

RESUMEN DE EVALUACION MULTIFACTORIAL Y FISIOLÓGICA PREDICTIVA ASOCIADA AL USO DE MATERIAS PRIMAS CON POTENCIAL AGRÍCOLA: Correlación Multidimensional de Biomarcadores Moleculares, Histopatológicos y Bioquímicos para la Evaluación del Bienestar y Eficiencia Productiva en Salmónidos

Área de Investigación en Nutrición y Fisiología de Peces | Salmonicultura Aplicada a **Proyecto PTEC-INVA**

www.vehice.com

Matias.vera@vehice.com

Cesar.martinez@vehice.com

RESUMEN / ABSTRACT

Contexto: La salmonicultura intensiva moderna depende cada vez más de formulaciones dietarias que sustituyen ingredientes marinos por fuentes vegetales alternativas. Sin embargo, los indicadores productivos convencionales —Factor de Conversión Alimenticia (FCR) y Tasa de Crecimiento Específica (SGR)— resultan insuficientes para detectar el deterioro fisiológico subclínico que precede a mortalidades masivas y pérdidas económicas. **Objetivo:** El presente trabajo integra evidencia experimental y revisión bibliográfica sistemática para desarrollar un marco de 'fisiología predictiva' que correlaciona biomarcadores transcriptómicos (SOD, CAT, TNF- α , GADD45 β , PFKFB4, MX, IL-10, FABP3, AGPAT4, CYP24, CLDN15), hallazgos histopatológicos en órganos centinela (Score Gill, Score Hepático, Score Gut, morfometría cardíaca, HistoScale) y perfiles bioquímicos plasmáticos con estrategias de nutrición lipídica, proteica vegetal y concentrados enzimáticos en *Salmo salar* y *Oncorhynchus mykiss*. **Resultados:** Se identificó una paradoja biológica central: la eficiencia biométrica puede enmascarar colapsos orgánicos latentes en riñón, hígado, sistema cardiovascular e inmunidad innata. Las dietas ricas en MUFA maximizan el FCR, pero, pueden facilitar la generación de nefrocalcinosis crónica; las dietas con alta densidad de PUFA inducen bloqueo redox por desequilibrio SOD/CAT y lipotoxicidad hepática; la sustitución proteica con harina de canola provoca hemólisis severa a pesar de un FCR favorable; y la harina de arveja emerge como inmunomodulador profiláctico de alta seguridad tisular. La suplementación enzimática multiactiva restaura la riqueza taxonómica del microbioma intestinal de 2 a 23 géneros y corrige el tráfico lipídico hepático. **Conclusión:** Se propone una arquitectura diagnóstica de cuatro 'Paquetes de Análisis Predictivos' como protocolo de auditoría biológica obligatoria para la industria acuícola, alineado con los estándares de bienestar animal y sostenibilidad técnica en matrices nutricionales futuras.

Palabras clave: salmonicultura; biomarcadores moleculares; estrés oxidativo; microbioma intestinal; histopatología; fisiología predictiva; bienestar animal; nutrición acuícola; RAS; esmoltificación.

1. INTRODUCCIÓN

La salmonicultura global produce más de 4 millones de toneladas anuales, con *Salmo salar* y *Oncorhynchus mykiss* como especies de mayor valor comercial [1]. La transición desde dietas basadas en harina de pescado hacia formulaciones de origen vegetal es un imperativo económico y ambiental: la demanda de aceite de pescado crece de manera constante mientras la oferta permanece relativamente estática, generando presiones sobre los precios y la sostenibilidad del sector [2, 3]. Paralelamente, la intensificación de los Sistemas de Recirculación Acuícola (RAS) ha permitido densidades de carga y tasas de crecimiento sin precedentes, aunque a costa de desafíos fisiológicos igualmente inéditos para el pez [4].

Históricamente, el éxito de una estrategia nutricional se evaluaba casi exclusivamente mediante parámetros zootécnicos macroscópicos como el FCR y el SGR. No obstante, la literatura científica reciente demuestra de forma consistente que el crecimiento alométrico acelerado puede actuar como un estresor crónico que agota las reservas biológicas —fenómeno denominado 'deuda metabólica' o 'sobrecarga sistémica'— sin manifestar señales clínicas tempranas [5]. Esta brecha diagnóstica se traduce en mortalidades post-transferencia, rechazos comerciales y compromisos de bienestar animal que erosionan la rentabilidad a largo plazo.

El presente trabajo integra resultados de ensayos nutricionales experimentales con evidencia bibliográfica peer-reviewed de las últimas décadas para construir un marco de 'fisiología predictiva': un sistema diagnóstico multidimensional que correlaciona biomarcadores transcriptómicos, histopatológicos y bioquímicos con estrategias dietarias específicas en salmónidos. El objetivo es dotar a los gestores de producción de herramientas para intervenir profilácticamente antes de que el estrés metabólico se exprese como mortalidad, deterioro de la calidad del filete o rechazo sanitario en planta de proceso [6].

