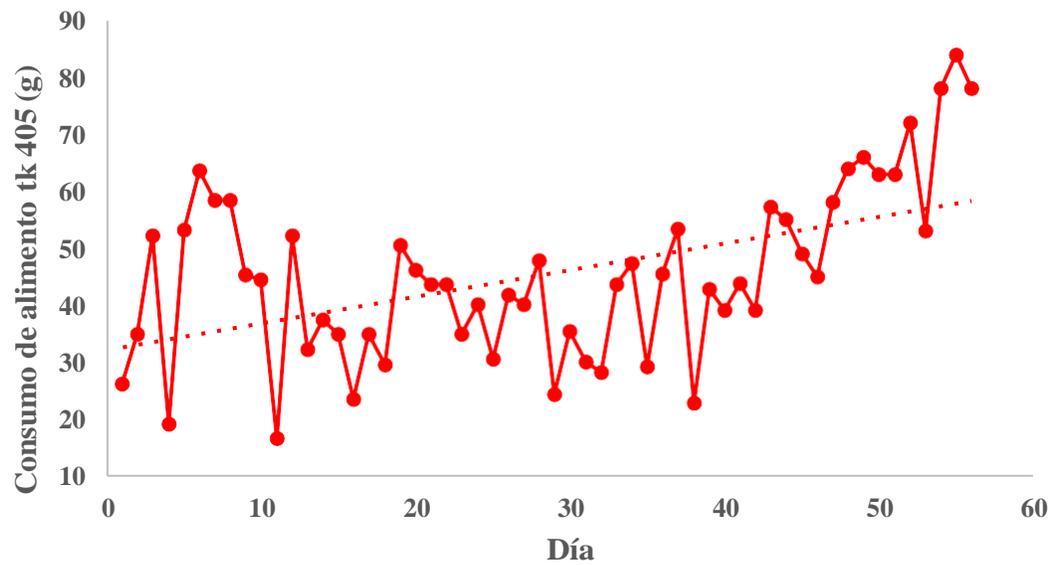
**Figura 1.** Consumo de alimento del estanque 402 con dieta alimentada con TC en *Salmo salar*.



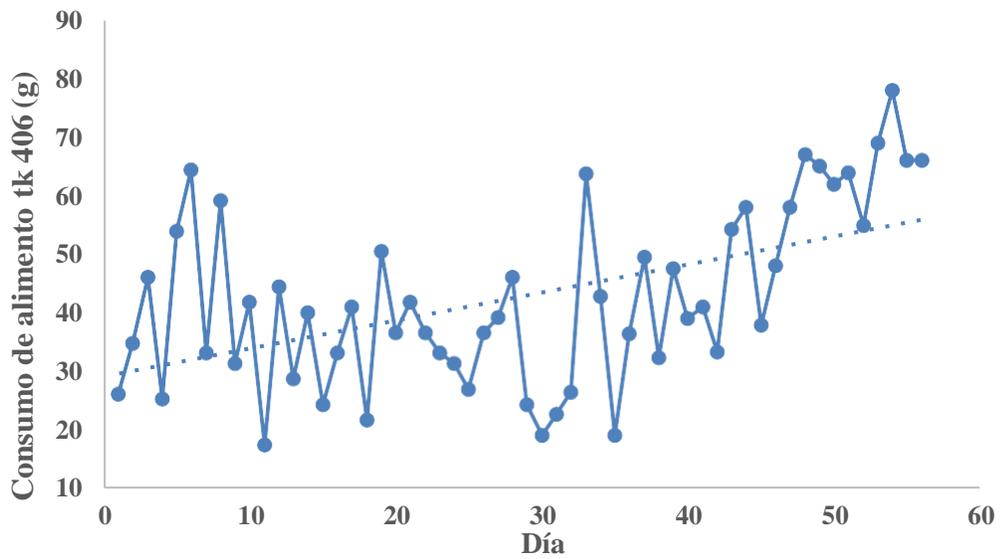
**Figura 2.** Consumo de alimento del estanque 403 con dieta alimentada con TI en *Salmo salar*.



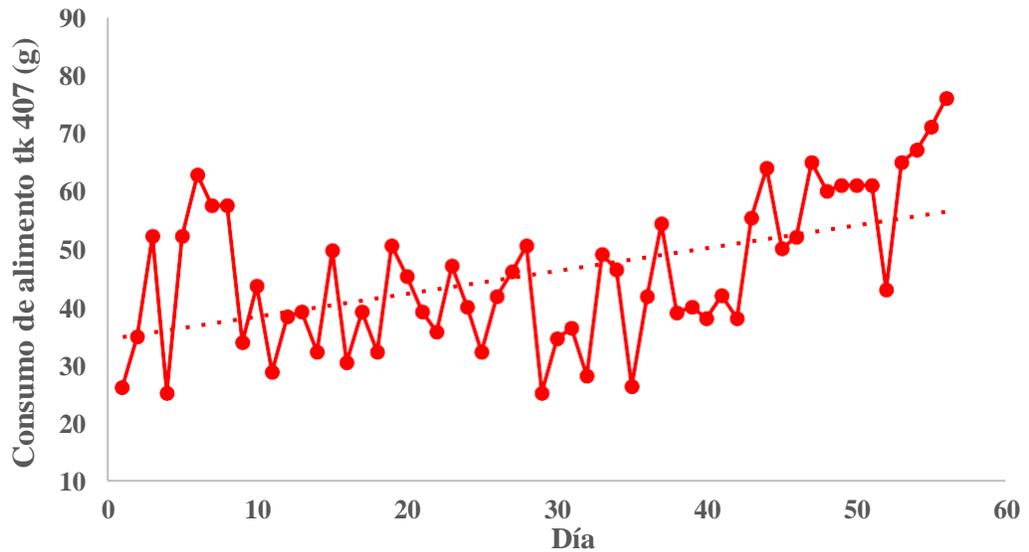
**Figura 3.** Consumo de alimento del estanque 404 con dieta alimentada con TI en *Salmo salar*.