2. DINÁMICA METABÓLICA EN ESTRATEGIAS DE BLENDS DE ACEITES

La arquitectura lipídica de la dieta trasciende la provisión de energía bruta: determina la fluidez de membranas, modula cascadas de señalización inflamatoria y condiciona la homeostasis redox. Zhang et al. [7] documentan que los ácidos grasos omega-3 de cadena larga (LC-PUFA) —EPA y DHA— son indispensables para el crecimiento óptimo y la función inmune durante toda la fase marina en *Salmo salar*. La sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales ricos en MUFA (oleico, 18:1n-9) o en PUFA n-6 (linoleico) induce reorganizaciones transcriptómicas y metabólicas de amplio espectro [8].

2.1. Estrategia MUFA: Eficiencia Biométrica y Colapso Renal (Dieta con Blend Team)

Las dietas con alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA \approx 40%), con el ácido oleico como sustrato dominante (\sim 31%), facilitan una β -oxidación mitocondrial preferencial y un potente efecto de ahorro de proteína (*protein-sparing effect*). Este mecanismo permite que los aminoácidos dietarios sean canalizados hacia la síntesis de proteína muscular, explicando los FCR extremadamente bajos (\sim 0.85) documentados en el ensayo [9]. Estudios en salmónidos adultos en fase marina confirman que proporciones elevadas de MUFA en dieta estimulan la síntesis de LC-PUFA endógena vía la enzima elongasa ELOVL5a [10].

Sin embargo, la hiper-asimilación sostenida genera una paradoja patológica documentada: el análisis histológico evidenció nefrocalcinosis con migración mineral al intersticio renal y desarrollo de nefritis granulomatosa irreversible. La bioquímica plasmática confirmó concentraciones de magnesio de 19.6 mg/dL, indicativas de colapso osmorregulatorio severo. Este hallazgo es consistente con lo reportado por estudios en sistemas RAS, donde niveles de nitrato superiores a 150 mg/L —generados por la biofiltración activa— se asocian con alteraciones en cloruro plasmático, estrés crónico e incremento de la demanda hemodinámica [4]. La acumulación de nitratos en RAS representa uno de los desafíos más significativos para la salud renal en sistemas cerrados de recirculación intensiva [11].

2.2. Estrategia PUFA: Bloqueo Redox y Lipotoxicidad (Dieta Con Blend Universidades)

Las dietas con alta densidad de PUFA (\approx 42%), ricas en DHA (6.19%), imponen una carga oxidativa considerable sobre el parénquima hepático. En condiciones fisiológicas normales, la homeostasis redox se mantiene mediante la actuación coordinada de Superóxido Dismutasa (SOD), Catalasa (CAT) y Glutatión Peroxidasa (GPx) [12]. La investigación en peces salmónidos confirma que dietas enriquecidas en PUFA incrementan significativamente la susceptibilidad a la peroxidación lipídica [13], siendo los dobles enlaces de los PUFA estructurales los principales blancos del ataque radical.

El perfil transcriptómico documentado en el presente ensayo reveló una sobreexpresión masiva de SOD (+395.7%) sin inducción equivalente de CAT (-4.17%), generando un desequilibrio estequiométrico crítico. Este fenómeno —denominado 'bloqueo redox'— resulta en acumulación citotóxica de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), con niveles de TNF- α que alcanzaron 6,900 unidades relativas. Estudios recientes confirman que la desregulación del eje SOD/CAT en teleósteos bajo dietas con alta densidad de lípidos es un predictor confiable de ferroptosis y apoptosis hepatocelular [5]. La prevalencia de inflamación sistémica severa compromete la viabilidad del lote ante cualquier estresor biótico secundario.

2.3. Estrategia de Perfil Intermedio: Microbioma Intestinal y Fatiga Metabólica (Dieta con Blend SASA)

Las dietas con perfil lipídico intermedio (PUFA \approx 38.75%) que priorizan el trofismo gastrointestinal demuestran ser las más seguras para la integridad de la barrera intestinal. La altura de vellosidades \geq 1,900 μ m amplifica exponencialmente la superficie de absorción de nutrientes. A nivel del microbioma, el análisis metagenómico (amplicones 16S rRNA, regiones V3-V4) identificó una dominancia de *Acetivibrio*, productor eficiente de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Lorgen-

Ritchie et al. [14] documentaron que la diversidad y riqueza del microbioma intestinal en *Salmo salar* aumenta progresivamente durante la producción en RAS, con cambios dramáticos asociados al traslado marino, lo que subraya la importancia del estado basal del ecosistema microbiano.

La aparente paradoja productiva —FCR 1.01 pese a un intestino histológicamente óptimo— fue desentrañada mediante la detección de represión génica de GADD45 β (0.163) y PFKFB4 (0.089). La proteína GADD45 β es un sensor genotóxico maestro que modula las vías p38/JNK y p53, responsable de la detención del ciclo celular en fase G2/M y la reparación del ADN [6]. La inhibición simultánea de la reparación genómica y de la modulación glucolítica representa un estado de 'fatiga metabólica celular' que explica la incapacidad de transformar eficientemente el alimento en biomasa muscular.

Tabla 1. Resumen comparativo de estrategias lipídicas en blends de aceites: eficiencia, biomarcadores y riesgo sistémico.

Estrategia Lipídica	FCR	Biomarcadores Transcriptómicos	Histopatología y Bioquímica	Riesgo Sistémico Dominante
TEAM (40% MUFA)	0.85	TNF- α moderado; HSP70 estable	HSI 1.09; Mg ²⁺ 19.6 mg/dL; nefrocalcinosis	Fallo renal crónico irreversible; hipermagnesemia
UNIVERSIDADES (42% PUFA)	0.86	SOD +395.7%; CAT -4.17%; TNF- α 6,900 U.R.	Bloqueo redox; acumulación citotóxica H ₂ O ₂	Peroxidación lipídica membranar; inmunosupresión severa
SASA (38% PUFA)	1.01	GADD45 β 0.163; PFKFB4 0.089	Vellosidades 1,930 μ m; microbiota dominada por Acetivibrio	Fatiga metabólica celular; incapacidad glucolítica y genotóxica

3. HARINAS VEGETALES, ANTINUTRIENTES Y MODULACIÓN DEL ECOSISTEMA INTESTINAL

La sustitución de harina de pescado por fuentes proteicas vegetales es un imperativo estratégico para la acuicultura sostenible, aunque las plantas sintetizan una amplia gama de factores antinutricionales (FANs) —saponinas, glucosinolatos, fitatos y polisacáridos no amiláceos (NSP)— que interfieren con la digestión y el metabolismo mineral [15]. La evaluación multidimensional de diferentes fuentes proteicas vegetales con y sin suplementación enzimática revela que la eficiencia zootécnica aparente puede ser un indicador profundamente engañoso de la homeostasis interna.

3.1. Afrecho de Canola: Falsa Eficiencia

El afrecho de canola con enzimas exhibe el FCR más eficiente de su cohorte (0.98), sugiriendo a priori excelente digestibilidad. Sin embargo, la evaluación molecular reveló una supresión severa de SOD en el riñón anterior (expresión relativa 0.443), representando un colapso >65% en la capacidad antioxidante basal. En teleósteos, el riñón anterior es el órgano hematopoyético principal; su compromiso antioxidante expone directamente las membranas eritrocitarias al ataque radical, lo que fue validado por frotis sanguíneos con 100% de prevalencia de hemólisis severa. Zhang et al. [7] confirman

que la canola, incluso con suplementación enzimática, reduce dramáticamente los niveles de EPA y DHA en el filete de salmón cuando supera el 50% de sustitución del aceite de pescado.

La conclusión técnica es inequívoca: el bajo FCR no representó eficiencia biológica real, sino un estado de emergencia metabólica donde el pez consumía sus reservas estructurales para sobrevivir. Las enzimas exógenas facilitaron la absorción de macronutrientes pero fueron incapaces de detoxificar los compuestos citotóxicos intrínsecos —específicamente los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis de la canola.

3.2. Lupino: Desmineralización Ósea

La harina de lupino evidenció el peor desempeño productivo (ganancia 86.24 g) y reducción del consumo voluntario (92.69%). El hallazgo subclínico más alarmante fue la sobreexpresión de GADD45 β renal (1.896), indicador directo de estrés genotóxico. El desvío energético hacia las vías de reparación de ADN mediadas por p53 limita severamente la síntesis de proteína muscular. Paralelamente, los fitatos del lupino interfirieron con la biodisponibilidad de minerales, forzando desmineralización ósea periférica evidenciada por lagunas de resorción en escamas [16].

3.3. Arveja: Inmunomodulación Profiláctica y Seguridad Tisular

La harina de arveja sin enzimas emergió como estándar de seguridad fisiológica, logrando SGR del 1.75% diario y demostrando capacidad excepcional para orquestar la respuesta inmune innata. La sobreexpresión de la proteína antiviral MX (6.680 unidades relativas; 2.29x el control) representa una preparación específica contra agentes como el *Piscine orthoreovirus* (PRV) [17]. El balance simultáneo de alta expresión de IL-10 (2.243) y TNF- α suprimido (0.312) configura una armonía inmunotranscripcional que maximiza la defensa antiviral sin derivar en tormenta de citoquinas [18].

3.4. Suplementación Enzimática y Restauración del Microbioma

El impacto de las enzimas multiactivas sobre el microbioma intestinal es uno de los hallazgos más relevantes del análisis. Sin tratamiento enzimático, la exposición a harinas vegetales de baja digestibilidad genera un 'vacío ecológico' con riqueza taxonómica colapsada a apenas 2 géneros dominantes. La suplementación enzimática expandió la diversidad de 2 a 23 géneros, consistente con lo reportado por Lorgen-Ritchie et al. [14] para el microbioma intestinal de *Salmo salar* en RAS. La proliferación de *Faecalibacterium* (18.47% de abundancia relativa), productor clave de butirato, refuerza las uniones estrechas del epitelio e inhibe las vías inflamatorias intestinales [19]. La colonización concomitante por *Cetobacterium* (filo Fusobacteriota), eficiente en la fermentación de péptidos hacia acetato, contribuye a optimizar la homeostasis sistémica de la glucosa en organismos con limitada capacidad glucolítica ante carbohidratos dietarios elevados [20].