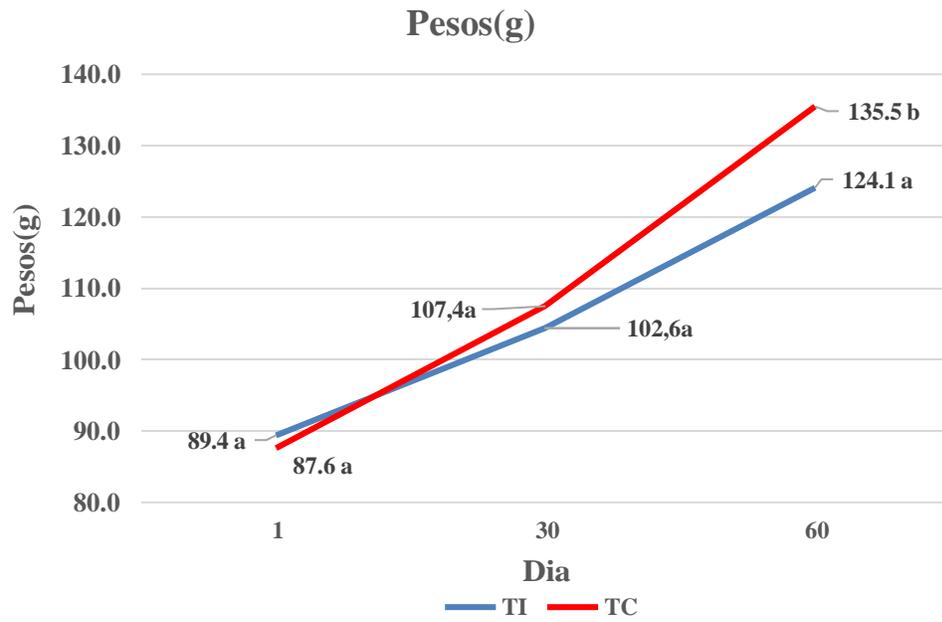
**Figura 4.** Consumo de alimento del estanque 405 con dieta alimentada con TC en *Salmo salar*.



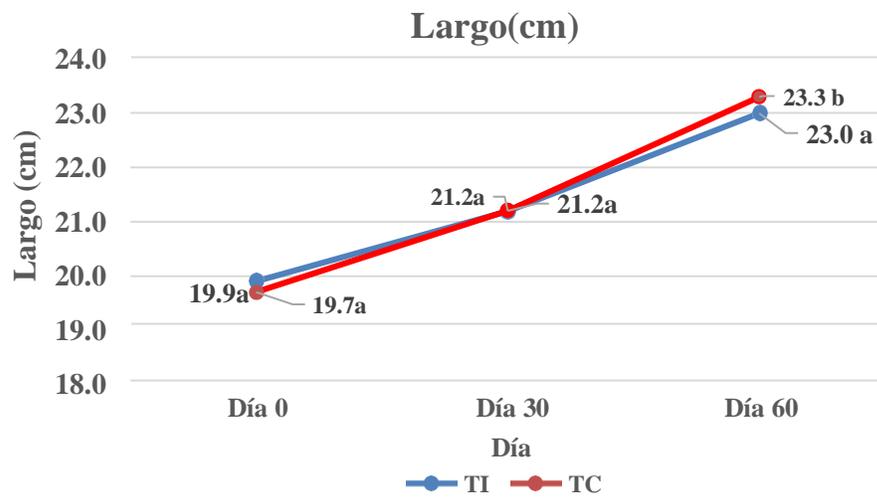
**Figura 5.** Consumo de alimento del estanque 406 con dieta alimentada con TI en *Salmo salar*.