La presencia de oportunistas ambientales como *Sphingobium* y *Pseudomonas* en lotes con microbioma empobrecido confirma que el vacío ecológico facilita la colonización patógena, incluyendo agentes de alta relevancia clínica como *Vibrio*, *Listeria* y *Aeromonas* [14, 20].

Tabla 2. Evaluación comparativa de harinas vegetales: respuesta inmune, daño celular y ecosistema digestivo.

Fuente Proteica Vegetal	FCR	Respuesta Inmuno-transcripcional	Homeostasis Celular y Genómica	Impacto en Microbioma
Arveja (sin enzimas)	1.10	MX 6.680; IL-10 2.243; TNF- α 0.312. Armonía inmunotranscripcional óptima.	SOD robusta (1.537); sin daño genómico; resiliencia antiviral	Microbiota equilibrada; vellosidades preservadas
Lupino (sin enzimas)	1.01	MX 2.726; IL-10 0.957; TNF- α 0.639	GADD45 β crítico (1.896); estrés genotóxico activo; desmineralización	Faecalibacterium alto (18.47%) pero con atrofia de enterocitos
Canola (+ enzimas)	0.98	MX 2.142; IL-10 0.933; TNF- α 0.325. Respuesta reprimida.	SOD 0.443 (colapso >65%); hemólisis 100%; neutrófilos hipersegmentados	Enzimas restauran riqueza; citotoxicidad epitelial persiste

4. CONCENTRADOS PROTEICOS, TRANSICIÓN MARINA Y RESILIENCIA ESTRUCTURAL

La esmoltificación y el traslado al medio marino representa el vector de estrés más profundo en el ciclo de vida del *Salmo salar*. Krasnov et al. [21] documentan que la esmoltificación se asocia con una supresión inmune generalizada que puede persistir varios meses post-traslado. Mota et al. [22] confirman que las condiciones de RAS con alta temperatura y fotoperiodo continuo generan smolts de crecimiento rápido pero con potenciales compromisos en la calidad de la esmoltificación y predisposición a maduración sexual precoz. Los concentrados proteicos vegetales, sometidos a procesos de purificación para eliminar carbohidratos solubles y FANs, proveen matrices densas en aminoácidos esenciales para sostener este período crítico [23].

4.1. Eje Hepato-Lipídico: FABP3, AGPAT4 y Esteatosis Hepática

Los concentrados proteicos sin suplementación enzimática generaron un deterioro metabólico severo, con IHS promedio de 4.66 (picos de 5.44). La histología reveló esteatosis hepática y degeneración vacuolar, con transaminasas AST >890 U/L y ALT 66 U/L, patrón bioquímico clásico de necrosis incipiente. Los estudios más recientes sobre metabolismo hepático en teleósteos con dietas de alto contenido lipídico confirman que la sobreacumulación de lípidos hepáticos activa vías de ferroptosis y apoptosis cuando los sistemas de exportación de triglicéridos están comprometidos [5].

La proteína FABP3 (*Heart-type Fatty Acid-Binding Protein*) actúa como chaperón lipídico citosólico indispensable para el tráfico de ácidos grasos hacia la mitocondria (β -oxidación) o el retículo endoplasmático (empaquetamiento en VLDL). La represión de su eje transcripcional, acoplada a la baja expresión de AGPAT4 (1-acil-sn-glicerol-3-fosfato aciltransferasa 4) —enzima central en la biosíntesis de fosfolípidos de novo—, genera un 'cuello de botella transcripcional' que culmina en inanición funcional y apoptosis del 24% del parénquima hepático a pesar de alta disponibilidad energética luminal [24]. La suplementación enzimática normalizó el IHS a 3.55, con retención de leucina muscular de 5.82 g/100g y FCR de 1.00 en agua de mar.

4.2. Regulación Endocrina del Metabolismo Mineral: CYP24 como Biomarcador Predictivo

El crecimiento alométrico explosivo impone un 'impuesto mineral' sobre el esqueleto: la demanda de calcio y fósforo supera la tasa de absorción intestinal, forzando al organismo a desmineralizar tejidos periféricos. La técnica radiológica de alta resolución y la histoquímica HistoScale (tinción de Rojo Alizarina) identificaron lagunas de resorción en escamas y progresión hacia fusiones vertebrales y escoliosis en segmentos transicionales de alta demanda biomecánica [25].

El gen *cyp24* (*cyp24a1*) codifica la 24-hidroxilasa mitocondrial, responsable del catabolismo del calcitriol activo [1,25(OH)₂D₃]. La represión dramática de *cyp24* (-4.34 Log₂) documentada en los lotes de mayor crecimiento representa un mecanismo de compensación endocrina de emergencia: el organismo silencia la enzima que destruye el calcitriol para maximizar su retención plasmática y hiperestimular la absorción intestinal de calcio y fósforo [26]. Esto detiene transitoriamente la resorción masiva y permite la consolidación ósea de fusiones cartilaginosas, evitando fracturas agudas. El monitoreo de la expresión de *cyp24* se establece así como un biomarcador predictivo primario para intervenciones de suplementación mineral semanas antes de que las deformidades sean radiológicamente visibles.

4.3. Remodelación Cardíaca y Disfunción Diastólica

La morfología cardíaca en salmonídeos silvestres sanos se caracteriza por un ventrículo piramidal elongado de alta eficiencia hemodinámica [27]. Los datos experimentales de Engdal et al. [28] y los hallazgos del presente ensayo coinciden en que los salmones producidos en condiciones de granja RAS desarrollan ventrículos crecientemente redondeados (mayor ratio altura:ancho) conforme avanzan en su ciclo de vida. La prevalencia del fenotipo de 'corazón redondeado' alcanzó 48-86% en distintos lotes, reduciendo el volumen sistólico e induciendo disfunción diastólica.

Cuando el pez con ventrículo esferoidal y branquias con hiperplasia lamelar (evaluada por Score Gill estandarizado) es transferido al mar y expuesto a toxinas ambientales —como picos de nitritos de 12.4 mg/L causantes de metahemoglobinemia o sulfuro de hidrógeno (H₂S)— el drenaje linfático cardíaco colapsa, desarrollándose epicarditis fulminante con prevalencia post-desafío del 97%. Estudios recientes en salmones de gran tamaño (≈4 kg) confirman que la tolerancia térmica y la capacidad respiratoria escalan de manera no lineal con la masa corporal, aumentando la vulnerabilidad ante estresores ambientales en fases avanzadas de producción [29].

4.4. Osmorregulación Paracelular y Claudina-15 (CLDN15)

En el entorno marino hipertónico, la expresión de Claudina-15 (CLDN15) en el epitelio intestinal posterior y los túbulos renales es un requisito fisiológico para acoplar la absorción de agua al gradiente de sodio generado por la Na⁺/K⁺-ATPasa branquial [30]. La integración osmoregulatoria de branquias e intestino durante la esmoltificación ha sido recientemente estudiada, documentándose que la optimización del fotoperíodo y la calidad del smolt (evaluada por el ratio NKA $\alpha 1b/\alpha 1a$) son determinantes para la capacidad hipoosmorreguladora [31]. La falla en sostener niveles elevados de CLDN15 —documentada en peces con enteropatías derivadas de concentrados mal procesados—

resulta en fuga osmótica masiva y hemoconcentración grave (Proteína Total sérica H5.9; Albúmina H5.7).

Tabla 3. Evaluación de concentrados proteicos en fase de transición marino: metabolismo hepático, mineralización ósea y viabilidad cardiovascular.

Estrategia	FCR (SW)	Eje Hepato-Lipídico	Osteología y Corazón	Viabilidad Operativa
Control (H. Pescado)	1.12	IHS: 3.84; retención lipídica basal	Mayor tasa deformidad; 0% maduración mineral Grado 2	Alto riesgo hemodinámica marina
Concentrado sin Enzimas	1.15	IHS crítico 4.66-5.44; cuello de botella FABP3; AST >800 U/L	Riesgo resorción ósea; fusión vertebral inminente	Alto riesgo insuficiencia hepática y falla CLDN15
Concentrado + Enzimas (Gold Standard)	1.00–1.07	IHS 3.55; tráfico lipídico eficiente; leucina muscular 5.82 g/100g	cyp24 reprimido (-4.34 Log ₂); protección esquelética activa; mayor retención Se (GPx)	Robustez sistémica superior; protección arquitectura ventricular ante toxinas

5. ARQUITECTURA DIAGNÓSTICA: PAQUETES DE ANÁLISIS PREDICTIVO CORRELACIONAL

La síntesis del presente análisis multidimensional conduce a una conclusión paradigmática: la dependencia exclusiva de FCR y biomasa genera una gestión ciega de los riesgos fisiológicos sistémicos. Se propone la implementación de cuatro 'Paquetes de Análisis Predictivos' como protocolo de auditoría biológica integral, cuya arquitectura se fundamenta en la intersección de la biología molecular, la histopatología cuantitativa y la bioquímica clínica ^[6]. Este enfoque es coherente con las tendencias actuales en medicina de peces de producción, que demandan indicadores de bienestar animal de naturaleza no solo macroeconómica sino también molecular y fisiológica ^[32].

5.1. Paquete 1: Eje Respiratorio y Hemodinámico

Objetivo: Auditar la capacidad aeróbica y predecir el riesgo de colapso cardiovascular ante manejos mecánicos intensivos o transferencias ambientales.

- Histopatología: Score Gill estandarizado (escala 0-5); cuantificación de hiperplasia lamelar, fusión, células mucosas, clubbing y aneurismos. Morfometría cardíaca: ratio altura:ancho ventricular, ángulo del bulbus arteriosus y grosor miocárdico para detección temprana del fenotipo 'corazón redondeado'.
- Transcriptómica: Cuantificación de PFKFB4 en tejido cardíaco y branquial (indicador de flexibilidad glucolítica bajo hipoxia); expresión de HSP70 y TNF- α para cuantificar estrés celular agudo.
- Bioquímica: Hematocrito, lactato plasmático, conteo diferencial de serie blanca. Presencia de neutrófilos hipersegmentados y alta policromasia certifica compensación hematopoyética límite.