**Figura 6.** Consumo de alimento del estanque 407 con dieta alimentada TI en *Salmo salar*.



**Figura 7.** Promedio de pesos por tratamiento con dieta TI y TC en *Salmo salar*. n = 3.



**Figura 8.** Promedio de largo por tratamientos con dieta TI y TC en *Salmo salar*. n = 3.

**Cuadro 1.** Datos de Peso y largo en los días 1,30 y 60 en cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

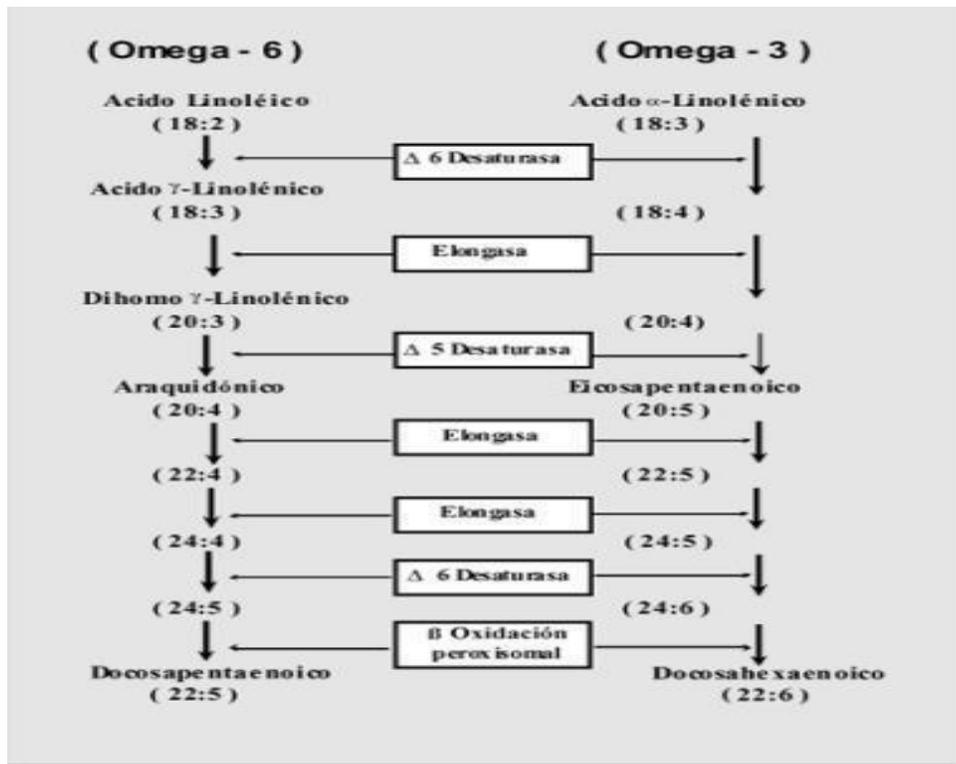
<b>Estanque</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Peso día 1 (g)</b>	<b>Largo Día 1 (g)</b>	<b>Peso día 30 (g)</b>	<b>Largo día 30 (g)</b>	<b>Peso día 60 (g)</b>	<b>Largo día 60 (g)</b>
R1TC	TC	87,9	19,7	109,7	21,3	139,3	23,3
R1TI	TI	89,9	19,9	108,8	21,2	128,3	22,9
R2TI	TI	89,5	19,9	97,7	20,8	118,2	23,0
R2TC	TC	88,2	19,9	106,9	21,3	133,6	23,3
R3TI	TI	88,8	19,9	106,8	21,4	125,9	23,1
R3TC	TC	86,7	19,6	106,0	21,1	133,5	23,2

**Cuadro 2.** Datos de SGR, FCR y K en los días 1,30 y 60 en cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

<b>Estanque</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>SGR 30 días</b>	<b>SGR 60 días</b>	<b>FCR</b>	<b>K1 día</b>	<b>K 30 días</b>	<b>K60 días</b>
R1TC	TC	0,74	0,77	1,14	1,15	1,14	1,09
R1TI	TI	0,64	0,59	1,41	1,14	1,13	1,06
R2TI	TI	0,29	0,46	1,49	1,13	1,08	0,96
R2TC	TC	0,64	0,69	1,31	1,11	1,10	1,06
R3TI	TI	0,62	0,58	1,35	1,13	1,10	1,02
R3TC	TC	0,67	0,72	1,23	1,14	1,13	1,07

**Cuadro 3.** Parámetros ambientales tomadas dos veces al día en todo el periodo experimental.

<b>Estanque</b>	<b>02 disuelto(mg/l)</b>	<b>Temperatura °C</b>	<b>02 disuelto(mg/l)</b>	<b>Temperatura °C</b>
R1TC	11,4	9,5	9,5	9,5
R1TI	10,3	9,5	9,3	9,5
R2TI	10,9	9,5	9,2	9,5
R2TC	112	10,5	11,2	9,5
R3TI	10,5	9,5	11,4	9,5
R3TC	10,9	9,5	9,2	9,5



**Figura 9.** Etapas metabólicas de la biosíntesis de ácidos grasos omega 6 y omega 3 a partir de sus precursores. Fuente. Valenzuela & Nieto, 2001.



**Figura 10.** Dispositivo de Oxiguard de marca Handy Polaris.

NUTRA Supreme *	Peso pez grs.	Calibre mm.	Número Pellets por kg.
Nutra Supreme 30	30 - 60	2,3	85.000
Nutra Supreme 60	60 - 100	2,9	45.000
Nutra Supreme 100	100 - 350	4,1	16.300

**Figura 11.** Tabla del calibre de alimento NUTRA Supreme 30 utilizada para dieta de aclimatación.