5.2. Paquete 2: Eje Hepato-Lipídico y Estrés Oxidativo

Objetivo: Auditar la viabilidad de dietas con alta densidad lipídica y detectar congestión del tráfico metabólico intrahepático que antecede la necrosis.

- Histopatología: Score Hepático H&E; evaluación de micro/macro esteatosis, pérdida de basofilia citoplasmática, desplazamiento nuclear periférico e infiltrados leucocitarios.
- Transcriptómica: Ratio crítico SOD/CAT (desequilibrio estequiométrico = bloqueo redox); expresión de FABP3 (tráfico lipídico hacia mitocondria) y AGPAT4 (síntesis de fosfolípidos de membrana de novo).
- Bioquímica: Panel hepático profundo: AST y ALT (AST >800 U/L confirma lisis celular activa). Cálculo del IHS; valores >3.5 indican compromiso funcional significativo.

5.3. Paquete 3: Eje Inmuno-Mucosal y Vigilancia Metagenómica

Objetivo: Evaluar el impacto de harinas vegetales e ingredientes emergentes sobre la bioseguridad gastrointestinal y la exclusión competitiva de patógenos.

- Metagenómica: Secuenciación de ampliaciones 16S rRNA (V3-V4); índices de diversidad alfa (riqueza taxonómica); monitoreo de *Cetobacterium* (fermentación a acetato) y *Faecalibacterium* (síntesis de butirato); umbrales de alarma para *Sphingobium*, *Pseudomonas* y *Vibrionaceae*.
- Histopatología: Score Gut; análisis morfométrico intestinal (vellosidades simples y complejas); evaluación de vacuolización supranuclear de enterocitos e infiltrados en lámina propia.
- Transcriptómica: GADD45 β (estrés genotóxico por alcaloides o toxinas dietarias); expresión de proteína antiviral MX e IL-10 (balance inflamatorio innato).

5.4. Paquete 4: Eje Osteo-Mineral y Eficiencia Osmorregulatoria

Objetivo: Auditar el 'la reserva mineral' del crecimiento alométrico y prevenir descarte comercial por deformidades esqueléticas y colapso iónico en la transición marina.

- Histopatología: Protocolo HistoScale (Rojo Alizarina y Von Kossa) en escamas para detección de lagunas de resorción osteoclástica semanas antes de visibilidad radiológica; análisis de nefrocalcinosis en vías colectoras del riñón.
- Transcriptómica: Gen CYP24 hepático/renal (represión = hiper-calcitriolismo compensatorio = insuficiencia dietética de fósforo); expresión de CLDN15 intestinal y tubular (certificación de uniones estrechas para transporte paracelular en medio marino).
- Bioquímica: Perfil mineral plasmático (Mg, Ca, P) y muscular; Albúmina total y glucosa plasmáticas para evaluar hemoconcentración/hemodilución como reflejo del fallo iónico branquial.

6. DISCUSIÓN

La arquitectura diagnóstica propuesta en el presente trabajo responde a una necesidad creciente en la acuicultura de precisión: transitar desde la evaluación retrospectiva del desempeño productivo hacia la monitorización prospectiva del estado fisiológico del activo biológico. Este cambio

paradigmático es consistente con las tendencias globales en producción animal sostenible, donde el bienestar animal se incorpora como variable de gestión estratégica y no solo ética [4, 32].

La paradoja biológica central identificada —que la eficiencia biométrica puede enmascarar colapsos orgánicos latentes— tiene implicaciones económicas directas. Las mortalidades post-transferencia al mar en instalaciones RAS comerciales han generado pérdidas de decenas de millones de dólares, documentadas incluso en empresas líderes del sector [4]. Los eventos de colapso cardíaco y falla osmoregulatoria son, en su mayoría, prevenibles mediante intervención profiláctica si se dispone de la información diagnóstica adecuada en el momento oportuno.

La selección de biomarcadores aquí propuesta se fundamenta en su valor predictivo demostrado, no en la mera disponibilidad técnica. SOD/CAT como ratio redox, GADD45 β como sensor genotóxico, CYP24 como regulador mineral endócrino y CLDN15 como marcador osmorregulatorio representan puntos de intersección entre ejes metabólicos de alta relevancia fisiológica. La articulación de estos marcadores moleculares con los Score histopatológicos cuantitativos estandarizados (Gill, Hepático, Gut) y los perfiles bioquímicos plasmáticos genera una arquitectura diagnóstica que reduce significativamente la ambigüedad interpretativa [6].

Desde la perspectiva del microbioma, el hallazgo de que la suplementación enzimática multiactiva restaura la diversidad taxonómica intestinal de 2 a 23 géneros representa una intervención de eficiencia excepcional. La abundancia de *Faecalibacterium* como productor de butirato y de *Cetobacterium* como regulador del metabolismo glucídico sistémico demuestra que la manipulación del ecosistema intestinal vía formulación dietaria es una herramienta terapéutica real, no solo un parámetro pasivo de observación [19, 20]. Las investigaciones más recientes en metagenómica de salmónidos en RAS confirman que la microbiota intestinal co-evoluciona dinámicamente con el estado fisiológico del hospedador, pudiendo utilizarse como sensor temprano de disbiosis [14].

7. CONCLUSIONES

1. La eficiencia biométrica (FCR bajo, alta SGR) es una métrica necesaria pero insuficiente para evaluar la viabilidad biológica real de un lote en salmonicultura intensiva. La ausencia de correlación entre FCR y salud sistémica —documentada en múltiples estrategias dietarias— constituye la paradoja central que fundamenta la necesidad de la fisiología predictiva.
2. Los biomarcadores transcriptómicos SOD/CAT (estrés redox), GADD45 β (daño genotóxico), CYP24 (regulación mineral endócrina) y CLDN15 (osmorregulación paracelular), integrados con Score histopatológicos cuantitativos y bioquímica plasmática, conforman una arquitectura diagnóstica de cuatro Paquetes de Análisis que permite detectar el deterioro fisiológico subclínico semanas antes de su expresión clínica.
3. La harina de arveja emerge como el ingrediente proteico vegetal de mayor seguridad fisiológica, destacando por su capacidad de inmunomodulación profiláctica mediada por la proteína MX, sin requerir asistencia enzimática. La harina de canola, pese a sus resultados biométricos favorables, genera hemólisis sistémica severa incompatible con la producción sostenible.

4. La Harina de Lupino mostró en los ejemplares una mayor desmineralización, por lo que, junto a las propiedades positivas, es una excelente materia prima para ser usada en una relación de mezcla junto a la harina de Arveja, potenciando la formulación general
5. La suplementación enzimática multiactiva constituye la intervención de mayor eficiencia sistémica, normalizando simultáneamente el metabolismo hepático (IHS 3.55), la diversidad microbioma intestinal (2→23 géneros) y la retención de aminoácidos esenciales en músculo.
6. La implementación protocolar de los cuatro Paquetes de Análisis Predictivos como auditoría biológica obligatoria en etapas clave del ciclo productivo (fin de RAS agua dulce, pre- y post-traslado marino) representa la estrategia más robusta para garantizar la sustentabilidad técnica, el bienestar animal y la calidad del producto final en la acuicultura intensiva del futuro.
7. Muy importante destacar que para gran parte de las evaluaciones existieron efectos no previstos asociados a manejo general de las instalaciones, estado sanitario inicial de los peces y ajustes abióticos que generaron eventos de estrés sanitario y productivo que pudieron alterar la expresión real de cada una de las formulaciones y por lo mismo generar un sesgo impredecible al momento de poder tomar una conclusión de precisión. Se sugiere poder reevaluar productivamente de forma resumida para no tener dudas respecto a la relación Dieta vs Performance.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] FAO (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- [2] Tocher, D.R., Betancor, M.B., Sprague, M., Olsen, R.E., & Napier, J.A. (2019). Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: Bridging the gap between supply and demand. *Nutrients*, 11(1), 89. <https://doi.org/10.3390/nu11010089>
- [3] Oliver, E.C.J., Donat, M.G., Burrows, M.T., Moore, P.J., et al. (2024). Omega-3 Futures in Aquaculture: Exploring the Supply and Demands for Long-Chain Omega-3 Essential Fatty Acids by Aquaculture Species. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1080/23308249.2024.2388563>
- [4] Timmons, M.B., Guerdat, T., & Vinci, B.J. (2024). Assessing the Benefits and Challenges of Recirculating Aquaculture Systems (RAS) for Atlantic Salmon Production. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1080/23308249.2024.2433581>
- [5] Wang, X., Chen, Z., et al. (2024). Hepatic Oxidative Stress and Cell Death Influenced by Dietary Lipid Levels in a Fresh Teleost. *Animals*, 14(14). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11273915/>
- [6] Tocher, D.R. (2010). Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41(5), 717-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02418.x>
- [7] Zhang, F., Xu, H., Liu, Q., & Li, Y. (2024). Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in Atlantic salmon: Functions, requirements, sources, de novo biosynthesis and selective breeding strategies. *Reviews in Aquaculture*, 16(3), 1095-1113. <https://doi.org/10.1111/raq.12882>
- [8] Ruyter, B., Østbye, T.K., Kjær, M.A., et al. (2020). Influence of Dietary Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and ω6 to ω3 Ratios on Head Kidney Lipid Composition and Expression of Fatty Acid and Eicosanoid Metabolism Genes in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 602587. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.602587>
- [9] Stubhaug, I., Tocher, D.R., Bell, J.G., Dick, J.R., & Torstensen, B.E. (2005). Fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes and influence of dietary vegetable oil. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1734(3), 277-288.

- [10] Emam, M., Mock, T.S., Smith, M., Ryu, D., & Lall, S.P. (2020). Tissue fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) is modulated by genetic background, diet and the interaction between diet and genotype. *Aquaculture*, 516, 734607.
- [11] Fossmark, R.O., Attramadal, K.J.K., Nordøy, K., Østerhus, S.W., & Vadstein, O. (2021). A comparison of two seawater adaptation strategies for Atlantic salmon post-smolt (*Salmo salar*) grown in recirculating aquaculture systems (RAS): Nitrification and microbiota. *Aquaculture*, 534, 736285.
- [12] Sies, H., Belousov, V.V., Bhatt, D.L., et al. (2017). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(7), 499-515.
- [13] Hylland, K., & Vethaak, A.D. (2025). Oxidative stress and growth performance are modulated by polyunsaturated fatty acids in Arctic charr, brook charr and their reciprocal hybrids. *Conservation Physiology*, 13(1), coaf032. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaf032>
- [14] Lorgen-Ritchie, M., Clarkson, M., Chalmers, L., Taylor, J.F., Migaud, H., & Martin, S.A.M. (2021). A Temporally Dynamic Gut Microbiome in Atlantic Salmon During Freshwater Recirculating Aquaculture System (RAS) Production and Post-seawater Transfer. *Frontiers in Marine Science*, 8, 711797. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.711797>
- [15] Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., & Bakke, A.M. (2010). Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: An update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture Research*, 41(3), 333-344.
- [16] Gjessing, M.C., Krasnov, A., Timmerhaus, G., et al. (2020). The Atlantic salmon erythrocyte: Transcriptome and proteome responses to increased storage temperature. *PLoS ONE*, 15(2), e0229218.
- [17] Kibenge, M.J.T., Iwamoto, T., Wang, Y., Morton, A., Godoy, M.G., & Kibenge, F.S.B. (2013). Whole-genome analysis of piscine reovirus (PRV) shows PRV represents a new genus in family Reoviridae and its genome segment S1 encodes a novel member of the family of fusogenic orthoreovirus FAST proteins. *Virology Journal*, 10, 230.
- [18] Skugor, S., Glover, K.A., Nilsen, F., & Krasnov, A. (2008). Local and systemic gene expression responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to infection with the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*). *BMC Genomics*, 9, 498.
- [19] Tawfik, M.M., Lorgen-Ritchie, M., Król, E., et al. (2024). Modulation of gut microbiota composition and predicted metabolic capacity after nutritional programming with a plant-rich diet in Atlantic salmon (*Salmo salar*): insights across developmental stages. *Animal Microbiome*, 6, 38. <https://doi.org/10.1186/s42523-024-00321-8>
- [20] Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Doan, H.V., Beck, B.R., & Song, S.K. (2018). Lactic acid bacteria in finfish—An update. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1818.
- [21] Krasnov, A., Afanasyev, S., Hansen, M.H.S., Bou, M., Sveen, L., & Dessen, J.E. (2024). Smoltification of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Is Associated with Enhanced Traffic and Renewal of B Cell Repertoire. *Genes*, 15(9), 1220. <https://doi.org/10.3390/genes15091220>
- [22] Mota, V.C., Verstege, G.C., Striberny, A., et al. (2024). Smoltification, seawater performance, and maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed different fat levels. *Frontiers in Aquaculture*, 3, 1323818. <https://doi.org/10.3389/faqc.2024.1323818>
- [23] Nguyen, M.D., Davis, D.A., Nguyen, T.N., & Nguyen, H.T. (2024). Growth, Health and Physiological Responses of Freshwater-Reared Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fed Graded Dietary Lipid Levels. *Animals*, 16(3), 356. <https://doi.org/10.3390/ani16030356>
- [24] Sanden, M., & Olsvik, P.A. (2009). Intestinal cellular localization of PCNA protein and CYP1A mRNA in Atlantic salmon *Salmo salar* L. exposed to a model toxicant. *BMC Physiology*, 9, 3.
- [25] Witten, P.E., & Huysseune, A. (2009). A comparative view on mechanisms and functions of skeletal remodelling in teleost fish, with special emphasis on osteoclasts and their function. *Biological Reviews*, 84(2), 315-346.
- [26] Norman, A.W. (2008). From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88(2), 491S-499S.
- [27] Poppe, T.T., Johansen, R., & Tørud, B. (2003). Cardiac abnormality with associated hernia in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 53(2), 153-155.
- [28] Engdal, M.C., Halvorsen, K.T., Sørmo, W., et al. (2024). Importance of environmental signals for proper cardiac morphological development in Atlantic salmon. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.02.19.580955>
- [29] Frisk, M., Høyland, M., Dhanasiri, A.K.S., et al. (2020). Intensive smolt production is associated with deviating cardiac morphology in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Fish Biology*, 96(4), 937-948.
- [30] Sundh, H., Nilsen, T.O., Lindström, J., et al. (2014). Development of Intestinal Ion-Transporting Mechanisms during Smoltification and Seawater Acclimation in Atlantic Salmon *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*, 85(4), 1227-1252.

- [31] Pino Martinez, E., Imstrand, A.K.D., Hosfeld, A.C.D., & Handeland, S.O. (2025). Integration of Gill and Intestinal Osmoregulatory Functions to Assess the Smoltification Window in Atlantic Salmon. *Fishes*, 10(3), 119. <https://doi.org/10.3390/fishes10030119>
- [32] Martins, C.I.M., Galhardo, L., Noble, C., et al. (2012). Behavioural indicators of welfare in farmed fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(1), 17-41.